

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA

Diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (*Symbiodinium*) del coral *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical

Sofía Marivel Méndez Méndez

Bióloga

Guatemala, febrero de 2016.

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

**Diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (*Symbiodinium*)
del coral *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical**

INFORME DE TESIS

Presentado por

Sofía Marivel Méndez Mendez

Para optar al título de
Bióloga

Guatemala, febrero de 2016.

NOMINA DE LOS INTEGRANTES DE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

Dr. Rubén Dariel Velásquez Miranda	Decano
Licda. Elsa Julieta Salazar Meléndez de Ariza, M.A.	Secretaria
MSc. Miriam Carolina Guzmán Quilo	Vocal I
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Andreina Delia Irene López Hernández	Vocal IV
Br. Carlo Andrea Betancourt Herrera	Vocal V

“Necesito del mar porque me enseña... no sé si aprendo música o conciencia... no sé si es
ola sola o ser profundo...”

Pablo Neruda

Dedicatoria

A mis amados padres, David y Marivel por su apoyo incondicional en todos los sentidos desde que tengo memoria, por ser mi inspiración, mi mayor ejemplo, mi fuente de energía y amor, por ser una gran motivación en mi vida y apoyar mis decisiones y con un abrazo borrar todo mi cansancio y darme las fuerzas para continuar en esos días difíciles. Por todo su esfuerzo y enseñanzas, por nunca rendirse por estar siempre a mi lado. Por enseñarme en casa el valor de la disciplina y perseverancia, por confiar y creer en mí. Por ayudarme a ser mejor cada día.

A mis amados hermanitos, David y Esteban, por su dulce compañía todo el tiempo.

A mis mejores amigas y amigos que han crecido conmigo y hemos compartido innumerables aventuras y alegrías, por su apoyo y amistad incondicional desde el inicio de mi sueño hasta la culminación del mismo a Vero, Andreina, Mora, Job, Sophia y Hugo.

Agradecimientos

Gracias a Dios por darme la vida, la oportunidad y la pasión de estudiarla a profundidad.

A mi “alma mater” la Universidad de San Carlos de Guatemala por ser mi segunda casa por muchos años, por brindarme una formación integral y su apoyo para la realización de este estudio. A todos mis profesores de la escuela de biología que fueron fundamentales en mi formación como bióloga.

Un agradecimiento muy especial a mi asesor David A. Paz García, por creer en mí y darme la oportunidad de aprender a su lado y compartir conmigo sus conocimientos y experiencia en genética y arrecifes de coral. Por todo su tiempo, paciencia y dedicación para que yo aprendiera en todo el proceso de este estudio, desde las salidas de campo, los análisis en laboratorio y escritura de la tesis. Sobre todo por ser un gran ejemplo como científico y persona, y guiarme por el camino de la excelencia. Sin sus enseñanzas, consejos, motivación y algunos regaños no hubiera podido lograrlo. Muchas, muchas gracias por todo tu apoyo.

A Francisco García de León (Paco) y Eduardo Balart del Centro Investigaciones Biológicas del Noreste, La Paz, Baja California Sur. Por abrirme las puertas en sus laboratorios, Laboratorio de Genética de la Conservación y Laboratorio de Necton y Ecología de Arrecifes, respectivamente. Por facilitar la logística de salidas de campo, las muestras de tejido para análisis genéticos, e incluirme como parte del proyecto SEP-CONACYT (157993) “Efecto de la acidificación del océano en los arrecifes del Pacífico mexicano: paisaje genético, reconstrucción climática y crecimiento coralino”, a cargo de Eduardo Balart, poniendo a disposición todo lo necesario para realizar este estudio. Gracias por recibirme como en casa y permitirme trabajar a todo gusto en sus laboratorios.

A todos los compañeros de laboratorio de genética de la conservación por sus aportes, consejos y ayuda durante los análisis en laboratorio; Ruth, Caro, Nacho y Tania. A Salwa por su apoyo en las salidas de campo.

A mis amigos/compañeros/colegas, que pudimos vivir juntos paso a paso la experiencia de crecer académicamente y crear fuertes lazos de amistad en el proceso: Barbi, Paula, Sofi, Sara, Rax, Nemo, Lucía, Majo, la Peque, Jenni, Elisa y Pablo Lee. Especialmente a Papita mi amiga y compañera de trabajo duro, responsabilidades, laboratorios, desvelos y alegrías.

Al amor de mi vida, Francisco Roque por su apoyo incondicional durante la escritura de mi tesis, por darme ánimos y regañarme cuando tenía negación de escribir, por comprender todos esos “no puedo salir, tengo que hacer la tesis”. Por apoyar mis metas y acompañarme durante el camino, por llenar de amor y luz mis días. Gracias guapura.

I.INDICE

RESUMEN	8
1. INTRODUCCIÓN	10
2. ANTECEDENTES	12
2.1 Arrecifes coralinos	12
2.2 Condiciones ambientales en el Pacífico Oriental Tropical	12
2.3 Importancia de la relación simbiótica para los arrecifes coralinos	15
2.4 Dinoflagelados del género <i>Symbiodinium</i>	15
2.4 <i>Porites panamensis</i>	18
2.4.1 Generalidades	18
2.4.2 Estudios genéticos previos en el coral <i>Porites panamensis</i> y sus simbiontes.....	20
3. JUSTIFICACIÓN	23
4. OBJETIVOS	24
4.1. General	24
4.2. Específicos.....	24
5. HIPÓTESIS	25
6. MATERIALES Y MÉTODOS	26
6.1. Universo	26
6.2 Materiales	29
6.2.1 Equipo	29
6.2.2 Instrumentos	30
6.2.3 Materiales.....	30
6.2.4 Cristalería	30
6.2.5 Reactivos	30
6.3 Métodos.....	31
6.3.1 Recolecta de tejido	31
6.3.2 Preservación de tejido coralino	32
6.3.3 Extracción de ADN	33

6.3.5 Amplificación de ADN por la reacción en cadena de la polimerasa	33
6.3.6 Visualización de productos de amplificaciones	35
6.3.7 Análisis moleculares.....	36
6.3.8 Análisis de diversidad genética	39
6.3.9 Congruencia genética y geográfica	39
7. RESULTADOS	40
7.1 Análisis moleculares	40
7.2 Relaciones filogenéticas de <i>Symbiodinium</i>	40
7.3 Relaciones filogenéticas de <i>Symbiodinium</i> en <i>Porites panamensis</i> del Pacífico Oriental Tropical	43
7.4 Relaciones filogenéticas de <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico Oriental Tropical	45
7.5 Diversidad genética.....	47
7.5 Grupos filogenéticos de <i>Symbiodinium</i> en <i>Porites panamensis</i> y su distribución en el Pacífico Oriental Tropical	49
8. DISCUSIÓN	51
8.1 Relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (<i>Symbiodinium</i>)	51
8.2 Relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (<i>Symbiodinium</i>) de <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico Oriental Tropical	53
8.3 Diversidad genética del Hospedero (<i>Porites panamensis</i>) y sus endosimbiontes (<i>Symbiodinium</i>).....	56
8.4 Distribución geográfica de los linajes genéticos: hospedero vs. simbiote.....	58
9. CONCLUSIONES	59
10. RECOMENDACIONES.....	60
11. REFERENCIAS.....	61
12. ANEXOS.....	70

RESUMEN

Los arrecifes de coral son los ecosistemas marinos más productivos y albergan una gran cantidad de especies de invertebrados y peces. Los corales pétreos son los principales formadores de estos ecosistemas, y poseen una estrecha relación simbiótica con dinoflagelados del género *Symbiodinium*. El coral *Porites panamensis* es una especie que forma arrecifes coralinos a lo largo del Pacífico Oriental Tropical, región que posee condiciones ambientales muy cambiantes en relación a la temperatura, niveles de acidificación, niveles de nutrientes y claridad del agua.

Los corales son sensibles a condiciones extremas de temperatura, estas pueden provocar una pérdida de sus simbiontes dinoflagelados, lo que les ocasiona enfermedades, disminución del crecimiento e incluso la muerte. Han descubierto que la capacidad de ciertos corales para sobrevivir en condiciones ambientales extremas, es debido a los diferentes simbiontes (*Symbiodinium*) que estos puedan albergar, se cree que esta es una posible explicación para la amplia distribución que presenta el coral *P. panamensis*.

El objetivo de este estudio fue describir la diversidad genética de los endosimbiontes dinoflagelados (*Symbiodinium*) del coral *P. panamensis* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical. Para esto se utilizó como marcador molecular la región no codificante del minicírculo de cloroplasto (PsbA^{ncr}), este marcador ha sido utilizado en otros estudios para comprender mejor la evolución, ecología y filogenia de *Symbiodinium*. Con las secuencias obtenidas se realizaron reconstrucciones filogenéticas mediante los métodos de máxima verosimilitud y vecino más cercano, también se realizaron análisis de diversidad genética. En cuanto al coral *P. panamensis* se utilizaron tres regiones mitocondriales (ND1-ND5, ND2-ND6, y ND3-tRna-Trp) para el análisis filogenético concatenado y de diversidad genética. Se encontraron cuatro linajes filogenéticos (Linaje 1, 2, 3 y 4), de *Symbiodinium* en *P. panamensis* del Pacífico Oriental Tropical. Dentro del linaje 1 se pueden distinguir seis grupos filogenéticos los cuales se distribuyen en su mayoría en el Golfo de California y en la

Boca del Golfo. Además, la diversidad genética de *Symbiodinium* en *P. panamensis* es alta ya que de 39 secuencias analizadas 35 corresponden a haplotipos únicos. En cuanto al hospedero, presentó tres grupos filogenéticos los cuales corresponden a distintas regiones del Pacífico Oriental Tropical y se observa cierta congruencia entre simbiote-hospedero tanto genética como geográfica. En conclusión, las condiciones ambientales tan variantes a lo largo del Pacífico Oriental Tropical, han propiciado la formación de distintas combinaciones simbiote-hospedero, esto combinado con la forma de reproducción del coral y la transmisión de simbioses de manera vertical (i.e. de padres a hijos) ha hecho que haya una gran diversidad genética de *Symbiodinium* en *P. panamensis*. Así tanto el simbiote como el hospedero han divergido en distintos grupos filogenéticos propios de distintas localidades a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.

1. INTRODUCCIÓN

El coral *Porites panamensis* es una especie endémica del Pacífico Oriental Tropical distribuida desde el Norte del Golfo de California en México hasta Ecuador (Glynn & Ault, 2000). En esta región existen condiciones ambientales cambiantes con variaciones extremas en temperatura, niveles de acidificación, niveles de nutrientes y de claridad del agua (Glynn & Ault, 2000; Halfar, Godinez-Orta, Riegl, Valdez-Holguin, & Borges, 2005; Manzello, Kleypas, Budd, Eakin, Glynn & Langdon, 2008).

Porites panamensis es una especie formadora de comunidades coralinas, la cual puede distribuirse a profundidades que van desde 0 a 36 metros (Guzmán & Cortés, 2008), este coral mantiene una asociación simbiótica con dinoflagelados del género *Symbiodinium* llamados comúnmente zooxantelas (Brusca & Brusca, 2005; Guendulain, 2010; Smith, Sugget, & Baker, 2005). La importancia de esta relación simbiótica radica en que los dinoflagelados transfieren la mayor parte del carbono que fijan fotosintéticamente al coral, proporcionándole el 100% de la energía metabólica que requiere diariamente (Grottoli, Rodríguez & Juárez, 2004). Además de proporcionar nutrientes y energía, la identidad de los dinoflagelados que albergan los corales, está relacionada con la capacidad de estos de tolerar rangos de temperatura e irradiación extremas (LaJeunesse, Smith, Walther, Pinzón, Pettay, McGinley & Aschaffenburg, 2010). Por esto, esta simbiosis es muy importante y podría determinar la sobrevivencia de los corales en condiciones de estrés y frente al cambio climático.

Estudios previos en regiones específicas del Pacífico Oriental Tropical han demostrado que *Porites panamensis* posee numerosas variantes de *Symbiodinium* agrupados dentro del clado C (grupo filogenético nombrado a partir de la región ribosómica ITS-2) (Paz-García, LaJeunesse, Chávez-Romo, Correa-Sandoval & Reyes-Bonilla, 2008b; Mendoza, 2010). Para distinguir dentro de estas variantes se ha utilizado la región espaciadora ITS-2 y la región no codificante del minicírculo de cloroplasto PsbA^{ncr}

(LaJeunesse & Thornhill, 2011, p.1, 2; Thornhill, Lewis, Wham & LaJeunesse, 2013, p.352). Este último marcador posee una alta resolución genética que permite distinguir entre los variantes de *Symbiodinium* hacia el interior del clado C (LaJeunesse & Gymnodinium, 2001; Thornhill *et al.*, 2014).

En el presente estudio se describe la diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (*Symbiodinium*, Clado C) que posee *Porites panamensis*, por medio de una reconstrucción filogenética y análisis de diversidad genética con muestras de distintas regiones del Pacífico Oriental Tropical, utilizando como marcador molecular la región no codificante del minicírculo de cloroplasto (PsbA^{ncr}). Para los análisis filogenéticos y de diversidad de *P. panamensis* se utilizaron tres marcadores mitocondriales: ND1-ND5, ND2-ND6, y ND3-tRna-Trp (Paz-García *et al.*, en revisión).

2. ANTECEDENTES

2.1 Arrecifes coralinos

Los arrecifes coralinos son los ecosistemas marinos que albergan la mayor diversidad de especies, se estima que hay 165,000 especies de invertebrados asociados a los arrecifes, siendo la fauna dominante los moluscos, artrópodos, nematodos, platelmintos y cnidarios (Alvarado & Vargas-Castillo, 2012; Stella, Pratchett, Hutchings & Jones, 2011; Fransolet, Roberty & Plumier, 2012). Los componentes principales de la estructura tridimensional que constituye los arrecifes son los corales escleractinios (Alvarado & Vargas-Castillo, 2012; Smith *et al.*, 2005). Los corales escleractinios y otros invertebrados poseen una relación simbiótica con dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium*, lo que hace a este ecosistema productivo (Fransolet *et al.*, 2012). Los arrecifes también son de gran importancia para el ser humano al prestar servicios ambientales que son beneficiosos para la pesquería y el turismo, además de proteger las costas contra el oleaje y huracanes. Aproximadamente 500 millones de personas alrededor del mundo dependen de sus recursos (Smith *et al.*, 2005).

2.2 Condiciones ambientales en el Pacífico Oriental Tropical

Las condiciones ambientales en el Pacífico Oriental Tropical son extremas para el desarrollo coralino (Glynn & Ault, 2000; Manzello *et al.*, 2008; Baums, Boulay, Polato & Hellberg, 2012, p.1) y pueden variar estacionalmente, interanualmente y a grandes escalas de tiempo (Fiedler, 2002, p.265). Las principales condiciones ambientales que afectan la distribución y el desarrollo coralino son: la temperatura, la óptima para que sobrevivan los corales es entre 18.4 °C y 23 °C y algunos corales no son tolerantes a cambios drásticos de temperatura.; la luz debido a que los simbiosomas que albergan necesitan la luz para realizar fotosíntesis y proporcionar energía a los corales; y la saturación de aragonita que es una fuente de carbono para que los corales puedan construir su esqueleto, su concentración en el

océano se ve afectada por la acidificación del océano (Guinotte, Buddemeier, & Kleypass, 2003; Manzello *et al.*, 2008).

En el Pacífico Oriental Tropical ocurren fenómenos decadales como El Niño y La Niña que ocasionan anomalías en el calentamiento y enfriamiento en la temperatura superficial del océano, respectivamente (Fieldler, 2002, p.667). La región presenta un gradiente de temperaturas, que van desde 13 °C en el norte y 24 °C en el sur, y en verano ascienden hasta 30 °C (Halfar *et al.*, 2005; Manzello *et al.*, 2008). Estas variaciones en las condiciones ambientales afectan la relación de los corales con sus algas endosimbiontes (*Symbiodinium*). La disrupción de estas asociaciones resulta en el fenómeno conocido como “blanqueamiento”, en el que el coral pierde parcial o totalmente los dinoflagelados - simbióticos causando disminución en las tasas de crecimiento y calcificación del coral, limitaciones en la reproducción y la muerte de tejido celular en el coral (Baker, Glynn & Riegl., 2008, p. 435; Van Oppen y Lough, 2009). Además, estos cambios de temperatura pueden influenciar en gran manera la distribución y persistencia de los corales a largo plazo. Asimismo, las aguas eutróficas que se presentan en algunos sitios provocan que haya poca penetración de luz dificultando el desarrollo coralino (Halfar *et al.*, 2005).

La acidificación del océano causa una disminución en la concentración de carbonatos en el agua, esto a su vez disminuye el estado de la saturación del carbono (Ej. aragonita); lo que se traduce en una reducción en la calcificación de los corales y aumento en la disolución de los mismos (Manzello *et al.*, 2008, p. 10450). En el Pacífico Oriental Tropical existe un gradiente de concentración de saturación de aragonita, observándose una alta concentración en los trópicos y una disminución hacia el norte y el sur (Ver figura 1) (Millero, 2007).

La importancia del área de estudio radica en que las condiciones que se presentan en el Golfo California y en varias regiones del Pacífico Oriental Tropical podrían ser las condiciones futuras a las que se enfrentarían los arrecifes coralinos en un ambiente modificado por el cambio climático (Halfar *et al.*, 2005; Wicks, Sampayo, Gardner & Davy, 2010; LaJeunesse *et al.*, 2010).

Algunas especies de coral, como *Porites panamensis*, poseen amplios rangos de distribución. Esto debido a que una misma especie de coral puede albergar distintos tipos de endosimbiontes que le confieren resistencia ante diversas condiciones ambientales (Berkelmans & Van Oppen, 2006), como las que se encuentran en la región del Pacífico Oriental Tropical.

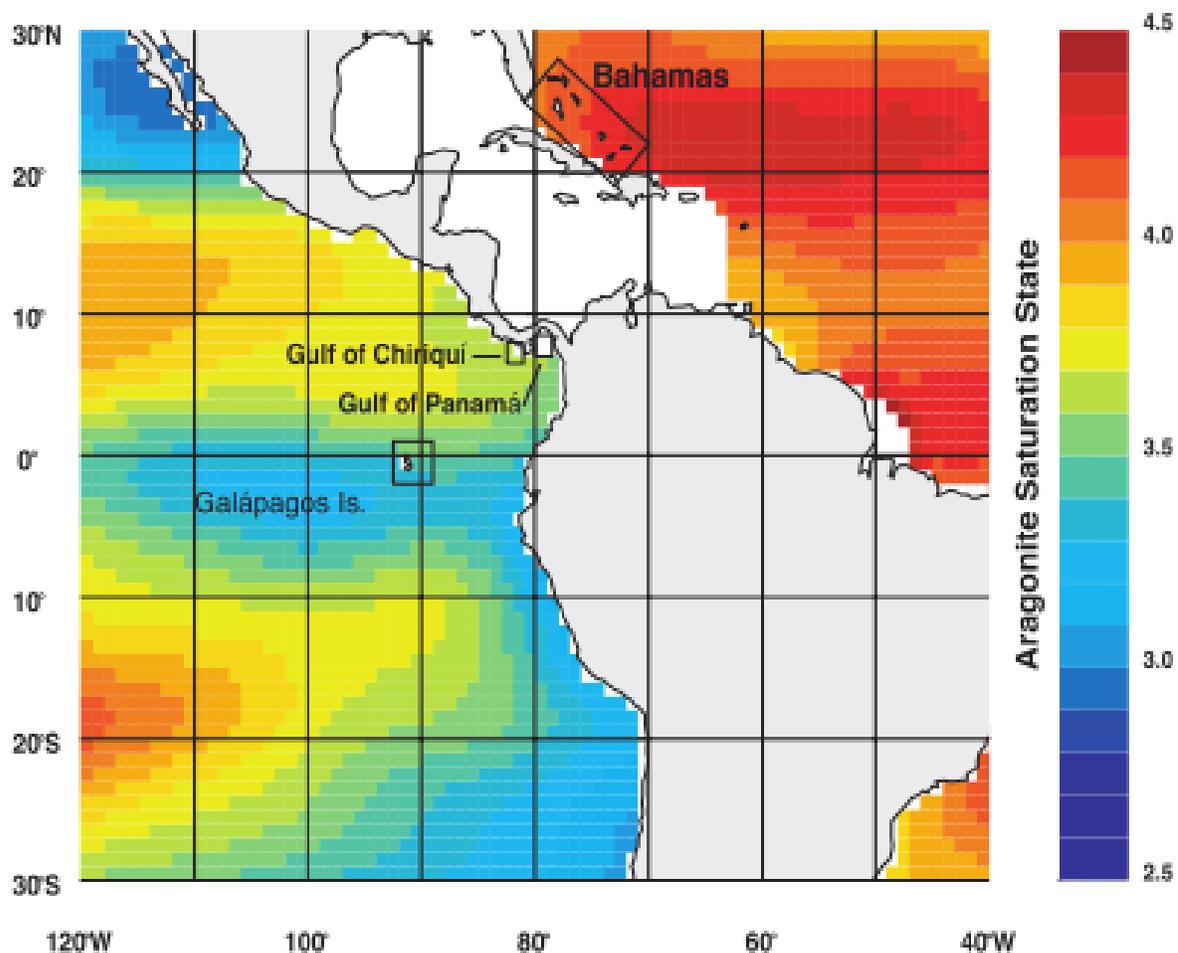


Figura 1. Pacífico Oriental: Gradiente de concentración de aragonita. El color azul representa bajas concentraciones y el color rojo altas concentraciones. La aragonita es importante para la formación de carbonato de calcio CaCO_3 en los corales (Figura tomada de: Manzello *et al.*, 2008).

2.3 Importancia de la relación simbiótica para los arrecifes coralinos

Los corales escleractinios poseen una asociación simbiótica con dinoflagelados del género *Symbiodinium* conocidos como zooxantelas, que están distribuidas en el endodermo del coral (Brusca & Brusca, 2005; Smith *et al.*, 2005; Guendulain, 2010). Esta asociación simbiótica es determinante para los corales, ya que una gran parte de los compuestos orgánicos (glucosa, alanina o glicerol) que son producidos por el metabolismo de los simbiontes pueden ser transferidos al hospedero (Harland, Fixter, Spencer & Anderson, 1991; Grottoli *et al.*, 2004; Smith *et al.*, 2005). Mediante esta relación metabólica el coral produce un depósito del carbonato cálcico durante su crecimiento, que ayuda a la formación de estructuras arrecifales (Brusca & Brusca, 2005).

Además de proporcionar nutrientes y energía, la identidad de los dinoflagelados que albergan los corales, está relacionada con la capacidad de estos de tolerar condiciones de temperatura e irradiación extremas (LaJeunesse *et al.*, 2010). Así las distintas combinaciones de hospedero y simbiote representan ventajas ecológicas y posibles adaptaciones a distintas condiciones ambientales (Wicks *et al.*, 2010). Esta asociación puede determinar la respuesta de los corales ante condiciones de estrés y frente al cambio climático (Baker, 2001; Baker, Starger, McClanahan & Glynn, 2004).

2.4 Dinoflagelados del género *Symbiodinium*

El género *Symbiodinium* es el grupo de algas unicelulares más abundante e importante que se encuentra en los ecosistemas de arrecifes de coral (Finney, Pettay, Sampayo, Warner, Oxendorf & LaJeunesse, 2010, p.250), debido a la simbiosis que forman y a su productividad (Pochon, Putman, Burki & Gates, 2012). Las especies de este género difieren en su habilidad de establecer una relación simbiótica con el hospedero, ya que algunos son tolerantes a diversas temperaturas, pueden estar en distintas profundidades y soportar distintos niveles de estrés, mientras que otros son muy específicos en cuando al hospedero y las condiciones ambientales que pueden tolerar (Dubinsky & Stambles, 2011).

La delimitación de “especies” del género *Symbiodinium* se ha realizado mediante herramientas moleculares. Están separados en 9 clados filogenéticos (A-I) que han sido distinguidos por ADN nuclear ribosómico (genes y regiones espaciadoras: SSU, 18S, LSU, 28S, ITS1, ITS2); y ADN de cloroplasto (región no codificante del minicírculo PsbA y región 23SrDNA) (LaJeunesse, Thornhill, Cox, Stanton, Fitt & Schmidt, 2004a; LaJeunesse & Thornhill, 2011; Pochon & Gates, 2010). Los clados que se han encontrado asociados a corales son A, B, C, D, (LaJeunesse *et al.*, 2010; Wicks *et al.*, 2010; Mendoza, 2010; Silverstein, 2012; Berkelmans & Van Oppen, 2006).

Dentro de los clados existen variantes llamadas “tipos” o “subclados” (LaJeunesse & Gymnodinium, 2001; Baker, 2003; Pochon, Montoya-Burgos, Stadelmann & Pawlowski, 2006), identificados en base a los marcadores ITS-1 e ITS-2; estos presentan distintos hospederos, y patrones de distribución geográfica y/o ambiental (Pochon *et al.*, 2012; LaJeunesse *et al.*, 2010). Además, algunos pueden estar tan cercanamente emparentados, que se diferencian únicamente por algunos cambios en secuencias nucleotídicas de ADN nuclear y de los cloroplastos (LaJeunesse & Thornhill, 2011).

El clado A se encuentra en el Atlántico Oeste en cnidarios y moluscos; el clado B ha sido identificado en anémonas del Pacífico Oriental y en corales del Caribe (Mendoza, 2010). Mientras que el clado C, es el más común y diverso en los corales del Indo-Pacífico y Australia, también es dominante en el Caribe junto con el clado B (Dubinsky & Stambles, 2011). En el Pacífico Oriental Tropical, se ha encontrado el clado C y D en distintos géneros de corales como en *Pocillopora*, *Porites* y *Pavona* (Paz-García *et al.*, 2008b; Mendoza, 2010; LaJeunesse, Bonilla, Warner, Wills & Schmidt, 2008). Además, el clado D se ha encontrado en el Golfo Pérsico, en Tailandia, en el Atlántico Oeste y Australia (LaJeunesse, Loh, van Woesik, Hoegh-Guldberg, Schmidt & Fitt, 2003; LaJeunesse *et al.*, 2004a; LaJeunesse *et al.*, 2008).

Genoma del cloroplasto de *Symbiodinium*

Los genes se encuentran en moléculas circulares, llamadas mini círculos, que poseen de 2.2 a 3.1 Kpb (Kilo pares de bases) (Koumandou & Howe, 2007, p.89). Estos mini círculos conforman el genoma de los cloroplastos de *Symbiodinium*. Algunos mini-círculos pueden contener más de un gen. En general la estructura de un minicírculo contiene: el gen, región núcleo y una región no codificante. Aunque esta puede variar entre especies (Moore, Ferguson, Loh, Hoegh-Guldberg & Carter, 2003, p. 1725; Howe *et al.*, 2008, p.1035, 1039; Leung & Wong, 2009, p.1).

La región no codificante de un minicírculo contiene regiones conservadas, usualmente de dos a cuatro, separadas por regiones variables. Las regiones variables de la región no codificante del minicírculo *psbA* de *Symbiodinium* clado C, presentan secuencias altamente polimórficas. Lo que hace que el marcador *psbA^{ncr}* sea de utilidad para describir la diversidad genética de los simbioses (Moore *et al.*, 2003, p.1725; LaJeunesse & Thornhill, 2011).

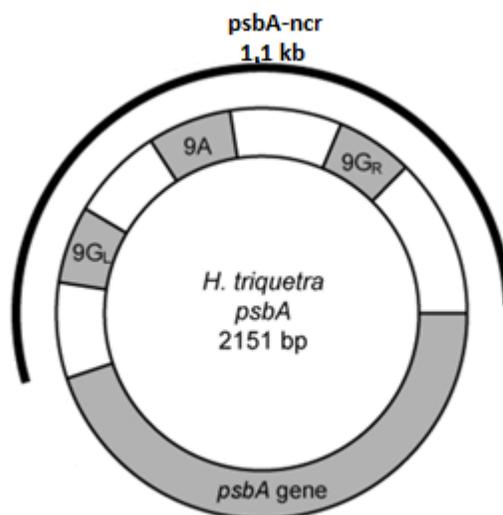


Figura 2. Mapa de minicírculo de cloroplasto *psbA* en *Heterocapsa triquetra*. Ubicación de la región altamente polimórfica no codificante (*psbA^{ncr}*, 1.1 kb), la cual se utilizará en este estudio; y ubicación del gen *psbA* (codificante, 1 kb) (Modificado de: Leung & Wong, 2009, p.1993).

2.4 *Porites panamensis*

2.4.1 Generalidades

El coral *Porites panamensis* pertenece a la familia Poritidae del orden Scleractinia. Se encuentra en arrecifes coralinos o comunidades de coral en sustratos rocosos, puede estar en profundidades que van desde 0 a 36 metros y sus poblaciones son abundantes en el Golfo de California, la Península Santa Elena y Bahía Culebra en Costa Rica; Golfo de Chiriquí e Isla Taboga en Panamá (Guzmán & Cortés, 2008).

Presenta dos estrategias reproductivas, la sexual que es la dominante y la asexual por fragmentación que es poco común en esta especie, pero se da en algunos sitios del Pacífico mexicano (Chávez-Romo, Paz-García, Correa-Sandoval, Reyes-Bonilla, López-Pérez y Medina-Rosas, 2013, p.397). Es una especie gonocórica y posee fecundación interna con el desarrollo del embrión hasta estado de plánula dentro de la colonia hembra. Luego son expulsadas las larvas y se fijan a poca distancia de los parentales, esto se traduce en una baja capacidad de dispersión (Paz-García, 2008c, p.3). La adquisición de endosimbiontes se da por transmisión vertical (figura 3), en la que las larvas plánulas poseen el mismo tipo de endosimbiontes que los parentales (Byler, Carmi-Verla, Fine & Goulet, 2013) ya que estos son transmitidos durante la fecundación.

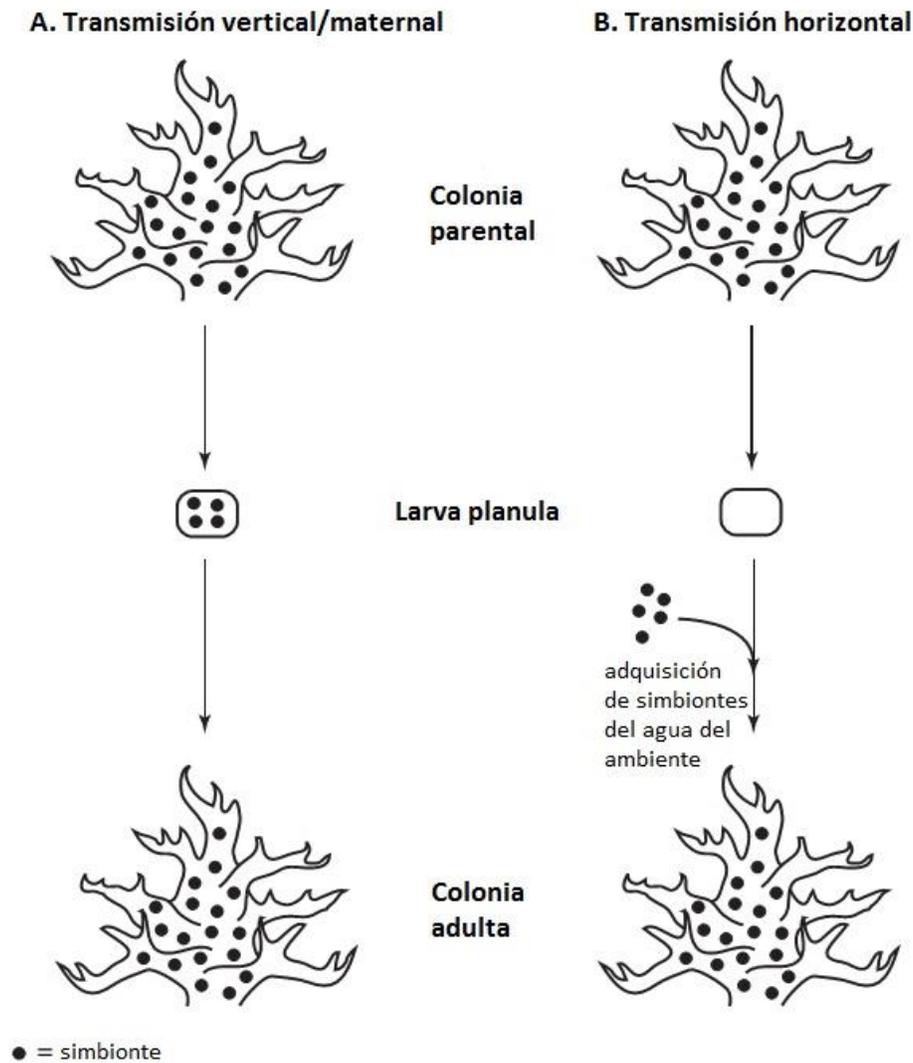


Figura 3. Estrategias para la adquisición de simbioses vertical y horizontal utilizadas por corales pétreos (Modificada de: Stat, Carter & Hoegh-Guldberg, 2006).

Según Chávez-Romo y colaboradores (2013), *Porites panamensis*, se reproduce la mayor parte del año de manera sexual. Este alto potencial reproductivo podría ser una adaptación a las condiciones fluctuantes en las que habita, además es un factor importante en la diversidad y divergencia genética que puedan presentar el coral y sus endosimbioses (*Symbiodinium*).

2.4.3 Genoma mitocondrial de *Porites panamensis*

El genoma mitocondrial de *Porites panamensis* tiene una longitud total de 18,628 pb, está compuesto por 13 genes que codifican para proteínas, dos genes ribosomales y dos genes de transferencia ribosomal (figura 4). La estructura mitocondrial que posee es similar a otras especies del género *Porites* (Del Río-Portilla *et al.*, 2014).

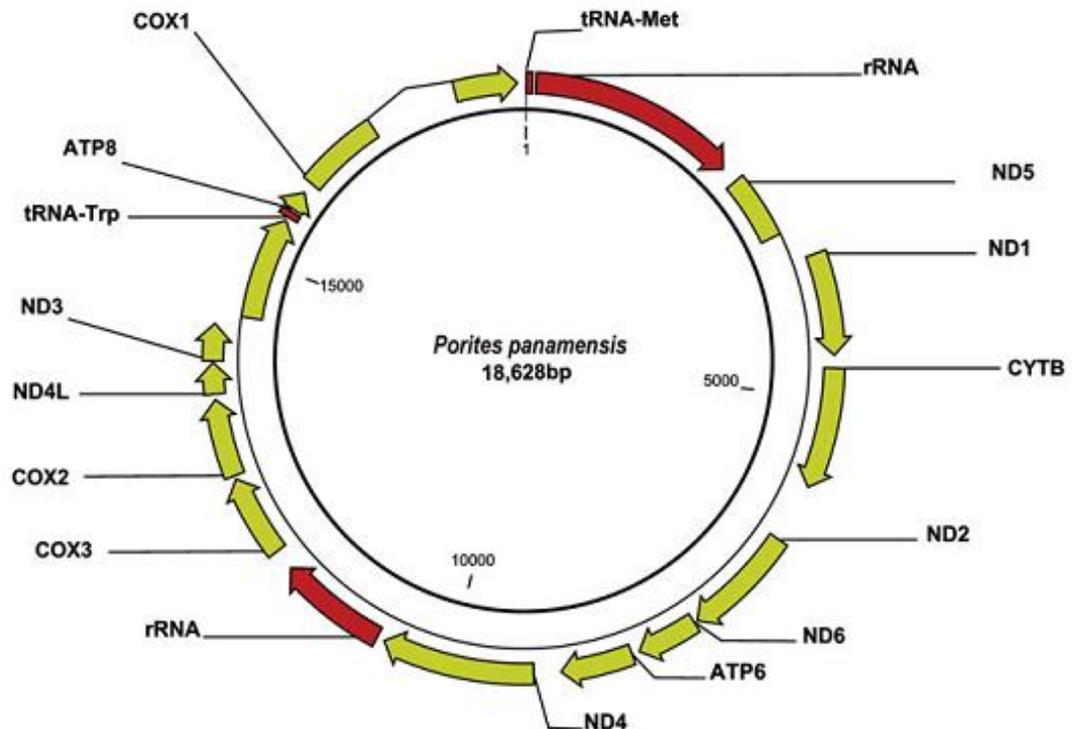


Figura 4. Orden de los genes del genoma mitocondrial del coral *Porites panamensis*. (Tomada de: Del Río-Portilla *et al.*, 2014).

2.4.2 Estudios genéticos previos en el coral *Porites panamensis* y sus simbioses.

Un estudio realizado en *Porites panamensis* en el Pacífico Mexicano, indican que las poblaciones del Golfo de California poseen altos niveles de diversidad genética (Saavedra-Sotelo, Calderón-Aguilera, Reyes-Bonilla, Paz-García, López-Pérez, Cupul-Magaña, Cruz-Barraza, J & Rocha-Olivares, 2013). En un estudio en el que utilizaron aloenzimas,

indicaron que existe una diferenciación genética en tres regiones; el Golfo de California, la Boca del Golfo y el Sur del Pacífico Mexicano (Paz-García, Correa-Sandoval, Chávez-Romo, Reyes-Bonilla, López-Pérez, Medica-Rosas & Hernández Cortés, 2008a, p.451). De manera similar, en un estudio con marcadores nucleares (ITS-2 y ORF) encontraron dos regiones genéticamente diferentes; el Golfo de California y el resto del Pacífico Mexicano. En este estudio se propone que las poblaciones de *P. panamensis* del Golfo de California representan el centro de abundancia y origen de la especie (contribuyendo con el 50 al 68% de la cobertura total de coral) (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013). Estos patrones de diversidad y estructura genética del coral estuvieron relacionados con las variables ambientales como la temperatura, la claridad del agua y la disponibilidad del sustrato (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013).

Estos resultados son relevantes para la presente investigación ya que se plantea que las condiciones ambientales podrían propiciar una diferenciación genética en los endosimbiontes (*Symbiodinium*) de *P. panamensis*, que se han adaptado al gradiente ambiental que presenta el Pacífico Oriental Tropical (Mendoza, 2010; Paz- García *et al.*, 2008b). Así también, existe la posibilidad de encontrar los mismos patrones de diversidad genética en el endosimbionte (*Symbiodinium*) de *Porites panamensis*. Dado no solo por el tipo de reproducción del coral que permite la transmisión vertical de endosimbiontes (heredados de los parentales), sino también por poseer los mismos sitios de distribución, condiciones ambientales y barreras geográficas; además que se ha encontrado una relación entre el genotipo del coral (*Porites panamensis*) y la asociación de simbiontes (Paz- García *et al.*, 2008b).

En el coral *Porites panamensis* se ha reportado una alta diversidad de simbiontes pertenecientes al clado C, la cual es 5 veces mayor que la diversidad encontrada en otros géneros de coral en el Pacífico Oriental Tropical (LaJeunesse *et al.*, 2008; Paz-García *et al.*, 2008a; Mendoza, 2010). Hasta el momento la variación genética de los simbiontes de *P. panamensis* ha sido analizada en varias localidades del Pacífico mexicano, mediante la región ribosómica ITS-2. En el Golfo de California se encontraron cinco tipos de *Symbiodinium* (Paz-García *et al.*, 2008b) mientras en otras localidades como Bahía Banderas

y Huatulco, Oaxaca se encontraron 16 tipos (Mendoza 2010). Esto señala que al igual que con el hospedero, existe una diferenciación genética del simbiote a nivel geográfico, la cual parece estar influenciada por factores ambientales donde el coral se encuentra (LaJeunesse *et al.*, 2008).

Además de realizar estudios de *Symbiodinium* con el marcador ITS-2, han utilizado la región no codificante del minicírculo de cloroplasto PsbA (PsbA^{ncr}). Este último es altamente polimórfico (Moore *et al.*, 2003) y posee mayor resolución genética para distinguir específicamente entre los “tipos” de *Symbiodinium* dentro del clado C (LaJeunesse & Thornhill, 2011; Thornhill *et al.*, 2014). También la resolución genética que brinda PsbA^{ncr}, ha permitido realizar análisis sobre la ecología, evolución y sistemática del género *Symbiodinium* (Finney *et al.*, 2010). Dado esto en la presente investigación se utilizará el marcador PsbA^{ncr}.

3. JUSTIFICACIÓN

Porites panamensis es una especie de coral endémica del Pacífico Oriental, y principal constructora de comunidades arrecifales. Además, es capaz de sobrevivir en condiciones de estrés ambiental como altas y bajas temperaturas, altos niveles de nutrientes, pH bajo y niveles altos de clorofila. Sin embargo, sus poblaciones fueron casi extintas en Centro América debido a eventos de blanqueamiento masivo ocasionados por El Niño 1982, 1997-1998, mientras que en el Golfo de California las poblaciones no sufrieron daños (Glynn, 1990; Reyes-Bonilla, 2001). A pesar de la importancia de la especie en la región, solo existe un estudio sobre la diversidad genética de sus simbiontes en el Pacífico Oriental Tropical

El estudio de la diversidad genética de los simbiontes de *Porites panamensis* podría revelar el porqué de la persistencia de esta especie en condiciones adversas, debido a la presencia de distintos tipos de simbionte que brinden oportunidades de adaptación y sobrevivencia al coral. Además, brinda una aproximación de cuál sería la estrategia de sobrevivencia para los arrecifes de coral en el mundo frente al cambio climático. También este estudio permitiría conocer las relaciones evolutivas existentes entre *Porites panamensis* y *Symbiodinium* y así brindar conocimiento de su estructura genética en la región la cual se desconoce a detalle.

4. OBJETIVOS

4.1. General

Describir la diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (*Symbiodinium*, Clado C) y de su hospedero, el coral *Porites panamensis* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.

4.2. Específicos

- 4.2.1 Describir la relación filogenética y la variación genética de los endosimbiontes (*Symbiodinium*, Clado C) presentes en *Porites panamensis* mediante el marcador molecular PsbA^{ncr} (región no codificante del minicírculo de cloroplasto).
- 4.2.2 Determinar si existe una congruencia genética y geográfica entre los endosimbiontes (*Symbiodinium*, Clado C) y el coral *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical.

5. HIPÓTESIS

Dado la alta diversidad genética observada en las poblaciones del coral *Porites panamensis* y a la estrecha relación simbiótica con los dinoflagelados del género *Symbiodinium* clado C, se espera observar una amplia diversidad genética del endosimbionte mediante el marcador PsbA^{ncr} a lo largo del Pacífico Oriental Tropical y una congruencia genética y geográfica hospedero-simbionte.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Universo

6.1.1. Población

Los endosimbiontes dinoflagelados del género *Symbiodinium* que habitan en el coral *Porites panamensis* que se distribuye en el Pacífico Oriental Tropical desde el Golfo de California hasta Costa Rica.

6.1.2. Muestra

Endosimbiontes dinoflagelados del género *Symbiodinium* del clado C que habitan en el tejido de los corales *Porites panamensis* recolectados en diez localidades a lo largo del Pacífico de México, además de dos islas oceánicas y tres localidades en el Pacífico de Costa Rica (Figura 5). Las coordenadas geográficas de las localidades de recolecta se observan en la tabla I.

Tabla I. Sitios de recolecta de *Porites panamensis* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical.

País	Región	Localidad	Coordenadas	
			Latitud	Longitud
México	Norte del Golfo de California	Bahía de los Ángeles	28°59'25" N	113°29'42" O
	Centro GC	Loreto	26°0'40.8" N	111°20'2.5" O
		Bahía Concepción	26°55'29.23"N	111°55'54.16" O
	Sur GC	Portugués	24°41'22" N	110°39'10" O
		La Paz	24°12'10.54"N	110°20'49.85"
	Boca del GC	Cabo Pulmo	23°18'1" N	109°23'9" O
		Mazatlán	23°13'21" N	106°28'24" O
		Isla Marietas	20°41'57.9" N	105°34'6.3" O
	Centro Pacifico Mexicano	Bahía Banderas	20°37'57.63"N	105°27'25.09" O
		Colima	18°50'14" N	104°38'49" O
Islas Oceánicas	Isla Clarion	18°48'58.06"N	112°45'59.89" O	
	Revillagigedo	10°17'07.68" N	109°12'58.52" O	
	Clipperton	9°22'4" N	84°7'52" O	
Costa Rica	Costa Rica	La Mesa	9°22'4" N	84°7'52" O
		Isla Despena	10°50'54" N	85°44'43" O

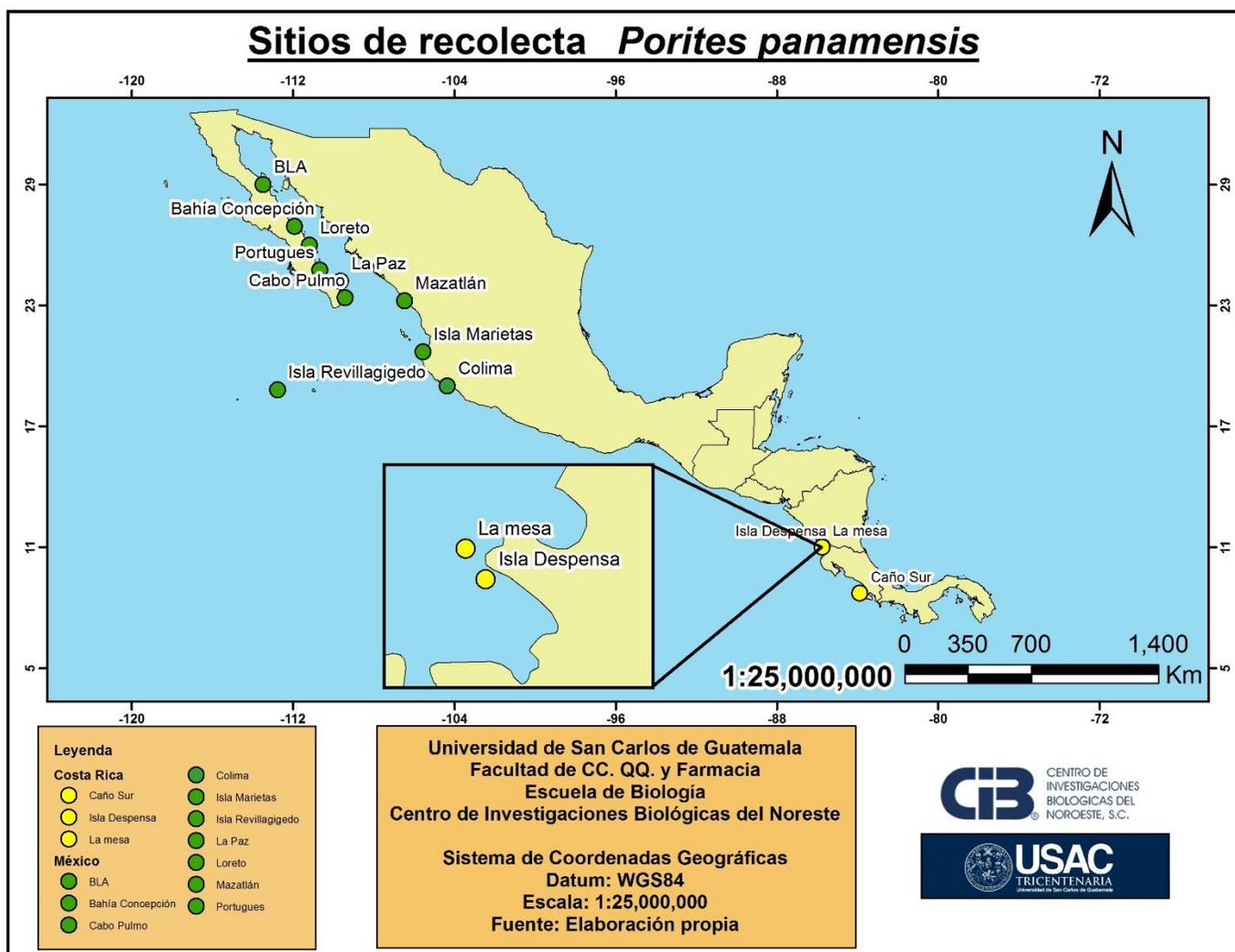


Figura 5. Localidades de recolecta de *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical. BLA: Bahía de los Ángeles.

6.2 Materiales

6.2.1 Equipo

Equipo de campo

- Snorkel
- Visor
- Aletas
- Traje de neopreno
- Cinturón de plomos
- Plomos
- Chaleco
- Octopus
- Tanques de aire
- Guantes
- Computadora de buceo
- Cámara a prueba de agua
- Bolsas ziploc de tamaño mediano
- Martillo
- Cincel
- Hielera
- Tabla
- Lápiz
- Hojas de prueba de agua
- Botas de neopreno

Equipo de laboratorio

- Balanza digital
- Cámara de electroforesis
- Agitador eléctrico
- Microcentrifuga
- Termociclador
- Nanodrop
- Transiluminador de luz UV
- Vortex Gene-2
- Congeladores a -20 °C y -4 °C
- Autoclave
- Termoblock

6.2.2 Instrumentos

- Micropipetas de 1 μ l, 5 μ l, 10 μ l, 20 μ l, 100 μ l, 200 μ l, 1000 μ l
- Gradillas para tubos PCR
- Espátula
- Gradillas para tubos eppendorff
- Pinzas
- Probetas de 10 ml, 50 ml y 100 ml

6.2.3 Materiales

- Tubos para microcentrifuga de 1.5 ml y 1 ml.
- Papel mayordomo
- Guantes de nitrilo
- Bandejas de plástico.
- Tubos de plástico de 40 ml.
- Puntas para micropipetas de 10 μ l, 100 μ l, 200 μ l y 1000 μ l
- Marcadores permanentes
- Parafilm
- Cajas para tubos de 1.5 ml para almacenar tejido

6.2.4 Cristalería

- Beakers de 250 ml
- Varilla agitación
- Erlenmeyer 250 ml
- Frascos de vidrio de 250 ml y 500 ml

6.2.5 Reactivos

- Solución salina SDS (20% DMSO, EDTA 250 mM pH 8, saturado con NaCl)
- DMSO
- Etanol absoluto.
- Proteinasa K [20 mg/ml]
- EDTA 250 mM y 2 mM
- Cloruro de Sodio (NaCl)
- Agua destilada.
- Buffer de lisis [0.2M Tris, 2 mM EDTA,

0.7% SDS, pH 7.6]

- Acetato de amonio [9M]
- Cloroformo
- Etanol 80 % (frío).
- Agua Ultrapura (MiliQ).
- Desoxinucleótidos [10 mM]
- Cebador delantero (Forward) [10 pmol/ μ l]*
- Enzima *Taq* Polimerasa
- Buffer para cámara de electroforesis
- Escalera molecular 100 pb INVITROGEN
- Isopropanol al 100 %
- Acetato de sodio [3M]
- Agarosa
- Buffer de PCR [10x]
- MgCl₂ [50 mM]
- Cebador reverso (Reverse) [10 pmol/ μ l]*
- Redgel
- Buffer para electroforesis

6.3 Métodos

6.3.1 Recolecta de tejido

Se realizaron recolectas del coral *Porites panamensis* mediante inmersiones en arrecifes coralinos, utilizando equipo de buceo SCUBA. Las inmersiones se realizaron a distintas profundidades (de 3 a 18 m.). Se recolectaron fragmentos de coral utilizando martillo, cincel y bolsas ziploc (previamente etiquetadas) en donde fueron guardados temporalmente los fragmentos. Finalmente las muestras fueron transportadas hasta el laboratorio en una hielera con agua de mar. También fueron utilizadas muestras de tejido de coral de *Porites sverdrupi* y *Porites lobata* de la colección del Laboratorio de Necton y Ecología de Arrecifes del Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste.

6.3.2 Preservación de tejido coralino

Las muestras recolectadas fueron fragmentadas con martillo y cincel hasta un tamaño de aproximadamente 1 cm². Luego los fragmentos fueron colocados con pinzas en tubos 2 ml, previamente etiquetados, a los cuales se le agregó solución salina (20% DMSO, EDTA 250 mM pH 8, saturado con NaCl) para preservar el material genético (Figura 6) (Seutin, White & Boag, 1991; Crepeau, 2011). El tejido fue almacenado en un refrigerador a – 20 °C hasta ser utilizado.

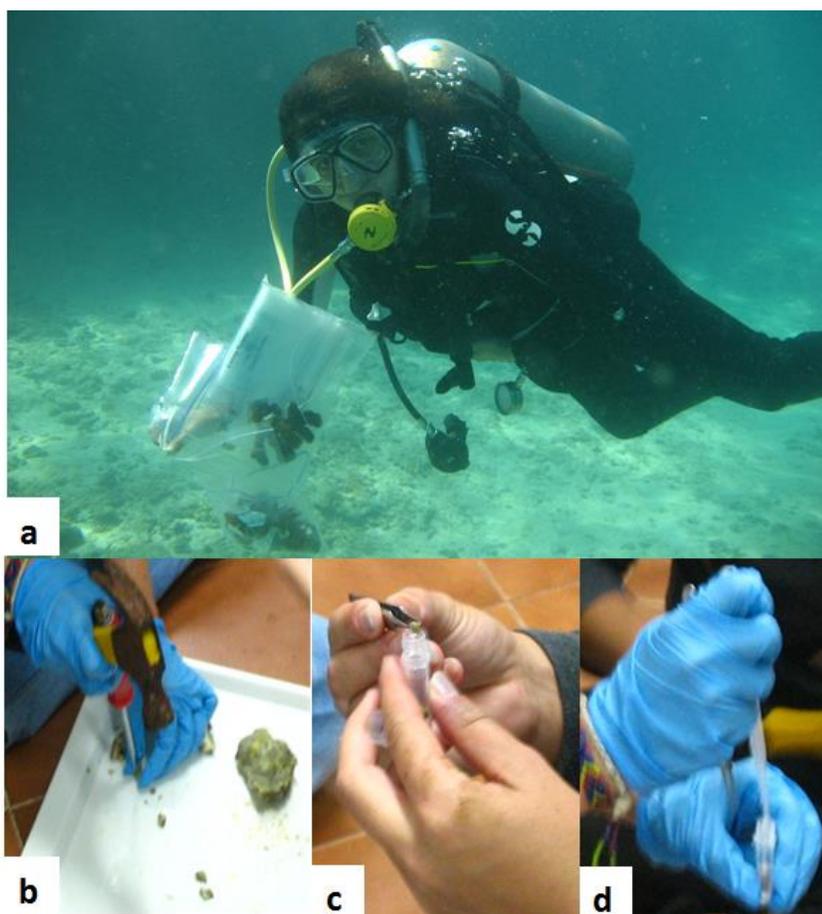


Figura 6. Procedimiento para preservación de muestras en solución salina (DMSO).
a) Recolecta de coral b) Fragmentación de coral, c) Colocación de fragmentos con pinzas en tubos 2 ml, d) Agregar solución salina.

6.3.3 Extracción de ADN

El método de extracción de ADN utilizado fue el descrito por LaJeunesse y colaboradores (2003), el cual consistió en separar el tejido del esqueleto coralino por medio de una fuerte agitación en un vortex. Previo a la agitación se agregaron perlas de vidrio, un buffer de lisis (0.2M Tris, 2 mM EDTA, 0.7% SDS, pH 7.6) y una fracción del esqueleto. Luego se incubaron a 65 °C con proteinasa K (20 mg/ml) para romper las membranas celulares y liberar el material genético de las células. Luego, se precipitó las proteínas con acetato de amonio (9M), se centrifugó para descartar las proteínas y compuestos que no son de interés. El sobrenadante fue separado y se agregó cloroformo, el cual se mezcló por inversión y luego esto fue centrifugado. El sobrenadante se colocó en un tubo nuevo al que se le agregó acetato de sodio (3M) e isopropanol al 100% para precipitar el ADN, esto fue centrifugado y el sobrenadante se descartó. Posteriormente, se suspendió con etanol al 70%, se centrifugó, se retiró el etanol y se dejó secar las muestras a 65 °C hasta que se evaporó todo el etanol. Finalmente el pellet de ADN fue re-suspendido con 100 µl de agua doblemente desmineralizada (Agua MiliQ). Las muestras se almacenaron a –20°C hasta ser utilizadas para la amplificación por PCR.

6.3.4 Cuantificación y calidad de ADN

El ADN obtenido de la extracción se cuantificó utilizando un nanodrop, el mismo indicó si el ADN era de buena calidad. Al saber la concentración de ADN se preparó alícuotas de una concentración de 10 ng para utilizarlas en la amplificación y el resto fue almacenado a – 20 °C.

6.3.5 Amplificación de ADN por la reacción en cadena de la polimerasa

Para estimar la diversidad genética los simbiontes dinoflagelados (*Symbiodinium*), se realizaron ensayos de PCR (Reacción en cadena de la polimerasa, por sus siglas en inglés) con distintas muestras de ADN con el fin de estandarizar el marcador molecular, *PsbA^{ncr}* con el fin de distinguir entre tipos del Clado C de este género (LaJeunesse &

Thornhill, 2011). Para ello se usaron los iniciadores complementarios (ver tabla II) a la región colindante del fragmento PsbA^{ncr} (Moore *et al.*, 2003).

A continuación se presentan las condiciones de PCR propuestas por Moore *et al.*, 2003, las cuales fueron utilizadas. En cada reacción de un volumen total de 15 µl se añadió: 20 pmol de cada iniciador combinado con 10 ng de ADN total, 1 unidad de Taq, 40 µg de BSA, 0.1 mM de cada dNTP (dATP, dCTP, TTP, dGTP), buffer de PCR 1X, 150 mM MgCl₂ y agua MilliQ.

El protocolo de PCR utilizado fue:

1. Temperatura de desnaturalización: 94°C por 2 min.
2. Temperatura de desnaturalización: 94°C por 10 seg.
3. Temperatura de alineación: 55°C por 30 seg.
4. Temperatura de extensión: 72°C por 2 min.
5. 35 a 40 ciclos de repetición de los pasos 2 al 4.
6. Finalmente una temperatura de extensión final de 72°C durante 10 minutos.

Para reconstruir las relaciones filogenéticas de *Porites panamensis*, se realizaron reacciones de PCR para tres regiones mitocondriales: ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp, para lo cual se utilizaron los cebadores complementarios (ver tabla II). Las reacciones de PCR, fueron en volúmenes de 15 µl conteniendo: 1x PCR buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3 y 50 mM KCl), 2 mM MgCl₂, 2 mM de dNTPs (total), 0.4 mM de cada oligonucleótido, 1.5 U taq polimerasa (Invitrogen Life Technologies), y 50 ng de ADN. El protocolo de PCR fue de 5 min a 94 °C seguido de 30 ciclos de: 30 s a 94°C, 30 s a 54 °C (ver tabla II) y 75s a 72°C. Y una extensión final a 72 °C por 10 min.

Tabla II. Iniciadores utilizados para la amplificación de PCR, secuenciación y modelo evolutivo para los análisis filogenéticos. Pb = pares de bases, $T^{\circ}m$ = temperatura de alineamiento. *Modelo evolutivo obtenido a partir de jModelTest (Darriba, Taboada, Doallo & Posada, 2012). ¹ = utilizado para BD1. ² = utilizado para BD2. Referencias: 1 Moore *et al.*, 2003. 2 = Paz-García *et al.*, en revisión.

Marcador molecular	Tamaño del fragmento (Pb)	Secuencia (5' - 3')	$T^{\circ}m$	Modelo*	Referencia
Cloroplasto					
PsbA ^{ncr}	796	GCATGAAAGAAATGCA CACAACCTCCC	55	¹ F81 + G y ² SYM + G	1
Mitocondrial					
ND5-ND1	708	CAGGTAACAAAATTGGAGGT AGAGCCAACACACAATAGAA	54	HKY	2
ND2-ND6	1148	TTGGTTATTTTTCTATTTTGGTT CGCCTCCATATTTTGATACT	54	HKY	2
ND3-tRna-Trp	914	AAGTTATTGCTTATTCGACTTG TTGAAGGCTAACGGTCTACT	54	TPM1uf	2

6.3.6 Visualización de productos de amplificaciones

Los productos de PCR de la región no codificante del minicírculo de cloroplasto PsbA y los de las regiones mitocondriales de *Porites panamensis*, fueron corridos en geles de agarosa al 1% mediante electroforesis en buffer TBE 1X (que contiene Tris, Borato y EDTA), y visualizados con ayuda de redgel sensible a luz UV. Para visualizar las imágenes de los geles se utilizó el programa Quantity One 4.6.5. Para saber si los segmentos eran del peso deseado se utilizó una escalera molecular que presenta bandas cada 100 pares de bases (Invitrogene) y esta fue utilizada como referencia para comparar con las bandas del producto de amplificación.

Finalmente 10 µl del producto de amplificación por PCR, de cada muestra amplificada, fueron enviados a purificar y secuenciar a la empresa Genewiz (<http://www.genewiz.com/>).

6.3.7 Análisis moleculares

Análisis de secuencias:

Luego de obtener los cromatogramas la calidad de las secuencias de ADN, tanto de *Symbiodinium* como de *Porites panamensis*, fue visualizada y editada con el programa CodonCode Aligner (CodonCode Corporation, Dedham, MA, USA, <http://www.codoncode.com>). Posteriormente las secuencias fueron alineadas manualmente utilizando el programa MEGA v.6.06 (Tamura, Peterson, Peterson, Stecher, Masatoshi & Kumar, 2011). Para obtener un mejor resultado en la alineación de las secuencias de PsbA^{ncr} se descargaron 39 secuencias del banco mundial de genes (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank>) de la región PsbA identificadas como simbioses tipo C1 y C3 de distintas especies de corales (Thornhill *et al.*, 2014). Estas fueron utilizadas como referencia para alinear las secuencias obtenidas. Se crearon dos bases de datos; la primera (BD1) en la que se alinearon 39 secuencias, 33 obtenidas en el presente estudio y 6 secuencias de PsbA^{ncr} de *Symbiodinium* obtenidas de tejido del coral *Porites panamensis* descargadas del banco de genes (Thornhill *et al.*, 2014). La segunda base de datos (BD2) incluyó las 33 secuencias de este estudio y 39 secuencias de PsbA^{ncr} (*Symbiodinium*) de distintas especies de corales del Indo-Pacífico y Caribe (Thornhill *et al.*, 2014), siendo un total de 72 secuencias alineadas. La información complementaria, como clave de acceso en el banco mundial de genes, especie de coral y localidad de recolecta, de estas secuencias se encuentra en la tabla 1 y 2 en anexos, de BD1 y BD2 respectivamente. Las secuencias obtenidas de cada región mitocondrial de *P. panamensis* fueron alineadas por separado y luego concatenadas utilizando el programa Mesquite (Maddison & Maddison, 2011).

Análisis filogenéticos

Para describir y obtener la relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (*Symbiodinium*, Clado C) presentes en *Porites panamensis*, se analizaron las secuencias con el marcador de cloroplasto PsbA^{ncr}. Se realizaron reconstrucciones filogenéticas con las secuencias obtenidas en el presente estudio y con las secuencias descargadas del banco de genes del estudio realizado por Thornhill y colaboradores (2014). Para determinar la congruencia genética de *Porites panamensis* con sus simbioses (*Symbiodinium*) se analizaron las secuencias obtenidas de las tres regiones mitocondriales (ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp) y se realizaron reconstrucciones filogenéticas individuales y una concatenada.

Modelo evolutivo:

Se utilizó el programa jModeltest (Darriba, Taboada, Doallo & Posada, 2012) para determinar el mejor modelo de evolución nucleotídica para las secuencias obtenidas del marcador PsbA^{ncr} y las tres regiones mitocondriales, ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp. El criterio de Akaike fue seguido para seleccionar el modelo evolutivo para todos los grupos de secuencias analizadas. Los modelos evolutivos se observan en la tabla II.

Reconstrucción filogenética:

Se utilizaron tres tipos de reconstrucciones filogenéticas para comparar los resultados obtenidos y soportar las relaciones evolutivas; utilizando el método de análisis de distancias (algorítmico): 1) vecino más cercano (Neighbor-joining); y con el método búsqueda del mejor árbol: 2) inferencia bayesiana y 3) máxima verosimilitud (Baldauf, 2013). Para la BD1 se utilizó como grupo externo para las reconstrucciones filogenéticas, una secuencia de PsbA^{ncr} (*Symbiodinium*) de *Porites lobata* recolectado en la Isla Revillagigedo. Para la BD2 el grupo externo utilizado, fue la secuencia de PsbA^{ncr}, perteneciente al clado C3 encontrado en el coral *Acropora microclados* (Thornhill *et al.*, 2014). Para la reconstrucción de *Porites panamensis*, *Porites sverdrupi* y *Porites lobata*, se utilizaron tres regiones mitocondriales (tabla II) para un análisis filogenético concatenado,

este análisis fue realizado por inferencia bayesiana y máxima verosimilitud, se utilizó como grupo externo *Porites lobata* recolectado en Clipperton. También se realizó la reconstrucción filogenética de *Porites panamensis* con cada región mitocondrial por separado, estos árboles se observan en anexos IV, V y VI. Todos los árboles obtenidos se visualizaron mediante el programa FigTree v.1.4.0 (Rambaut, 2012).

Reconstrucción mediante análisis de distancias:

El método del vecino más cercano (Neighbor-joining) reconstruye el árbol filogenético basándose en la distancia evolutiva, medida como la diferencia entre secuencias. Esta diferencia es calculada para todas las combinaciones pareadas de unidades taxonómicas operacionales (OTU por sus siglas en inglés) (Baldaut, 2003). Este análisis se realizó en el programa MEGA v.6.0.6 (Tamura *et al.*, 2011), en el cual se evaluó el mejor soporte de la reconstrucción con 10,000 réplicas de bootstrap y una distribución gamma.

Reconstrucción mediante búsqueda de mejor árbol

La reconstrucción filogenética con inferencias bayesianas y de máxima verosimilitud fue realizada mediante el servidor de CIPRES, www.phylo.org/portal2/login/input.action (Miller, Pfeiffer & Schwartz, 2010). Se utilizó el programa Mr. Bayes v.3.2.6 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001), para la reconstrucción por inferencia bayesiana. El programa se corrió según los siguientes parámetros: dos corridas independientes de seis cadenas con 30,000, 000 generaciones y una frecuencia de muestreo de 1,000 generaciones. El 50% de los arboles iniciales fue descartado (fase pre-calentamiento- *burn-in*), el resto fue utilizado para la reconstrucción filogenética del árbol consenso.

Para la reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud, se utilizó el programa GARLI v.2.0.1 (Zwickl, 2006). Se realizaron ocho corridas independientes para encontrar la mejor reconstrucción, el valor -ln (de verosimilitud) fue utilizado para encontrar el mejor árbol de las ocho corridas. Se evaluó el soporte de la mejor reconstrucción mediante 1,000 réplicas de bootstrap y se calcularon los valores mediante la rutina de SumTrees como implemento de DendroPy v.4.0.2 (Sukumaran & Holder, 2010). Se utilizó como topología

base, la generada por inferencia bayesiana para representar las relaciones evolutivas en todas las reconstrucciones.

6.3.8 Análisis de diversidad genética

Para describir la variación genética de los endosimbiontes (*Symbiodinium*, Clado C) presentes en *Porites panamensis* se identificaron los haplotipos individuales del endosimbionte (marcador PsbA^{ncr}) y de los corales *P. panamensis*, *P. sverdrupi* y *P. lobata*. Para esto se utilizó el programa DnaSP v.5.10.1 (Librado & Rozas, 2009). Con los haplotipos individuales identificados, se realizó una red de haplotipos mediante el método de *Median Joining* (MJ), en el programa Network 4.6. Además, para los grupos filogenéticos identificados en la reconstrucción filogenética, se realizaron estimaciones de número de haplotipos (H), número de sitios polimórficos (S), diversidad haplotípica (hd) y diversidad nucleotídica (π). Se calculó la desviación estándar de hd y π .

6.3.9 Congruencia genética y geográfica

Para determinar si existe una congruencia genética y geográfica entre los endosimbiontes (*Symbiodinium*, Clado C) del coral *Porites panamensis*, se utilizaron los datos de la reconstrucción filogenética y la red de haplotipos para crear un mapa con la distribución geográfica de los grupos filogenéticos obtenidos de *Symbiodinium*. Además se comparó la reconstrucción filogenética de *Symbiodinium* vs. *Porites panamensis*, así como también se realizaron comparaciones de la diversidad genética.

7. RESULTADOS

7.1 Análisis moleculares

Con la finalidad de responder a los objetivos planteados en este estudio, se realizaron análisis filogenéticos (sección 7.2, 7.3 y 7.4) y se estimó la diversidad genética en base a los grupos filogenéticos identificados (sección 7.5). Finalmente se realizó un mapa con la distribución geográfica de los grupos filogenéticos encontrados (sección 7.6). Para esto, se obtuvo un total de 33 secuencias de la región PsbA^{ncr} de los simbiositos (*Symbiodinium*) en el coral *Porites panamensis*. La región PsbA^{ncr} consistió en 720 pares de bases. Una de las muestras presentó doble llamado, es decir era una secuencia polimórfica por lo que se nombró “a” y “b” (ver tabla 1, anexos). Para las regiones mitocondriales ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp, se obtuvieron 20, 12 y 14 secuencias, respectivamente; de las cuales se utilizaron 12 de cada región para el análisis concatenado con un total de 2,134 pares de bases (ver tabla 3, anexos).

7.2 Relaciones filogenéticas de *Symbiodinium*

Los métodos de inferencia bayesiana, máxima verosimilitud y vecino más cercano presentaron la misma topología en la mayoría de las relaciones evolutivas. El árbol consenso (Figura 7) muestra las relaciones evolutivas entre *Symbiodinium* en el coral *Porites panamensis* y *Symbiodinium* presente en otras especies de coral del Indo-Pacífico y Caribe (ver tabla 2, anexos). En esta reconstrucción filogenética se observan cuatro linajes filogenéticos (de aquí en adelante referidos como Linaje 1, 2, 3 y 4) con un soporte de bootstrap mayor al 85% (ver figura 7).

El Linaje 1 está conformado por *Symbiodinium* de tipo C1 (ITS-DGGE, Thornhill *et al.*, 2014) y sus variantes (C1bf, C1aj, C1v) encontrados en corales del Pacífico Oriental, Pacífico Central, Indo-Pacífico y Caribe. Dentro de este linaje se encuentran la mayoría de

las muestras del presente estudio pertenecientes a *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical. El Linaje 2, está conformado por *Symbiodinium* de *P. panamensis* recolectado en Loreto y Portugués y de *Porites sverdrupi* recolectado en Bahía Concepción. Este linaje conforma el grupo hermano del Linaje 1. También se obtuvo que, *Symbiodinium* encontrado de *Porites lobata* en Isla Revillagigedos (PIR20, ver figura 7) se encuentra relacionado con el Linaje 1 y 2.

El Linaje 3 está conformado por *Symbiodinium* encontrado en el coral *P. sverdrupi* recolectado en La Paz, mientras que el Linaje 4 está conformado por *Symbiodinium* de *P. panamensis* recolectado en Bahía de los Ángeles. El Linaje 3 comparte un ancestro en común con el Linaje 1, Linaje 2 y PIR20; mientras que el Linaje 4, comparte un ancestro en común con *Symbiodinium* tipo C31 y C27 (nombrado a partir de ITS-DGGE).

Además, dentro del Linaje 1 se diferenciaron 5 grupos de *Symbiodinium* conformados por secuencias obtenidas en el presente estudio. Aunque en este linaje también se diferencian otros grupos, C1aj y C1bf, a los cuales se encuentran cercanamente emparentados *Symbiodinium* de Costa Rica, CR31 y CR13 respectivamente, con un soporte de bootstrap mayor a 45% con las reconstrucciones de búsqueda de mejor árbol.

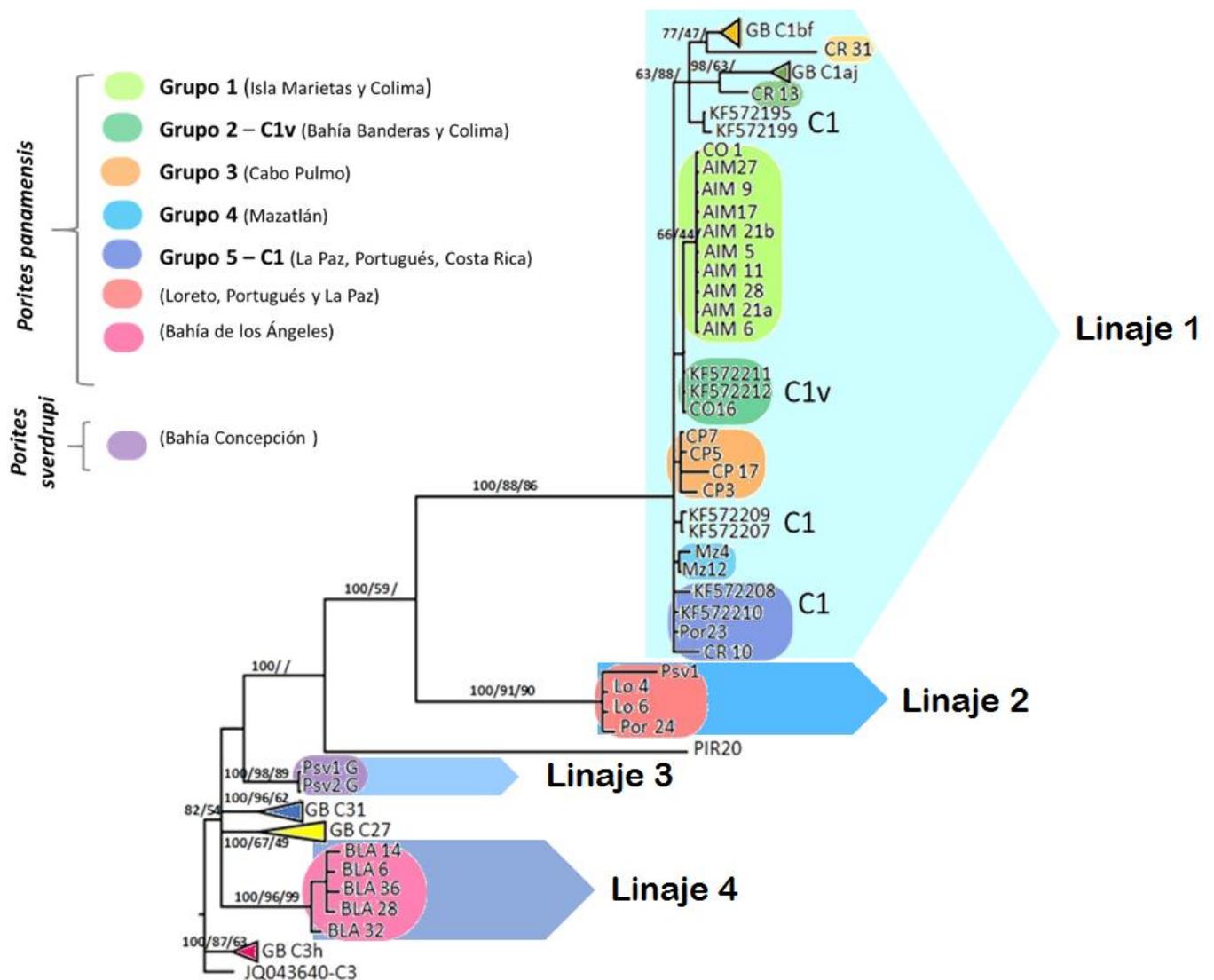


Figura 7. Reconstrucción filogenética de *Symbiodinium* de *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical y distintas especies de coral del Pacífico Central, Indo-Pacífico y Caribe utilizando la región no codificante del minicírculo PsbA de cloroplasto (PsbA^{ncr}). Las etiquetas de las ramas son las claves de recolecta de las muestras (ver anexos, tabla 2-BD2), y claves de acceso al banco de genes; las nombradas como GB (GenBank) seguidas de un código (ITS-DGGE) (Thornhill *et al.*, 2014). Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*), mediante máxima verosimilitud (GARLI) y vecino más cercano (MEGA) respectivamente.

7.3 Relaciones filogenéticas de *Symbiodinium* en *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical

Los métodos de inferencia bayesiana, máxima verosimilitud y vecino más cercano presentaron la misma topología en la mayoría de las relaciones evolutivas. La reconstrucción filogenética de la región PsbA^{ncr} de *Symbiodinium* en el coral *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical (Figura 8), soporta la existencia de cuatro linajes distintos y revela la existencia de seis grupos filogenéticos, con buen soporte estadístico (>bootstrap 55%).

El Linaje 1 es el que contiene más grupos filogenéticos en este caso 6. Todos los grupos comprendidos dentro de este linaje muestran una correspondencia con los grupos obtenidos en el Linaje 1 de la figura 7, a excepción del grupo 6. Los seis grupos dentro del Linaje 1 están conformados de la siguiente manera:

Grupo 1: muestras recolectadas en Isla Marietas y una en Colima; grupo 2 muestra de colima y dos obtenidas del banco de genes correspondientes al tipo C1v (ITS-DGGE) recolectadas en Bahía Banderas; el grupo 3, conformado por muestras recolectadas en Mazatlán; grupo 4 muestras de Cabo Pulmo; grupo 5 una muestra de Portugués y otras cuatro muestras recolectadas en La Paz con *Symbiodinium* tipo C1 (ITS-DGGE); y finalmente el grupo 6 conformado por muestras de Costa Rica y una de Portugués, este grupo es heterogéneo, ya que la muestra Por24 es la más cercana genéticamente a CR31 pero se necesitan más muestras relacionadas a Por24 para resolver mejor la relación.

El Linaje 2 está conformado por *Symbiodinium* de Loreto. El Linaje 3 por *Symbiodinium* encontrado en *Porites sverdrupi* recolectado en La Paz y Bahía Concepción y finalmente el Linaje 4 conformado por *Symbiodinium* de Bahía de Los Ángeles. También se puede mencionar que los grupos Linajes 3 y 4 son los endosimbiontes más ancestrales, pertenecientes a *Porites panamensis* y *Porites sverdrupi* del norte del Golfo de California.

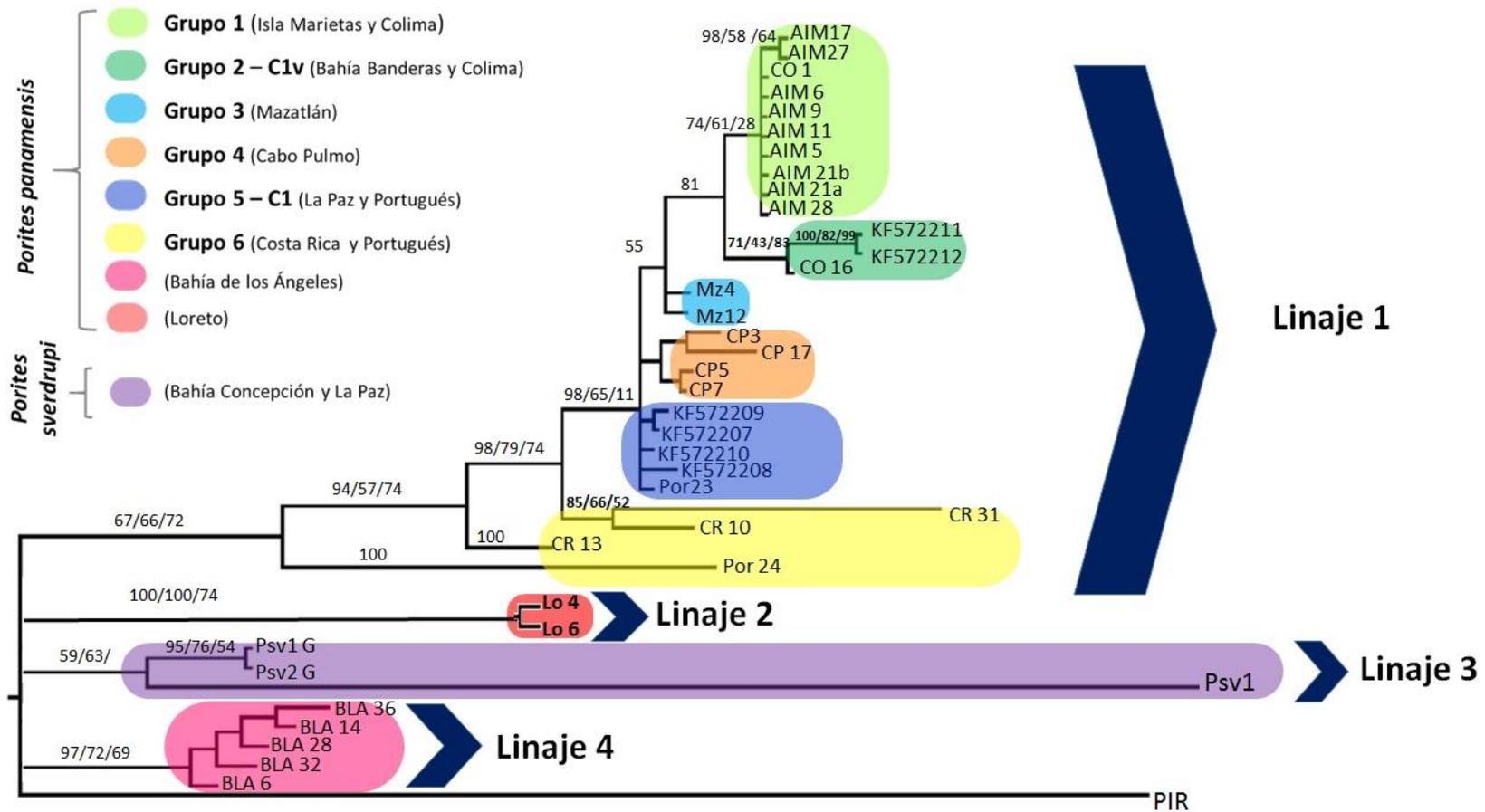


Figura 8. Reconstrucción filogenética de los dinoflagelados simbióticos del género *Symbiodinium* en *Porites panamensis* utilizando la región no codificante del minicírculo PsaA de cloroplasto (PsaA^{ncr}). Las etiquetas de las ramas son las claves de recolecta de las muestras (ver anexo I, BD1), excepto las claves del grupo 2 y 5, que son los números de acceso al banco de genes (Thornhill *et al.*, 2014). Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*), mediante máxima verosimilitud (GARLI) y vecino más cercano (MEGA) respectivamente.

7.4 Relaciones filogenéticas de *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical

Los métodos de inferencia bayesiana y máxima verosimilitud presentaron en la mayoría de las relaciones evolutivas, la misma topología con soporte estadístico mayor 90% (soporte de bootstrap). La reconstrucción filogenética de tres regiones mitocondriales concatenadas, de los corales *Porites panamensis*, *Porites sverdrupi* y *Porites lobata* del Pacífico Oriental Tropical (Figura 9), muestra a *Porites sverdrupi* como un grupo genético bien definido. Mientras que las relaciones evolutivas de *Porites panamensis* se resuelven en tres grupos genéticos distintos; *Porites panamensis* “a” que comparte un ancestro en común con *P. sverdrupi*, *P. panamensis* “forma plato” que se encuentra más cercanamente emparentado con *P. panamensis* “b”. Se obtuvo que estos grupos genéticos corresponden a distintas localidades de recolecta de las muestras en el Pacífico Oriental Tropical. *P. panamensis* “a” se encuentra en Cabo Pulmo e Islas Marietas, mientras que *P. panamensis* “forma plato” se encuentra exclusivamente en Bahía de los Ángeles y *P. panamensis* “b” en Costa Rica. Por otro lado el coral *Porites lobata* como grupo externo conforma un grupo filogenético bien definido.

Algunas de las muestras de coral utilizadas para esta reconstrucción filogenética, son las mismas que las utilizadas para la reconstrucción filogenética de *Symbiodinium* por lo que fue posible saber a qué linaje filogenético pertenecen los endosimbiontes de los corales del presente análisis. El coral *P. sverdrupi* posee dos linajes de *Symbiodinium*, el linaje 1 y el linaje 4; mientras que *P. panamensis* “a” posee solamente el linaje 1 y dos grupos genéticos distintos dentro de este linaje. Por otro lado, *P. panamensis* forma plato posee linaje 2 y *P. panamensis* “b” posee el grupo genético 6 contenido dentro del linaje 1 (figura 9).

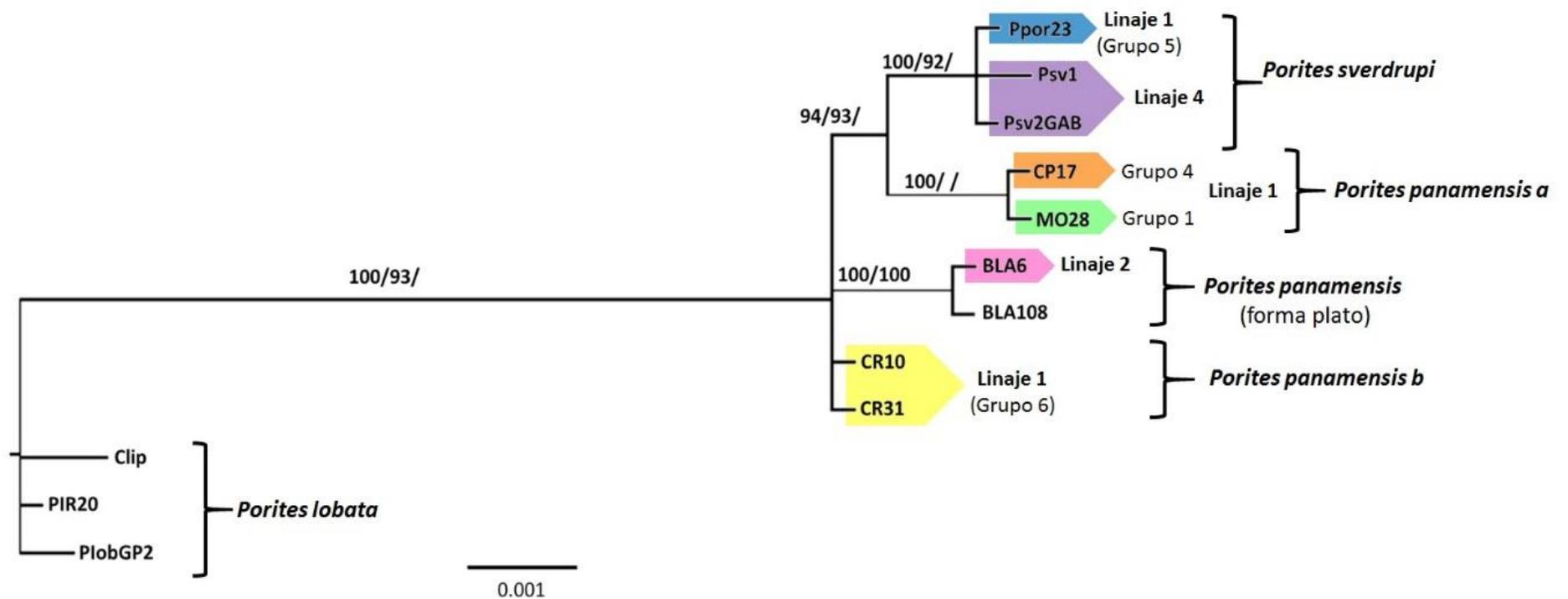


Figura 9. Reconstrucción filogenética concatenada de los corales *Porites panamensis*, *Porites sverdrupi* y *Porites lobata* a partir de tres regiones mitocondriales: ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp. Las etiquetas de las ramas son las claves de recolecta de las muestras (ver anexo III). Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*) y mediante máxima verosimilitud (GARLI), respectivamente.

7.5 Diversidad genética

La diversidad haplotípica fue mayor en Linaje 4 y 3 que corresponden a *Symbiodinium* de Bahía de los Ángeles de *P. panamensis* y *P. sverdrupi*, respectivamente (ver figura 10a). En general, todos los linajes genéticos presentaron una diversidad haplotípica alta con valores mayores a 0.5, excepto los Linajes 1 y 2 de *Symbiodinium* en *Porites panamensis*. La mayor diversidad nucleotídica y mayor cantidad de sitios polimórficos la presentan los Linajes 1 y 3. Mientras que el Linaje 2 no presenta ningún sitio polimórfico, por esto los valores de cero en la diversidad haplotípica y nucleotídica dentro del mismo. En general, la mayoría de haplotipos son exclusivos para cada linaje filogenético (Tabla III), a excepción del Linaje 1 que presenta haplotipos compartidos. En este análisis los haplotipos suman un total de 16 haplotipos repartidos en los cuatro linajes filogenéticos.

En lo que respecta a la diversidad haplotípica de *Porites sverdrupi*, *P. lobata* y *P. panamensis*, todos presentan valores altos (ver figura 10b). La mayor diversidad nucleotídica la posee *P. panamensis* (ver Tabla III y figura 10b). En este análisis se incluye dentro de *P. panamensis* a los tres grupos genéticos identificados en la reconstrucción filogenética concatenada como “a”, “forma plato” y “b”.

Tabla III. Diversidad genética de *Symbiodinium* en *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical y diversidad genética de los hospederos *Porites sverdrupi*, *P. lobata* y *P. panamensis*. n = número de secuencias, H = número de haplotipos, S = número de sitios polimórficos, Hd = diversidad haplotípica, π = diversidad nucleotídica. Se resaltan en negrita los valores más altos de Hd y π .

Grupos filogenéticos	n	H	S	Hd \pm SD	π \pm SD
<i>Symbiodinium</i>	PsbA ^{ncr}				
1	28	8	27	0.495 \pm 0.115	0.0342 \pm 0.03567
2	2	1	0	0	0
3	3	2	33	0.667 \pm 0.314	0.14765 \pm 0.0696
4	5	5	5	1 \pm 0.126	0.0098 \pm 0.00218
<i>P.sverdrupi</i>	3	2	1	0.667 \pm 0.314	0.00034 \pm 0.0016
<i>P.lobata</i>	3	3	3	1 \pm 0.272	0.00094 \pm 0.00033
<i>P. panamensis</i>	6	3	7	0.8 \pm 0.122	0.00196 \pm 0.00041

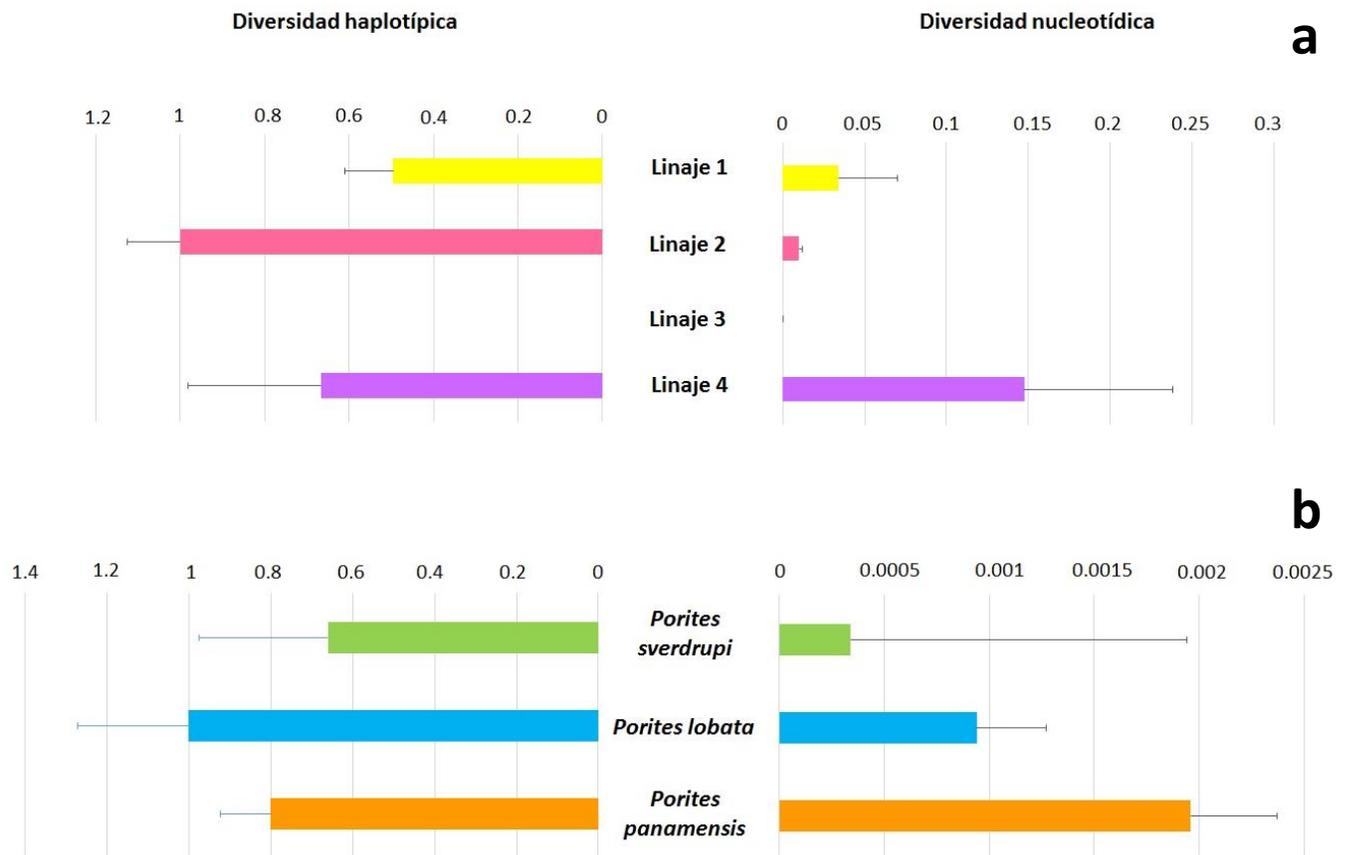


Figura 10. Comparación de la diversidad haplotípica y nucleotídica a) con el marcador $PsbA^{ncf}$ de *Symbiodinium* en *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical b) con tres regiones mitocondriales concatenadas para las tres especies de coral del género *Porites* del Pacífico Oriental Tropical.

Al generar los haplotipos sin considerar los “gaps” e incluyendo a sitios invariables, se obtuvo un total de 35 haplotipos. De los cuales cuatro son compartidos: el haplotipo 3 por dos muestras de *Symbiodinium* de *P. panamensis* recolectado en Loreto; el haplotipo 7 lo comparten dos muestras de *Symbiodinium* de *P. sverdrupi* recolectado en Bahía Concepción; el haplotipo 10 lo comparten dos muestras de *Symbiodinium* de Bahía Banderas y el haplotipo 30 presente en tres muestras de Islas Marietas. Por lo que 31 haplotipos son exclusivos. La red de haplotipos generada a partir de estos datos muestra la gran diversidad de *Symbiodinium* en cada localidad de muestreo (Figura 11b).

7.5 Grupos filogenéticos de *Symbiodinium* en *Porites panamensis* y su distribución en el Pacífico Oriental Tropical

Los grupos filogenéticos identificados presentan una correspondencia geográfica. Se obtuvo que los haplotipos que poseen menor divergencia, pertenecen a un mismo sitio o están distribuidos cercanamente uno del otro en el espacio geográfico (figura 11a). Con excepción del grupo 6, que se distribuye en Costa Rica y en el sur del golfo de California (Ppor24); y el grupo 9 (*Symbiodinium* de *P. sverdrupi*) que se distribuye en el centro y sur del Golfo de California. Se observa que la región geográfica con mayor diversidad genética es el Sur del Golfo de California, donde se encontraron tres grupos filogenéticos con 7 haplotipos (figura 11a). La muestra de *Symbiodinium* de *Porites lobata* en Isla Revillagigedo (PIR), permanece aislado del resto de haplotipos por ser genéticamente muy distinto y recolectado en una región geográficamente distante. Además que pertenece a una especie de coral distinta de *P. panamensis*.

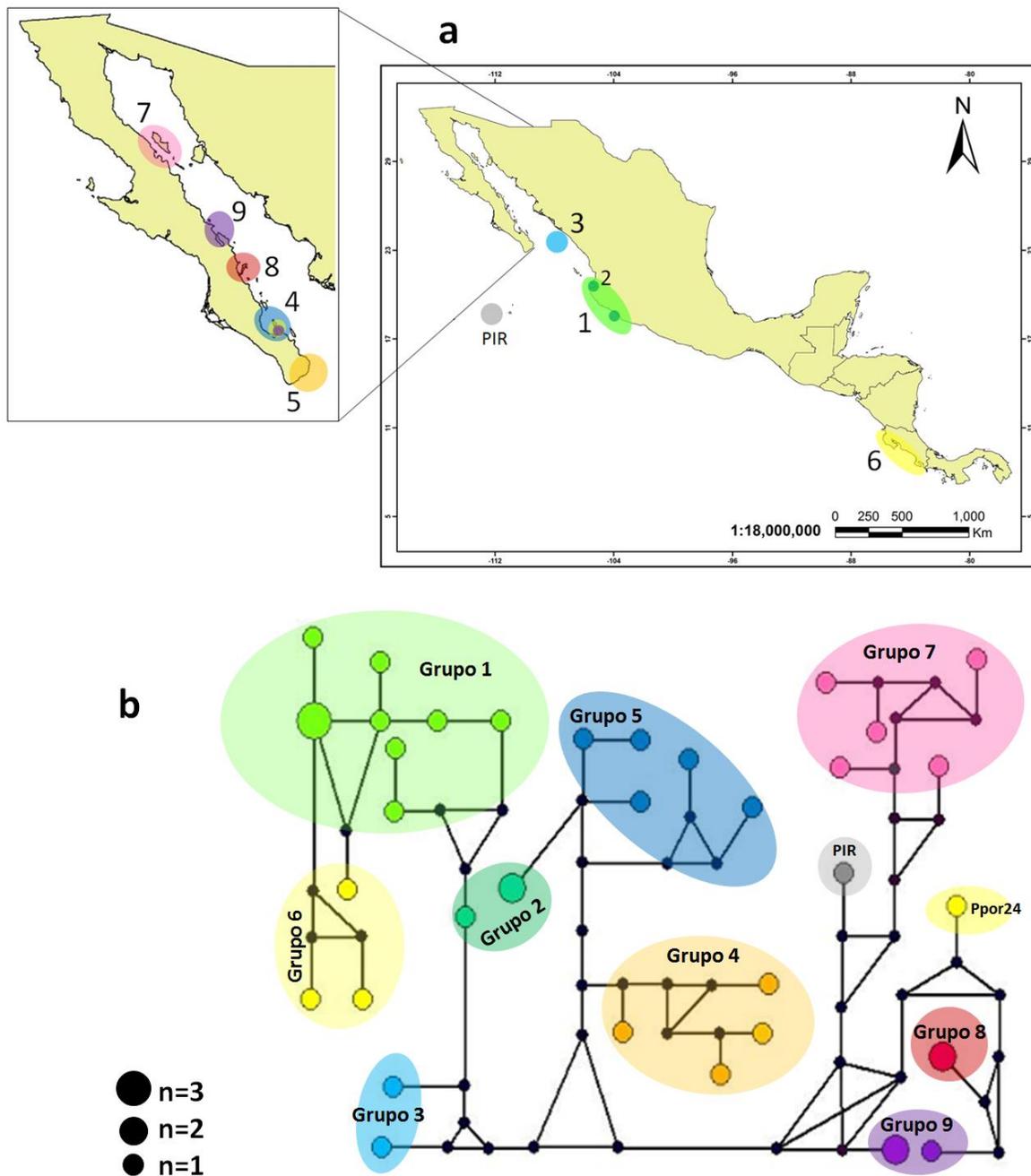


Figura 11. a) Área de distribución de los 9 grupos filogenéticos encontrados. b) Red de haplotipos generada con el método de *Median-Joining* (MJ). Los colores de los haplotipos corresponden a los 9 grupos filogenéticos (figura 8) representados en el mapa.

8. DISCUSIÓN

Uno de los fundamentos esenciales para la conservación y el uso sostenible de la biodiversidad, ha sido la sistemática que a su vez engloba la filogenética, y ha permitido inventariar las especies que hay en el planeta Tierra, entender sus relaciones y luego utilizar esta información para crear sistemas de información predictivos que permitan proponer estrategias de conservación para la biodiversidad (Cracraft, 2002). En el presente estudio se aporta información sobre la diversidad genética y relaciones filogenéticas existentes entre los endosimbiontes (*Symbiodinium*) del coral *Porites panamensis* a lo largo del Pacífico Oriental Tropical. Para abordar el primer objetivo del estudio, se discuten las relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (*Symbiodinium*) del coral *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical con respecto a los simbiositos que se distribuyen en el Indo-Pacífico y Caribe (sección 8.1). Para el segundo objetivo se discuten las relaciones filogenéticas y la diversidad genética existente entre *Symbiodinium* del coral *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical (sección 8.2 y 8.3). Se discute para el tercer objetivo planteado, la distribución geográfica de los linajes filogenéticos encontrados y su relación con las condiciones ambientales presentes a lo largo del Pacífico Oriental Tropical (sección 8.4).

8.1 Relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (*Symbiodinium*)

En el presente estudio se identificaron cuatro linajes filogenéticos (figura 7) dentro del clado C, relacionados con los simbiositos tipo C1 (ITS2-DGGE) y sus variantes identificados previamente (Thornhill *et al.*, 2014).

En esta reconstrucción filogenética (figura 7) se encontró que la mayoría de los simbiositos de *Porites panamensis* se encuentran dentro del Linaje 1, muy cercanamente emparentados con *Symbiodinium* tipo C1v y C1 reportados previamente. Por otro lado, también están relacionados con *Symbiodinium* tipo C1bf encontrado previamente en Hawái y Pacífico Oriental tropical en corales del género *Fungia* y *Psammocora* (tabla 2, anexos). Además, *Symbiodinium* del Linaje 1 también se relaciona con *Symbiodinium* del Caribe (C1aj) y Australia. Las relaciones filogenéticas encontradas dentro del Linaje 1 concuerdan

con estudios previos (Thornhill *et al.*, 2014), lo cual indica que el tipo C1 es generalista o ancestral en estas regiones.

El Linaje 1 comprende *Symbiodinium* C1 y distintas variantes, los cuales a pesar de pertenecer a distintas regiones del Pacífico y Caribe están cercanamente emparentados entre ellos y comprenden un grupo monofilético. Cabe resaltar que los simbioses encontrados en una muestra *P. panamensis* de Costa Rica, están más cercanamente emparentados con *Symbiodinium* de tipo C1aj de *Porites asteroides* del Caribe (ITS2-DGGE, Thornhill *et al.*, 2014) que con el resto de simbioses del Pacífico. Esto podría ser explicado bajo el contexto del origen de las especies del género de *Porites*, existe evidencia que soporta que las especies de este género en el Pacífico se originaron en el Caribe (López-Pérez, 2012; Reyes-Bonilla, 1992). Por lo tanto, debido a la estrecha relación simbiótica de los corales pétreos, en este caso del género *Porites*, con *Symbiodinium* es posible que simbioses del Caribe y del Pacífico compartan un ancestro en común y luego se hayan diversificado independientemente.

El Linaje 2, conformado por *Symbiodinium* de los corales *P. panamensis* y *P. sverdrupi* del Golfo de California representa el grupo hermano del Linaje 1 (distribuido en la boca del Golfo de California), sin embargo el Linaje 2 podría ser exclusivo del centro del Golfo de California. Por otro lado el Linaje 3, está conformado únicamente por *Symbiodinium* presente en *P. sverdrupi*, al igual que la muestra PIR20 perteneciente a *P. lobata* de la Isla Revillagigedo, podrían constituir linajes exclusivos de las especies de coral en las que fueron encontrados. Esto se explica, debido a que algunos hospederos pueden asociarse con una variedad de simbioses lejanamente emparentados, tal sería en caso de *P. panamensis* si comparamos la relación del Linaje 1 con el Linaje 4, mientras que otros corales se restringen a un único tipo, los Linajes 2 y 3, o a un grupo de simbioses cercanamente emparentados, el caso del Linaje 1 (Baker, 2003).

El Linaje 4 está conformado por *Symbiodinium* de *P. panamensis* exclusivo de la localidad Bahía de los Ángeles al norte del Golfo de California. En esta reconstrucción filogenética (figura 7), esta cercanamente emparentado con *Symbiodinium* tipo C31 y C27 del Indo-Pacífico sin embargo es muy divergente del resto de linajes y claramente es exclusivo de la localidad en la que fue recolectado, lo que nos brinda soporte para decir que

los simbioses de este lugar evolucionaron aislados del resto, posiblemente influenciados por las características ambientales particulares del norte del Golfo de California (Halfar *et al.*, 2005; Manzello *et al.*, 2008). Por otro lado, el Linaje 4 sería el más ancestral y el Linaje 1 el que surgió y se diversificó más recientemente en la escala relativa del tiempo.

Esta reconstrucción filogenética (figura 7) define un panorama general de las relaciones evolutivas de *Symbiodinium* en *Porites panamensis* del Pacífico Oriental Tropical con respecto a *Symbiodinium* del Indo-Pacífico, Hawaii y Caribe (Thornhill *et al.*, 2014). Cabe recordar que las reconstrucciones filogenéticas nos muestran la historia de divergencia y cambio evolutivo desde un solo ancestro hasta sus descendientes, pero no dejan de ser hipótesis basadas en una serie de datos particulares (Herron & Freeman, 2014, p.113), en este caso secuencias de la región no codificante de PsbA^{ncr} en *Symbiodinium* de distintas especies de corales (tabla 2, anexos).

8.2 Relaciones filogenéticas de los endosimbiontes (*Symbiodinium*) de *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical

Al examinar las relaciones filogenéticas exclusivamente de *Symbiodinium* de *Porites panamensis* (figura 8), se identificaron cuatro linajes en el Pacífico Oriental Tropical relacionados con C1 y posiblemente con C3 (ITS-DGGE). Se cree que estos son especializados por ser exclusivos de ciertas regiones (figura 11a). Aunque han demostrado que *Symbiodinium* tipo C1 y C3 (ITS-DGGE) son generalistas en su hospedero (Wicks *et al.*, 2010), también hay estudios que soportan la existencia de varios linajes especializados (Santos *et al.*, 2004; Finney *et al.*, 2010; Thornhill, 2014).

El Linaje 1 se subdivide en seis grupos filogenéticos, conformados por simbioses de distintas localidades los grupos 2 y 5 fueron nombrados previamente como C1v y C1 (ITS-DGGE) (Thornhill *et al.*, 2014), respectivamente. Por lo tanto es posible decir que cada grupo filogenético representa un tipo de simbiote distinto, ya que aunque para los grupos 1, 3, 4 y 6 no se conoce la identidad del simbiote que poseen mediante ITS-DGGE, estos forman clados bien definidos que corresponderían a un simbiote distinto dentro del

clado C. En el caso del grupo 6 es posible que posea más de un simbiote, los de Costa Rica y el de Portugués, es necesario aumentar el número de muestras para definir mejor las relaciones filogenéticas del grupo 6. Es posible que estos grupos hayan evolucionado más recientemente que los simbioses de los Linajes 2-4. Una reconstrucción filogenética concatenada basada en seis genes de tres organelos (núcleo, mitocondria y cloroplasto), apoya la hipótesis que *Symbiodinium* tipo C se diversificó más recientemente que otros clados de *Symbiodinium* (Pochon, Putnam & Gates, 2014).

En general, se obtuvo que los endosimbioses poseen una asociación geográfica. Por ejemplo los simbioses recolectados en Bahía de Los Ángeles conforman un solo linaje; los recolectados en Mazatlán, Cabo Pulmo y Loreto conforman un solo grupo o linaje filogenético, grupo 3, 4 y Linaje 2 respectivamente. A excepción del grupo 1, en el que se encuentra un endosimbiote de un coral recolectado en Colima pero el resto que lo conforman son de Islas Marietas; grupo 5 con uno perteneciente a Portugués mientras que el resto pertenecen a La Paz; grupo 6 en el cual *Symbiodinium* de Portugués se agrupa con los de Costa Rica. Por otro lado los Linajes 2-4 son exclusivos de ciertas localidades y en el caso del Linaje 4 exclusivo de *P. sverdrupi*. Se ha demostrado que algunos genes presentes en *Symbiodinium* poseen altas tasas evolutivas y esto se traduce en rareza y adaptación a hábitats marginales (Pochon *et al*, 2014). El norte del Golfo de California representa un hábitat marginal para *Porites panamensis*, y en efecto los simbioses se ven obligados a adaptarse a las condiciones ambientales específicas a las que están expuestos. Por lo que se aíslan en poblaciones distintas (representadas en este caso por las localidades de recolecta), divergen y evolucionan por separado conformando así linajes filogenéticos distintos (Linajes 2 y 3, figura 8) en cada región del Pacífico Oriental Tropical.

Otra posible razón por la cual se encontraron cuatro linajes filogenéticos y en el caso del Linaje 1 dividido en 6 grupos genéticos (figura 8), es que los linajes de *Symbiodinium* que pasan gran parte de su ciclo de vida en un hospedero, tienden a desarrollar cierta dependencia al hospedero, esto puede propiciar altas tasas de cambio dado la reducción del genoma en comparación con simbioses de vida libre y la alta deriva génica asociadas a la ausencia de selección purificadora a través de la recombinación sexual (Pochon *et al*, 2014).

Al analizar la reconstrucción filogenética de *Porites panamensis*, *P.sverdrupi* y *P.lobata* (figura 9), se denota que *Porites panamensis* se separa en tres grupos genéticos distintos (“a”, “forma plato” y “b”) los cuales están bien definidos y cada uno está conformado por corales recolectados en una misma región; estudios previos sobre estructura genética de *P. panamensis* también han demostrado diferenciación genética en sus poblaciones según la localidad de recolecta (Paz-García *et al.*, 2008a, 2008c; Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013).

Si comparamos la reconstrucción filogenética de *P. panamensis* con la reconstrucción filogenética de *Symbiodinium*, notamos que hay cierto grado de congruencia en estas dos reconstrucciones; cada grupo filogenético corresponde a una región distinta del Pacífico Oriental Tropical. Esto soporta una asociación simbiote-hospedero, lo que lleva a proponer la hipótesis de coevolución entre *P. panamensis* y sus endosimbiontes (*Symbiodinium*).

El término coevolución se aplica a historias de diversificación paralela entre organismos, reveladas por concordancia entre filogenias (Futuyma, 2005). Existen estudios a fina escala de sub-clados de *Symbiodinium* y especies de coral, que han demostrado que existe congruencia filogenética entre corales y sus endosimbiontes, a nivel de familia como ejemplo el tipo C17 de *Symbiodinium* solo con la familia de corales Poritidae y C3 con Acroporidae, Favidae y Pocilloporidae (Stat *et al.*, 2006, p.32) y a nivel de género como ejemplo el Clado B con el género de coral *Madracis* (Diekmann, Olsen, Stam & Bak, 2003).

La diversificación recíproca es debido a la coevolución y se ha propuesto como una explicación de la existencia de un gran número de simbioses especialistas en hospederos con transmisión vertical de endosimbiontes (LaJeunesse *et al.*, 2004b; LaJeunesse, 2005) como en *Porites panamensis*. Es necesario corroborar esta hipótesis mediante la utilización de un mayor número de muestras.

8.3 Diversidad genética del Hospedero (*Porites panamensis*) y sus endosimbiontes (*Symbiodinium*)

Se encontró alta diversidad genética de *Symbiodinium* con un total de 39 secuencias de PsbA^{ncr}, de las cuales 35 corresponden a haplotipos diferentes, equivalente a 89.74 % del total de las muestras (figura 11b) en el Pacífico Oriental Tropical. Esto fue comparable al estudio dentro del grupo C1 (ITS-DGGE) en el que se encontraron 65 haplotipos equivalente a 94% en 69 secuencias analizadas en el Indo-Pacífico y Caribe (Thornhill, 2014). *Porites panamensis* presentó todas estas variantes genéticas de *Symbiodinium*, mientras que el estudio de Thornhill y colaboradores (2014) analizan *Symbiodinium* en alrededor de 70 especies de hospederos en el Caribe. Existen otros estudios en diferentes regiones del mundo [Indo-Pacífico (Loh, Carter & Hoegh-Guldberg, 2001), Taiwan (Chen, Yang, Wei, Tsai & Fang, 2005), Korea (De Palmas *et al.*, 2015), Hawaii (LaJeunesse *et al.*, 2004a), Australia y Caribe (Thornhill *et al.*, 2014)] sobre diversidad genética de *Symbiodinium*. La mayoría de estos estudios han utilizado por lo menos 3 especies de hospederos. Este estudio muestra que *P. panamensis* posee una alta diversidad genética en *Symbiodinium* no reportada antes en corales escleractinios.

Por otro lado, se ha demostrado que las comunidades de *Symbiodinium* en altas latitudes muestran un pequeño traslape y alta diversidad comparada con comunidades tropicales (Wicks *et al.*, 2010). En el caso de las muestras recolectadas en este estudio, algunas se encuentran en altas latitudes, como en el Golfo de California (regiones subtropicales). Si comparamos estudios puntuales que han sido realizados en regiones subtropicales o de altas latitudes con condiciones ambientales similares a las del Pacífico Oriental Tropical en las que hay oscilaciones temporales de temperatura y luz, la diversidad genética de *Symbiodinium* encontrada en *P. panamensis* sigue siendo alta. Un estudio realizado en la Isla Jeju en Corea del Sur en cinco especies de coral, encontraron solamente 5 clados de *Symbiodinium* (De Palmas *et al.*, 2015), mientras que un estudio realizado en Oaxaca, México encontraron 6 grupos filogenéticos de *Symbiodinium* solo en el coral *P. panamensis* mediante ITS-DGGE (Walther, 2010). Otros estudios realizados en el Pacífico Mexicano, concuerdan con que *Symbiodinium* en *P. panamensis* poseen una alta diversidad genética comparada con otros corales (LaJeunesse *et al.*, 2008; Paz-García *et al.*, 2008b).

En el presente estudio la alta diversidad se refiere principalmente al número de haplotipos encontrados en cada grupo filogenético (tabla III, figura 11b), diversidad nucleotídica y haplotípica (figura 10a) con el marcador PsbA^{ncr} y a los grupos filogenéticos identificados (figura 7 y 8).

El análisis concatenado de tres marcadores mitocondriales en *P. panamensis* muestran que posee una alta diversidad haplotípica y nucleotídica respecto a las otras especies estudiadas (figura 10b). En el caso de *P. panamensis* concuerda con un estudio donde utilizaron marcadores nucleares (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013). Una explicación para esta alta diversidad es la forma de reproducción del coral *P. panamensis*, en la que predomina la forma sexual durante 10 meses al año, con fecundación interna y liberación de larvas plánulas (Mora-Perez, 2005). Lo que limita su dispersión pero favorece el intercambio genético y la recombinación sexual (Medina-Rosas, 2000; Paz-García, 2008c; Chavéz-Romo *et al.*, 2013). Además favorece la diferenciación genética a nivel de regiones o localidades, según lo evidenciado en este estudio (figura 9 y 10) y en otros, en los cuales *P. panamensis* se diferencia por regiones (Paz-García *et al.*, 2008a; Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013).

La forma de reproducción del coral también favorece el aislamiento biogeográfico y divergencia genética de *Symbiodinium* (Loh *et al.*, 2001). Ya que al ser *Symbiodinium* transmitidos de manera vertical en *P. panamensis* (Byler *et al.*, 2013; Stat *et al.*, 2006) se encuentran bajo una alta presión selectiva. Lo que conlleva una adaptación y especialización ecológica de *Symbiodinium* (Douglas, 1998) al ambiente en particular en el que se encuentra el hospedero. Esto sugiere la importancia de la ecología y evolución de *Symbiodinium* (Thornhill *et al.*, 2014).

Por lo tanto *Symbiodinium* varía por regiones o localidades y presenta alta diversidad genética a lo largo del Pacífico Oriental Tropical junto con su hospedero. Aumentando así la posibilidad de formar diversas asociaciones hospedero-simbionte que puedan responder ante las fluctuaciones ambientales.

8.4 Distribución geográfica de los linajes genéticos: hospedero vs. simbiote

La región geográfica que presento más grupos filogenéticos de *Symbiodinium* fue el Golfo de California (figura 11a), mientras que solo un grupo filogenético del hospedero *Porites panamensis* se distribuye en el Golfo. Un estudio de *Porites panamensis* realizado en el Pacífico Mexicano, indica que el Golfo de California es el centro de abundancia de la especie y las poblaciones de corales de esa región poseen alta diversidad genética (Saavedra-Sotelo, *et al.*, 2013) lo que podría propiciar una alta variación filogenética en *Symbiodinium* y explicar el por qué se encuentran tantos grupos filogenéticos distintos en el Golfo de California. Otra explicación pudiera ser que llegaron ahí y después hubo una radiación.

En cuanto al resto del Pacífico Oriental Tropical, cerca de la boca del Golfo se encuentran tres grupos filogenéticos de *Symbiodinium* pertenecientes al Linaje 1 (figura 8 y 11a). Si tomamos en cuenta los seis tipos de *Symbiodinium* reportados en Oaxaca (Walther, 2010), y el grupo filogenético de Costa Rica se evidencia que la región del Pacífico Oriental Tropical posee una gran variación filogenética de *Symbiodinium*, contrario a lo reportado para otras regiones del Indo-Pacífico en las que señalan que la composición de simbioses es homogénea (Chen *et al.*, 2005).

Respecto a la distribución de los linajes de *Porites panamensis* (figura 9) indica la existencia de uno al norte del Golfo de California, uno en la boca del Golfo (Cabo Pulmo e Islas Marietas) y otro en Costa Rica, la distribución geográfica de los primeros dos linajes concuerda con el estudio de Paz-García y colaboradores (2008a) en el que afirma que existe diferenciación genética de *P. panamensis* en tres regiones; el Golfo de California, la Boca del Golfo y el Sur del Pacífico Mexicano. Por tanto lo obtenido en este estudio indica que existe cierto grado de congruencia genética y geográfica entre *P. panamensis* y sus simbioses (*Symbiodinium*) como es el caso de los linajes filogenéticos: Linaje 2 de *Symbiodinium* con el Linaje de *Porites panamensis* “forma plato”; Linaje 1 de *Symbiodinium* con el Linaje de *P. panamensis* “a”; grupo filogenético 6 y el *P. panamensis* “b”.

9. CONCLUSIONES

- La diversidad genética de los simbioses dinoflagelados (*Symbiodinium*) y del coral *Porites panamensis* es alta en el Pacífico Oriental Tropical. Esta diversidad se podría atribuir al gradiente de condiciones ambientales de la región y a la forma de reproducción del coral *P. panamensis*.
- Se identificaron cuatro linajes de *Symbiodinium* en *P. panamensis* y seis grupos genéticos fueron encontrados en el Linaje 1.
- Los Linajes 1 (Golfo de California y Boca del Golfo) y 4 (Loreto) de *Symbiodinium* presentaron la mayor diversidad haplotípica en este estudio.
- La reconstrucción filogenética de tres regiones mitocondriales de *Porites panamensis* reveló la existencia de tres linajes uno en el Norte del Golfo de California, uno en la Boca del Golfo y otro en Costa Rica.
- Se observó congruencia genética y geográfica en los linajes de *Symbiodinium* y *P. panamensis*: Linaje 2 de *Symbiodinium* y *Porites panamensis* “forma plato”; Linaje 1 de *Symbiodinium* y *P. panamensis* “a”; grupo filogenético 6 de *Symbiodinium* y *P. panamensis* “b”.

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda complementar los análisis utilizando marcadores nucleares, mitocondriales y otro marcador de cloroplasto, para soportar mejor la reconstrucción filogenética de *Symbiodinium*.
- Aumentar el número de muestras por localidad analizadas de *Symbiodinium* y el número de muestras de *Porites panamensis*.
- Complementar el presente estudio con recolecta de muestras del Sur del Pacífico Mexicano y Centro América.

11. REFERENCIAS

1. Alvarado, J. & Vargas-Castillo, R. (2012). Invertebrados asociados al coral constructor de arrecifes *Pocillopora damicornis* en Playa Blanca, Bahía Culebra, Costa Rica. *Biología Tropical*, 60: 77–92.
2. Baker, A. (2001). Reef corals bleach to survive change. *Nature* 411: 765–766.
3. Baker, A. (2003). Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of Symbiodinium. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34: 661-689.
4. Baker, A., Starger, C., McClanahan, T. & Glynn, P. (2004). Coral reefs: corals adaptative response to climate change. *Nature* 430 (7001): 741-741.
5. Baker, A., Glynn, P & Riegl, B. (2008). Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future Outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science* 80 (4): 435-471.
6. Baldaut, S. (2003). Phylogeny for the faint of heart: a tutorial. *Trends in Genetics* 19 (6): 345-351.
7. Baums, I. B., Boulay, J. N., Polato, N. R., & Hellberg, M. E. (2012). No gene flow across the Eastern Pacific Barrier in the reef-building coral *Porites lobata*. *Molecular ecology*, 21(22): 5418–5433.
8. Berkelmans, R., & Van Oppen, M. (2006). The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a “nugget of hope” for coral reefs in an era of climate change. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 273(1599): 2305–2312.
9. Byler, K., Carmi-Veal, M., Fine, M & Goulet, T. (2013). Multiple symbiont acquisition strategies as an adaptive mechanism in the *Stylophora pistillata* *PLoS ONE*, 8(3): 1-7.
10. Brusca, R & Brusca, G. (2005). *Zoología de Invertebrados*. Madrid: Mc Graw Hill Interamericana.
11. Chávez-Romo, H., Paz-García, A., Correa-Sandoval, F., Reyes-Bonilla, H., López-Pérez, R & Media-Rosas, P. (2013). Difference in reproductive strategies of two scleractinian corals (branching vrs, massive) along the west coast of México. *Ciencias Marinas*, 39 (4): 387-400.

12. Chen, C., Yang, Y., Wei, N., Tsai, W & Fang, L. (2005). Symbiont diversity in scleractinian corals from tropical reefs and subtropical non-reef communities in Taiwan. *Coral Reefs*, 24: 11-22.
13. Cracraft, J. (2002). The seven great questions of systematic biology: an essential foundation for conservation and the sustainable use of biodiversity. *Ann Missouri Bot. Gard.* 89:127-144.
14. Crepeau, M. W. (2011). Preservation of corals in salt-saturated DMSO buffer is superior to ethanol for PCR experiments. *Coral Reefs*, 30: 329–333.
15. Darriba, D., Toboada, G.L., Doallo, R & D. Posada. (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9 (8): 772.
16. Del Río-Portilla, M., Vargas-Peralta, C., Paz-García, D., Lafarga, F., Balart, E. & García de León, F. (2014). The complete mitochondrial DNA of endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*). *Mitochondrial DNA*, Early Online 1-2.
17. Diekmann, O., Olsen, J., Stam, W & Bak, R. (2003). Genetic variation within Symbiodinium clade B from the coral genus *Madracis* in the Caribbean (Netherlands Antilles). *Coral Reefs*, 22: 29-33.
18. Douglas, A. (1998). Host benefit and the evolution of specialization in symbiosis. *Heredity*, 81:599-603.
19. Dubinsky, Z & Stambles, N. (2011). *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. United States: Springer.
20. Fransolet, D., Roberty, S. & Plumier, J. (2012). Establishment of endosymbiosis: The case of cnidarians and *Symbiodinium*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 420-421: 1–7.
21. Fiedler, P. (2002). Environmental change in the eastern tropical Pacific Ocean: review of ENSO and decadal variability. *Marine Ecology Progress Series*, 244 (29): 265-283.

22. Finney J.C., Pettay, D., Sampayo, E., Warner, M., Oxendorf, H. & T. LaJeunesse. (2010). The relative significance of host-habitat, depth, and geography on the ecology, endemism, and speciation of coral endosymbionts in the genus *Symbiodinium*. *Microbial ecology*, 60 (1): 250-263.
23. Futuyma, D. (2005). *Evolution*. Estados Unidos: Sinauer Associates Inc.
24. Guendulain, S. (2010). Variación de la densidad de zooxantelas, concentración de pigmentos, biomasa y porcentaje de lípidos en tejidos de *Pavona gigantea* Verrill, 1896 en Bahías de Huatulco. (Tesis de Licenciatura en Biología Marina). Universidad del Mar. Oaxaca, México.
25. Guinotte, J. Buddemeier, R. & Kleypass, J. (2003). Future coral reef habitat marginality: temporal and spatial effects of climate change in the Pacific basin. *Coral reefs* 22: 551-560.
26. Glynn, P. W. (1990). Coral mortality and disturbances to coral reefs in the Tropical Eastern Pacific. In Global ecological consequences of the 1982-83 El niño Southern Oscillation. (Pp. 55-126). Elsevier Oceanography Serv.
27. Glynn, P., & Ault, J. (2000). A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs*, 19: 1–23.
28. Grottoli, G., Rodríguez, L., & Juárez, C. (2004). Lipids and stable carbon isotopes in two species of Hawaiian corals, *Porites compressa* and *Montipora verrucosa*, following a bleaching event. *Marine Biology*, 145(3): 621–631.
29. Guzmán, H. & Cortés, J. (2008). *Porites panamensis*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.2. <www.iucnredlist.org>.
30. Halfar, J., Godinez-Orta, L., Riegl, B., Valdez-Holguin, J. E., & Borges, J. M. (2005). Living on the edge: high-latitude *Porites* carbonate production under temperate eutrophic conditions. *Coral Reefs*, 24(4): 582–592.
31. Harland, A., Fixter, L., Spencer, P. & Anderson, R. (1991). Distribution of lipids between the zooxanthellae and animal compartment in the symbiotic sea anemone *Anemonia viridis*: wax esters, triglycerides and fatty acids. *Marine Biology*, 110: 13–19

32. Herron, J & Freeman, S. (2014). *Evolutionary Analysis* (5th ed.). USA: Pearson.
33. Howe, C., Nisbet, R. & A. Barbook. (2008). The remarkable chloroplast genome of dinoflagellates. *Journal of experimental botany*, 59 (5): 1035-1045.
34. Huelsenbeck, J.P. & F. Ronquist. (2001). MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics*, 17: 754-755.
35. LaJeunesse, T. C., & Gymnodinium, S. (2001). Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: in search of a “Species” level marker. *J. Phycol.*, 37: 866–880.
36. LaJeunesse, T., Loh, W., van Woesik R., Hoegh-Guldberg, O., Schmidt, G. & Fitt, W. (2003). Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef Corals, relative to those of the Caribbean. *Limnology and Oceanography*, 48: 2046–2054.
37. LaJeunesse T., Thornhill D., Cox E., Stanton F., Fitt W. & Schmidt G. (2004a) High diversity and host specificity observed among symbiotic dinoflagellates in reef coral communities from Hawaii. *Coral Reefs*, 23: 296–603.
38. LaJeunesse, T., Bhagooli, R., Hidaka, M., DeVantier, L., Done, T., Schmidt G, Fitt, W & Hoegh-Guldberg, O. (2004b) Closely related *Symbiodinium* spp. differ in relative dominance in coral reef host communities across environmental, latitudinal and biogeographic gradients. *Marine Ecology*, 284: 147–161
39. LaJeunesse, T. (2005). ‘Species’ radiations of symbiotic dinoflagellates in the Atlantic and Indo-Pacific since the Miocene-Pliocene transition. *Mol. Biol. Evol.*, 22:570-581
40. LaJeunesse, T. C., Bonilla, H. R., Warner, M. E., Wills, M., & Schmidt, G. W. (2008). Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral – algal symbioses. *Limnology Oceanography*, 53(2): 719–727.
41. LaJeunesse, T., Smith, R., Walther, M., Pinzón, J., Pettay, D., McGinley, M., & Aschaffenburg, M. (2010). Host-symbiont recombination versus natural selection in

- the response of coral-dinoflagellate symbioses to environmental disturbance. *Proceedings. Biological sciences / The Royal Society*, 277(1696): 2925–2934.
42. LaJeunesse, T., & Thornhill, D. (2011). Improved resolution of reef-coral endosymbiont (*Symbiodinium*) species diversity, ecology, and evolution through psbA non-coding region genotyping. *PloS One*, 6(12): 1-11.
 43. Leung, S. K., & Wong, J. T. Y. (2009). The replication of plastid minicircles involves rolling circle intermediates. *Nucleic acids research*, 37(6): 1991–2002.
 44. Loh, W., Loi, T., Carter, D & Hoegh-Guldberg, O. (2001). Genetic variability of the symbiotic dinoflagellates from the wide ranging coral species *Seriatopora hystrix* and *Acropora longicyathus* in the Indo-West Pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 222: 97-107.
 45. López-Pérez, R. (2012). Late miocene to pleistocene reef corals in the gulf of California. *Bulletins of American Paleontology*, 383: 1-77.
 46. Maddison, W & Madison, D. (2011). Mesquite: un Sistema modular para el análisis evolutivo. 2.75 ed.
 47. Manzello, D., Kleypas, J., Budd, D., Eakin, C., Glynn, P., & Langdon, C. (2008). Poorly cemented coral reefs of the eastern tropical Pacific: possible insights into reef development in a high-CO₂ world. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 105(30): 10450–5.
 48. Mendoza, M. (2010). Identificación y Distribución de Dinoflagelados Simbióticos en Corales Pétreos del Litoral de Oaxaca, México. (Tesis de Licenciatura en Biología Marina). Universidad Autónoma de Baja California Sur. México.
 49. Medina-Rosas, P. (2000). Reclutamiento de corales pétreos (Scleractinia) en los arrecifes de Jalisco y Nayarit, México. (Tesis de Maestría). Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, México.
 50. Miller, M., Pfeiffer, W & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proc Gat Envir Workshop*, 1:1-8.

51. Millero, F. (2007). The marine inorganic carbon cycle. *Chem Rev*, 107: 308–341.
52. Mora-Pérez. M. (2005). Biología reproductiva del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 (Anthozoa: Scleractinia) en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. (Tesis de Maestría). Centro interdisciplinario de Ciencias Marinas, México.
53. Moore, R., Ferguson, K., Loh, W., Hoegh-Guldberg, O & Carter, D. (2003). Highly organized structure in the non-coding region of the psbA minicircle from clade C *Symbiodinium*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(6):1725–1734.
54. De Palmas, S., Denis, V., Ribas-Deulofeu, L., Loubeyres, M., Woo, S., Hwang, S., Song, J & Chen, C. a. (2015). *Symbiodinium* spp. associated with high-latitude scleractinian corals from Jeju Island, South Korea. *Coral Reefs*.
55. Paz-García, D., Correa-Sandoval, F, Chávez-Romo, H. Reyes Bonilla, H., López-Pérez, R., Medina-Rosas, P & Hernández-Cortés, M. (2008a). Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* (Anthozoa : Scleractinia) from the Mexican Pacific. *Proceedings of the 11th Internacional Coral Reef Symposium*, (14): 449–453.
56. Paz-García, D., LaJeunesse, T., Chávez-Romo, H. Correa-Sandoval, F & Reyes-Bonilla, H. (2008b). Differences in the distribution of *Symbiodinium* spp. among morphotypes and genotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California, Mexico. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*, (5): 164–167.
57. Paz-García, D. (2008c). Variación genética del coral *Porites panamensis* VERRILL, 1866 (anthozoa:scleractinea) en el Pacífico Mexicano. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. México.
58. Paz-García, D., Galván-Tirado, C., Alvarado, J., Cortés, J., García-de-León, F., Helberg, M. & Balart, E. (En Revisión). Primers for mitogenome amplification of reef-building *Porites* corals. *Conservation Genetics Resources*.

59. Pochon, X., Montoya-Burgos, J., Stadelmann, B & Pawlowski, J. (2006). Molecular phylogeny, evolutionary rates and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 20-30.
60. Pochon, X & Gates, R. (2010). A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56: 492-497.
61. Pochon, X., Putman, H., Burki, F & Gates, R. (2012). Identifying and Characterizing Alternative Molecular Markers for the Symbiotic and Free-Living Dinoflagellate Genus *Symbiodinium*. *PLoS ONE* 7 (1): 1-13
62. Pochon, X., Putnam, H & Gates, R. (2014). Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ* 2, e394: 1-25.
63. Rambaut, A. (2012). FigTree (version 1.4.0). Disponible en <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
64. Reyes-Bonilla, H. (1992). New records for hermatypic corals (Anthozoa: Scleractinia) in the Gulf of California, México, with and historical and biogeographical discussion. *Journal of Natural History* 36, 1-13.
65. Reyes-Bonilla, H. (2001). Effects of the 1997-1998 El niño-southern oscillation on coral communities of the Gulf of California, México. *Bull Marine Science*, 251-266.
66. Librado, P & Rozas J. (2009). DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25: 1451-1452.
67. Saavedra-Sotelo, C., Calderón-Aguilera, E., Reyes-Bonilla, H., Paz-García, D., López-Pérez, R., Cupul-Magaña, A., Cruz-Barraza, J & Rocha-Olivares, A. (2013). Testing the genetic predictions of a biogeographical model in a dominant endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*) using a genetic seascape approach. *Ecology and Evolution*, 3(12): 4070-4091.
68. Saldanha, A. (2004). Java Treeview-extensible visualization of microarray data. *Bioinformatics*, 20 (17): 3246-3248.

69. Santos, S., Shearer, T., Hannes, A & Coffroth, M. (2004). Fine scale diversity and specificity in the most prevalent lineage of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*, Dinophyta) of the Caribbean. *Molecular Ecology* 13:459-469.
70. Seutin, G., White, B. N. & Boag, P. T. (1991). Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Can. J. Zool.* 69: 82–92.
71. Silverstein, R. (2012). The Importance of the Rare : The Role of Background Symbiodinium in the Response of Reef Corals to Environmental Change (Doctor of Philosophy Theses). Florida: University of Miami.
72. Stat, M., Carter, D., & Hoegh-Guldberg, O. (2006). The evolutionary history of Symbiodinium and scleractinian hosts-Symbiosis, diversity, and the effect of climate change. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 8(August 2015), 23–43.
73. Stella, J., Pratchett, M., Hutchings, P & Jones, G. (2011). Coral-Associated Invertebrates : Diversity, Ecological Importance and Vulnerability to Disturbance. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 49: 43–104.
74. Smith, D. Sugget, D. & Baker, N. (2005). Is photoinhibition of zooxanthellae photosynthesis the primary cause of thermal bleaching in corals? *Global Change Biology*, 11: 1–11.
75. Sukumaran, J & Holder, M. (2010). DendroPy: A Python library for phylogenetic computing. *Bioinformatics*, 26: 1569-1571
76. Tamura K, Peterson D, Peterson N., Stecher, G, Masatoshi, N & Kumar, S. (2011). MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Molecular Biology and Evolution*, 28: 2731-2739.
77. Thornhill, D., Lewis, A., Wham, D., & LaJeunesse, T. (2014). Host-specialist lineages dominate the adaptive radiation of reef coral endosymbionts. *Evolution; international journal of organic evolution*, 68(2): 352-367.
78. Wicks, L., Sampayo, E., Gardner, J., & Davy, S. (2010). Local endemism and high diversity characterise high-latitude coral–*Symbiodinium* partnerships. *Coral Reefs*, 29(4): 989–1003.

79. Zwickl, D. (2006). Genetic algorithm approaches for the phylogenetic analysis of large biological sequence datasets under the maximum likelihood criterion. (Ph.D. dissertation). EUA: The University of Texas.

ID Muestras	Clave de acceso en el banco de genes	ITS-DGGE	Hospedero	País	Localidad
Baja04_124_Porites_panamensis	KF572202	C1	<i>Porites panamensis</i>	México	La Paz
Baja04_14_Porites_panamensis	KF572210	C1	<i>Porites panamensis</i>	México	La Paz
Baja04_30_Porites_panamensis	KF572209	C1	<i>Porites panamensis</i>	México	La Paz
Baja04_34_Porites_panamensis	KF472207	C1	<i>Porites panamensis</i>	México	La Paz
BB07_240_Porites_panamensis	KF572212	C1v	<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía Banderas
BB07_250_Porites_panamensis	KF572211	C1v	<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía Banderas
AIM6	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM9	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM11	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM5	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM17	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM21A	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM21B	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM27	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
AIM28	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Isla Marietas
CO1	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Colima
CO16	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Colima
MZ4	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Mazatlán
MZ12	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Mazatlán
CP3	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Cabo Pulmo
CP5	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Cabo Pulmo
CP7	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Cabo Pulmo
CP17	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Cabo Pulmo
PPOR23	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Portugués
PPOR24	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Portugués
BLA32	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía de los Ángeles
BLA36	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía de los Ángeles
BLA6	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía de los Ángeles
BLA14	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía de los Ángeles
BLA28	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Bahía de los Ángeles
LO4	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Loreto
LO6	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	México	Loreto
PSV1	N.A.		<i>Porites sverdrupi</i>	México	La Paz
PSV1G	N.A.		<i>Porites sverdrupi</i>	México	Bahía Concepción

PSV2G	N.A.	<i>Porites sverdrupi</i>	México	Bahía Concepción
PIR	N.A.	<i>Porites lobata</i>	México	Isla Revillagigedo
CR10	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Costa Rica	Caño Sur
CR13	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Costa Rica	Isla Mesa
CR31	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Costa Rica	Isla Despensa

Anexo I. BD1: información detallada de las muestras de *Symbiodinium* utilizadas para los análisis filogenéticos y de diversidad genética.

Anexo II. BD2: información detallada de las muestras de *Symbiodinium* del banco de genes y las generadas en el presente estudio, utilizadas para los análisis filogenéticos y de diversidad genética

ID Muestras	Clave de acceso en el banco de genes	ITS-DGGE	Hospedero	Región	Localidad
Baja04_143_Psammocora_C1bf	KF572214	C1b-f	<i>Psammocora superficialis</i>	Pacífico Oriental	Golfo de California
Haw02_86_Cyphastrea_C1bf	KF572217	C1b-f	<i>Cyphastrea ocellina</i>	Pacífico Central	Oahu
Haw02_51_Fungia_C1bf	KF572218	C1bf	<i>Fungia scutaria</i>	Pacífico Central	Oahu
Haw02_63_Psammocora_c1bf	KF572220	C1bf	<i>Psammocora haimeana</i>	Pacífico Central	Oahu
Haw02_7_Fungia_C1bf	KF572221	C1bf	<i>Fungia scutaria</i>	Pacífico Central	Oahu
Baja04_135_Psammocora_C1bf	KF572213	C1b-f	<i>Psammocora profundacella</i>	Pacífico Oriental	Golfo de California
BB07_201_C1bf	KF572216	C1bf	<i>Psammocora stelata</i>	Pacífico Oriental	Bahía Banderas
BB07_190_C1bf	KF572215	C1bf	<i>Psammocora stelata</i>	Pacífico Oriental	Bahía Banderas
Haw02_6_Fungia_C1bf	KF572219	C1bf	<i>Fungia scutaria</i>	Pacífico Central	Oahu
PM99_36_Porites_C1a_j	KF572186	C1aj	<i>Porites astreoides</i>	Caribe	Puerto Morelos
PM99_35_Porites_C1a_j	KF572185	C1aj	<i>Porites astreoides</i>	Caribe	Puerto Morelos
Be02_98_Porites_C1a_j	KF572187	C1aj	<i>Porites astreoides</i>	Caribe	Belize
A02_71_Galaxea_C1	KF572195	C1	<i>Galaxea fascicularis</i>	Pacífico Oeste	Gran Barrera Arrecifal (GBR)
PM99_72_Discosoma_C1	KF572199	C1	<i>Discosoma carlgreni</i>	Caribe	Puerto Morelos
Zam03_10m_87_Montipora_C31	JQ043604	C31	<i>Montipora venosa</i>	Pacífico Oeste	Ryukyus Isls
Haw02_5b_Montipora_C31	JQ043613	C31	<i>Montipora capitata</i>	Pacífico Central	Oahu
Zam03_3m_92_Montipora_C30	JQ043605	C30	<i>Montipora efflorescens</i>	Pacífico Oeste	Ryukyus Isls
SPA59_SW2_Montipora_C31c	JQ043601	C31c	<i>Montipora capitata</i>	Indo-Pacífico	Aquarium trade
Haw02_45b_Montipora_31	KF572371	C31	<i>Montipora capitata</i>	Pacífico Central	Oahu

SPA45_Montipora_C31	JQ043601	C31	<i>Montipora sp.</i>	Indo-Pacífico	Aquarium trade
Haw02_73_C27	JQ043671	C27	<i>Pavona varians</i>	Pacífico Central	Oahu
Haw02_95_C27	JQ043674	C27	<i>Pavona varians</i>	Pacífico Central	Oahu
Haw02_23_C27	JQ043667	C27	<i>Pavona varians</i>	Pacífico Central	Oahu
Zam03_41_Fungia_C27	JQ043676	C27	<i>Fungia sp.</i>	Pacífico Oeste	Ryukyus Isls
Zam03_10M_33_Alveopora_C27	JQ043669	C27	<i>Alveopora sp.</i>	Pacífico Oeste	Ryukyus Isls
A03_71_Pavona_C3h	JQ043630	C3h	<i>Podabacia crustacea</i>	Pacífico Oeste	GBR
A03_6_Fungia_C3h	JQ043629	C3h	<i>Fungia granulosa</i>	Pacífico Oeste	GBR
A03_52_Leptoseris_C3h	JQ043627	C3h	<i>Leptoseris yabei</i>	Pacífico Oeste	GBR
A03_221_Podabacia_C3h	JQ043630	C3h	<i>Podabacia crustacea</i>	Pacífico Oeste	GBR
A03_44Pectinia_C3h	JQ043631	C3h	<i>Pectinia paeonia</i>	Pacífico Oeste	GBR
A02_27_Acropora_C3	JQ043641	C3*	<i>Acropora microclados</i>	Pacífico Oeste	GBR
Baja04_124_Porites_panamensis	KF572202	C1	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Golfo de California
Baja04_14_Porites_panamensis	KF572210	C1	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Golfo de California
Baja04_30_Porites_panamensis	KF572209	C1	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Golfo de California
Baja04_34_Porites_panamensis	KF472207	C1	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Golfo de California
BB07_240_Porites_panamensis	KF572212	C1v	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía Banderas
BB07_250_Porites_panamensis	KF572211	C1v	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía Banderas
AIM6	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM9	N.A.		<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas

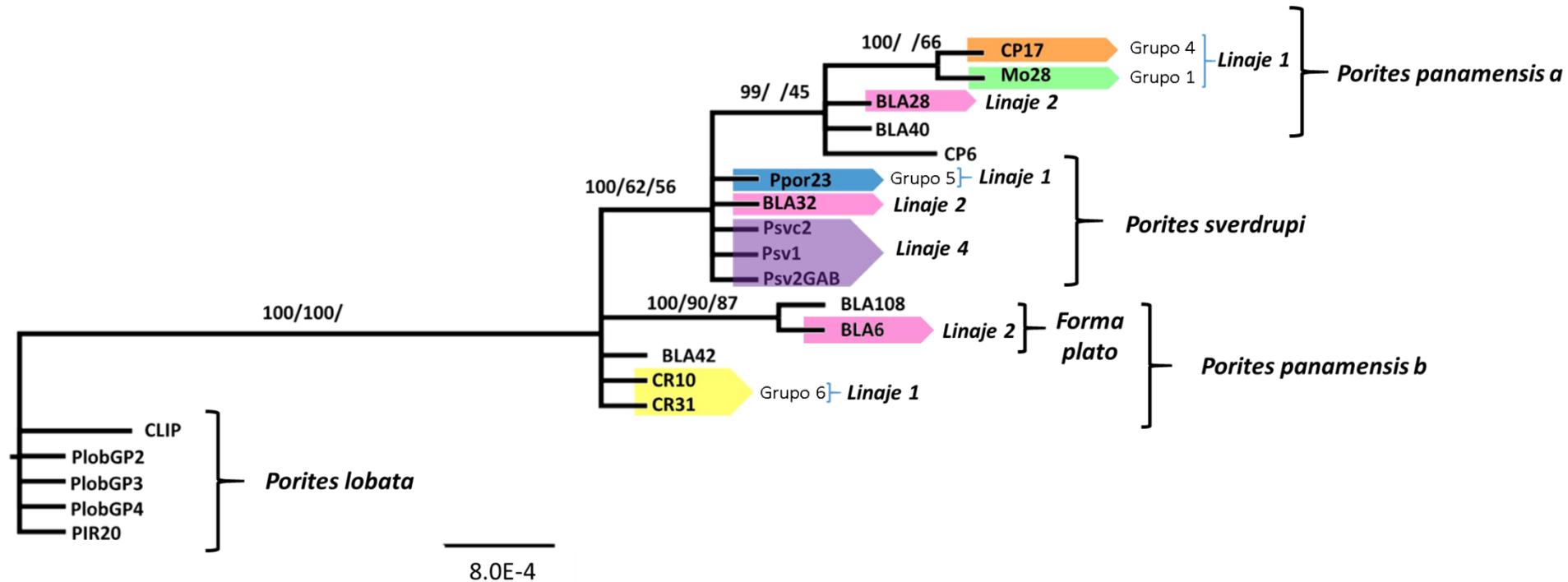
AIM11	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM5	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM17	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM21A	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM21B	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM27	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
AIM28	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Islas Marietas
CO1	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Colima
CO16	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Colima
MZ4	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Mazatlán
MZ12	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Mazatlán
CP3	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Cabo Pulmo
CP5	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Cabo Pulmo
CP7	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Cabo Pulmo
CP17	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Cabo Pulmo
CR10	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Costa Rica

CR13	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Costa Rica
CR31	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Costa Rica
PPOR23	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	El Portugués
PPOR24	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	El Portugués
BLA32	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía de Los Ángeles
BLA36	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía de Los Ángeles
BLA6	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía de Los Ángeles
BLA14	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía de Los Ángeles
BLA28	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía de Los Ángeles
LO4	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Loreto
LO6	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Loreto
PSV1	N.A.	<i>Porites sverdrupi</i>	Pacífico Oriental Tropical	La Paz
PSV1G	N.A.	<i>Porites sverdrupi</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía Concepción
PSV2G	N.A.	<i>Porites sverdrupi</i>	Pacífico Oriental Tropical	Bahía Concepción
PIR	N.A.	<i>Porites panamensis</i>	Pacífico Oriental Tropical	Isla Revillagigedo

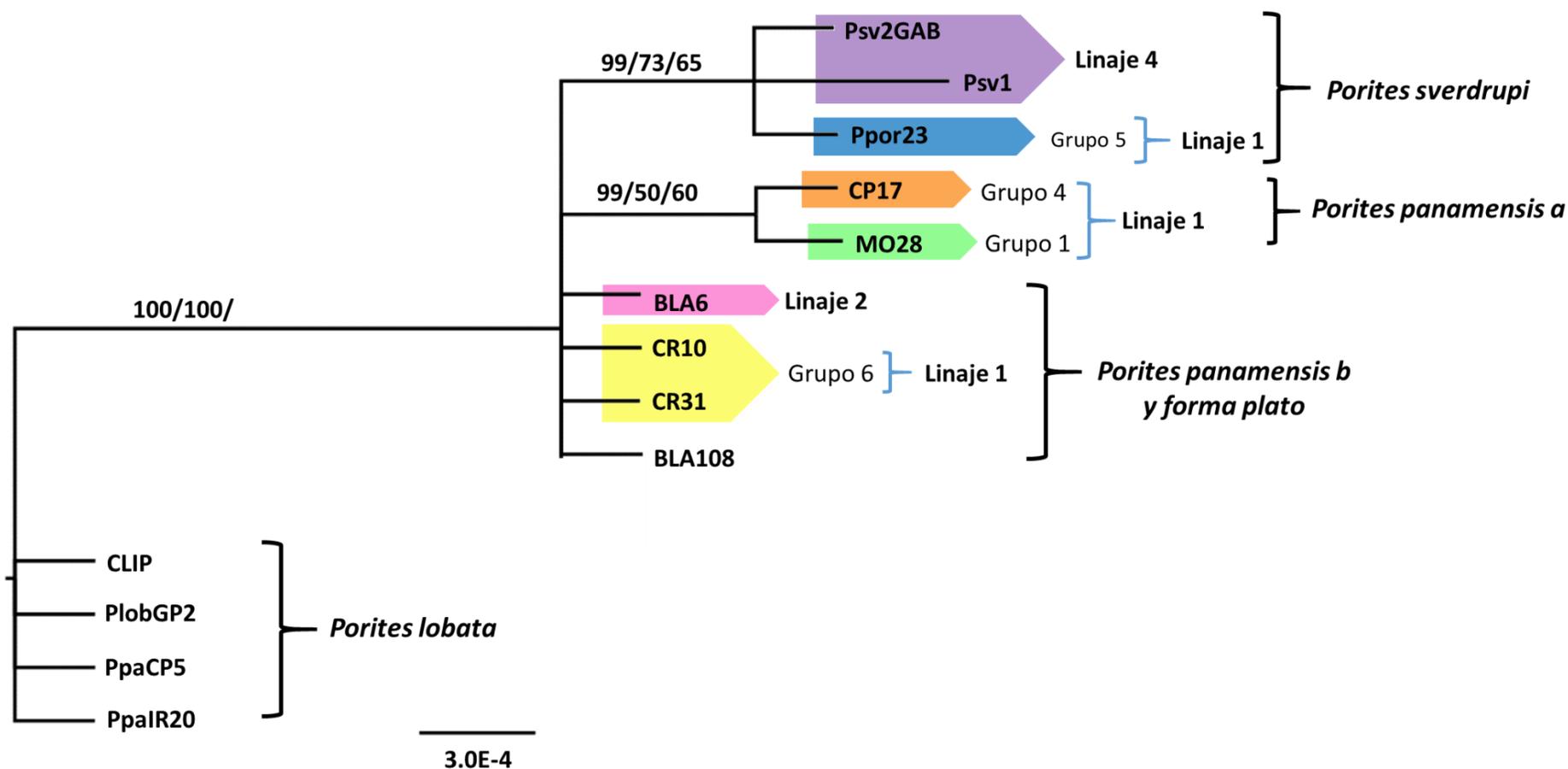
Anexo III. Información detallada de las muestras utilizadas de corales del género *Porites* para los análisis filogenéticos y de diversidad genética.

ID Muestras	Especie de coral	Marcador molecular amplificado y secuenciado	País	Localidad
BLA 28	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1	México	Bahía de los Ángeles
BLA40	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1	México	Bahía de los Ángeles
BLA32	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1	México	Bahía de los Ángeles
BLA42	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1	México	Bahía de los Ángeles
BLA6	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Bahía de los Ángeles
BLA108	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Bahía de los Ángeles
Ppor23	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	El Portugués
CP17	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Cabo Pulmo
CP5	<i>Porites panamensis</i>	ND2-ND6	México	Cabo Pulmo
CP6	<i>Porites panamensis</i>	ND3-tRna-Trp	México	Cabo Pulmo
MO28	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Islas Marietas
CR10	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	Costa Rica	Caño Sur
CR31	<i>Porites panamensis</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	Costa Rica	Isla Despensa
PSV1	<i>Porites sverdrupi</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	La Paz
PSVC2	<i>Porites sverdrupi</i>	ND5-ND1	México	Bahía Concepción
PSV2GAB	<i>Porites sverdrupi</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Bahía Concepción
CLIP	<i>Porites lobata</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Clipperton
PLobGP2	<i>Porites lobata</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	
PLobGP3	<i>Porites lobata</i>	ND5-ND1	México	
PLobGP4	<i>Porites lobata</i>	ND5-ND1	México	
PIR20	<i>Porites lobata</i>	ND5-ND1, ND2-ND6 y ND3-tRna-Trp	México	Isla Revillagigedos

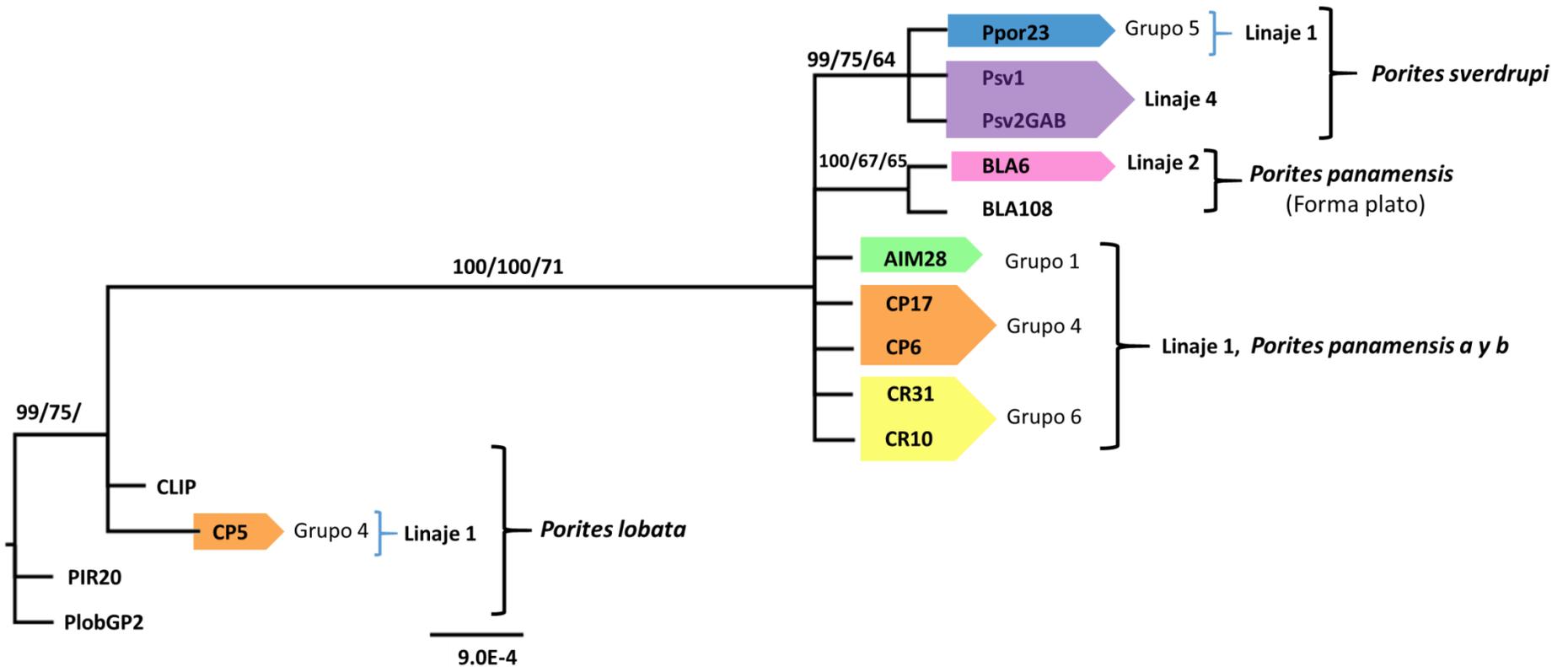
Anexo IV. Reconstrucción filogenética de especies del género *Porites* utilizando la región mitocondrial ND5-ND1. Las etiquetas en las ramas son las claves de recolecta de las muestras y los colores corresponden al grupo o linaje de *Symbiodinium* que estos corales poseen. Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*), mediante máxima verosimilitud (GARLI) y vecino más cercano (MEGA) respectivamente.



Anexo V. Reconstrucción filogenética de especies del género *Porites* utilizando el gen de la región mitocondrial ND2-ND6. Las etiquetas en las ramas son las claves de recolecta de las muestras y los colores corresponden al grupo o linaje de *Symbiodinium* que estos corales poseen. Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*), mediante máxima verosimilitud (GARLI) y vecino más cercano (MEGA) respectivamente.

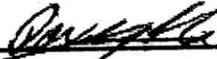


Anexo VI. Reconstrucción filogenética de especies del género *Porites* utilizando el gen de la región mitocondrial ND3-tRna-Trp. Las etiquetas en las ramas son las claves de recolecta de las muestras y los colores corresponden al grupo o linaje de *Symbiodinium* que estos corales poseen. Los números en los nodos indican los valores de soporte por el método de reconstrucción con inferencias bayesianas (*Mr.Bayes*), mediante máxima verosimilitud (GARLI) y vecino más cercano (MEGA) respectivamente.





Sofia Marivel Méndez Mendez
Autora



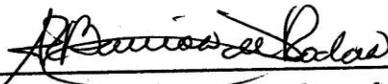
Dr. David Arturo Paz García
Asesor de Tesis



Dr. Francisco García de León
Asesor de Tesis



Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares
Revisor



Licda. Ana Rosalito Barrios de Rodas
Directora de Escuela de Biología



Dr. Rubén Daríel Velásquez
Decano
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia