

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA**

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



VARIACIÓN GENÉTICA DEL CORAL *Porites panamensis* VERRILL,  
1866 (ANTHOZOA: SCLERACTINIA) EN EL PACÍFICO MEXICANO

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA  
OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFIA COSTERA**

PRESENTA

**David Arturo Paz García**

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MEXICO. FEBRERO 2009

## Resumen

El grado de estructuración genética fue estudiado en la especie *Porites panamensis* en tres áreas de desarrollo coralino del Pacífico mexicano (PM): Golfo de California (GC), Bahía de Banderas (BB) y Oaxaca (OAX). Las recolectas se realizaron en: Bahía de Los Ángeles (BLA), Bahía Concepción (BCO), sur de Bahía de La Paz (BLP) dentro del GC; además de dos zonas en la entrada del GC, Punta Arenas de la Ventana (PAV) e Isla Redonda (BB), y una localidad al sur del PM, La Entrega (OAX). Para estudiar la variación enzimática entre las poblaciones, se empleó el método de electroforesis vertical en geles discontinuos de poliacrilamida. Se analizaron cuatro sistemas enzimáticos que dieron un total de cinco loci. Se observaron genotipos exclusivos en las poblaciones de BLA ( $LGG-I^{DE}$  y  $LGG-I^{EE}$ ) y OAX ( $EST-I^{AA}$  y  $EST-I^{AB}$ ). La mayoría de las poblaciones del coral *P. panamensis* presentaron desviaciones significativas al modelo de Hardy-Weinberg, lo que indica una deficiencia de heterocigotos. Esta deficiencia puede deberse a 1) distintos eventos de reclutamiento de diferentes cohortes y por la mezcla de colonias adultas de comunidades coralinas distintas; 2) sesgo entre el sexo de las colonias por diferencias en las proporciones sexuales; 3) diferencias temporales en la expulsión de larvas a lo largo del PM; 4) un alto reclutamiento local y endogamia por una dispersión limitada de la larva; y 5) diferencias en mortalidad sufrida por las comunidades coralinas por distintos fenómenos naturales. Una diferenciación genética fue observada entre las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM, con base en la variación y distancia genética, y al estadístico  $F_{ST}$ . Se observó una ligera estructuración genética en las poblaciones que se encuentran dentro del GC (BLA, BCO

y BLP) y una estructuración de moderada a alta observada en las poblaciones que se encuentran en la entrada del GC (PAV y BB) y sur del Pacífico mexicano (OAX). Las poblaciones de *P. panamensis* se ajustaron al modelo de aislamiento por distancia, donde el flujo genético ocurre principalmente entre las poblaciones aledañas, debido a una dispersión larval limitada, y disminuye entre las poblaciones distantes. Los patrones de circulación oceánica pueden en gran medida estar generando la composición genética en grupos y la estructuración genética observada en las poblaciones de *P. panamensis* en el PM.

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS  
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS  
POSGRADO EN OCEANOGRAFIA COSTERA

VARIACIÓN GENÉTICA DEL CORAL *Porites panamensis* VERRILL,  
1866 (ANTHOZOA: SCLERACTINIA) EN EL PACÍFICO MEXICANO

TESIS

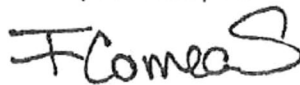
QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA  
OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PRESENTA


David Arturo Paz García

Aprobada por:



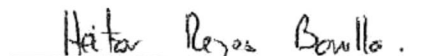
---

Dr. Francisco Correa Sandoval  
Presidente del jurado



---

Dr. Eugenio Carpizo Ituarte  
Sinodal



---

Dr. Héctor Reyes Bonilla  
Sinodal

## *Agradecimientos*

Agradezco a los miembros de mi comité:

Francisco Correa Sandoval quien me dio un lugar en su laboratorio y apoyó la realización de este estudio con su tiempo y esfuerzo.

Eugenio Carpizo por su entusiasmo, sus sugerencias y por su apoyo en el desarrollo del estudio.

Héctor Reyes Bonilla por seguir siendo parte de mi formación y por toda la ayuda brindada en estos años.

Quiero agradecer a las personas que en gran medida hicieron posible este estudio:

Andrés López Pérez por su ayuda en la recolecta de ejemplares en La Entrega, Oaxaca. Por su apoyo, comentarios e ideas dadas durante el desarrollo del estudio.

Pedro Medina Rosas por ayudar en la recolecta de ejemplares en Islas Marietas por sus comentarios y por estar al pendiente del estudio.

M. Patricia Hernández Cortés quien ha sido una parte importante de mi formación, por su apoyo en las salidas de campo y almacenamiento de muestras.

H. Efrain Chavez Romo por su ayuda y colaboración en los nuevos retos que me he propuesto. Por sus acertados comentarios y sugerencias que me brindó en el transcurso de la Maestría.

Al Programa de Posgrado de Oceanografía Costera de la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la UABC de quienes recibí apoyo durante la realización del estudio.

Al CONACYT por el otorgamiento de la beca de maestría en ciencias con registro 198821, la cual me ayudó en la manutención durante la realización del estudio.

A los múltiples financiamientos obtenidos para la recolecta de ejemplares de este estudio:

Proyecto UABCS-CIBNOR "Revisión del status de las especies del Género *Porites* Link, 1807 (Anthozoa: Scleractinia) en el Golfo de California, México". A cargo de Héctor Reyes Bonilla (UABCS) y Patricia Hernández (CIBNOR).

Project AWARE Foundation por el financiamiento que se me fue otorgaron en el Proyecto "Revision of taxonomic status of genus *Porites* Link, 1807 (Anthozoa: Scleractinia) of the Gulf of California, Mexico".

Proyecto Semarnat 2002-c01-0605 por parte de Andrés López Perez.

Al grupo de trabajo del Parque Nacional Islas Marietas quienes brindaron su ayuda en la recolecta de ejemplares.

A todos los estudiantes y amigos de la UABCS que brindaron su ayuda en el trabajo de campo, en especial a Saúl González quien me ha dado su ayuda en innumerables ocasiones.

Agradezco a las personas que contribuyeron con una parte de tu tiempo para el desarrollo del estudio:

Juan Vivas y Ana Licona quienes me tendieron la mano en los momentos difíciles del trabajo de laboratorio, por su apoyo y amistad.

Agradezco a Efraín Chávez Romo, Karina Xolaltenco Coyotl, Diana Sánchez Toyos y Luis Lombardo quienes apoyaron en gran medida en el trabajo de laboratorio.

Sinceros agradecimientos a Alfonso Maeda Martínez del CIBNOR por el préstamo del contenedor de nitrógeno líquido.

A los múltiples consejos, orientación y enseñanzas que me brindó dentro y fuera del laboratorio, por su entusiasmo, por su manera de ver la vida y la ciencia, agradezco a un buen amigo Jorge de la Rosa Vélez. Siempre te recordaré.

A mis compañeros de maestría quienes contribuyeron en sugerencias para mejorar el estudio y por estar siempre al tanto de los avances del estudio y de mi formación.

Muchas Gracias a mi gran familia Paz García y Sánchez Toyos cuyos integrantes confiaron en mí y me apoyaron en todo lo que les fue posible.

Finalmente agradezco a mi amada esposa Diana Sánchez Toyos quien realizó tantos sacrificios, por apoyarme en todo momento y por ser parte de este nuevo logro.

*Al amor de mi vida, Diana*

*A mis padres y hermanos*

*A la memoria de un gran amigo y maestro,  
Jorge de la Rosa Velez*

## Contenido

	Página
<i>Resumen</i> .....	<i>i</i>
<i>Página de aprobación</i> .....	<i>iii</i>
<i>Agradecimientos</i> .....	<i>iv</i>
<i>Dedicatoria</i> .....	<i>vi</i>
<i>Contenido</i> .....	<i>vii</i>
<i>Lista de figuras</i> .....	<i>x</i>
<i>Lista de tablas</i> .....	<i>xii</i>
<i>1. Introducción</i> .....	<i>1</i>
<i>2. Objetivos</i> .....	<i>5</i>
<i>3. Materiales y métodos</i>	
3.1 Trabajo de Campo .....	<i>6</i>
3.2 Trabajo de Laboratorio .....	<i>9</i>
3.2.1 Extracción de tejido coralino y preparación de muestras. .	<i>11</i>
3.2.2 Determinación de Concentración de Proteínas de las muestras .....	<i>13</i>
3.2.2 Electroforesis .....	<i>13</i>
3.2.3 Actividad enzimática .....	<i>14</i>
3.2.4 Registro de electromorfos y genotipos .....	<i>14</i>

3.3 Análisis de datos	
3.3.1 Variación genética . . . . .	16
3.3.2 Modo reproductivo dominante . . . . .	18
3.3.3 Diferenciación poblacional y flujo genético . . . . .	18
4. <i>Resultados</i>	
4.1 Variabilidad genética . . . . .	21
4.2 Estrategia reproductiva dominante . . . . .	30
4.2 Diferenciación poblacional . . . . .	32
4.3 Flujo genético y aislamiento por distancia . . . . .	39
5. <i>Discusión</i>	
5.1 Variación genética . . . . .	42
5.2 Estrategia reproductiva dominante . . . . .	48
5.3 Diferenciación poblacional . . . . .	50
5.4 Flujo genético y aislamiento por distancia . . . . .	54
5.5 Patrón de circulación oceánica y rutas de dispersión en el PM . .	56
6. <i>Conclusiones</i> . . . . .	60
7. <i>Literatura Citada</i> . . . . .	63

## 8. Anexos

Anexo I. Protocolo para la preparación de soluciones stock . . . . .	72
Anexo II. Protocolo para la preparación de geles discontinuos. . . . .	74
Anexo III. Protocolo para la preparación de soluciones histoquímicas . . . .	75

*Lista de figuras*

	Página
Figura 1. Zonas con localidades donde se realizaron las recolectas . . . . .	7
Figura 2. Esquema simplificado del proceso de extracción de tejido en <i>Porites panamensis</i> . . . . .	12
Figura 3. Representación esquemática de los electromorfos y su genotipo correspondiente a la estructura cuaternaria de la enzima . . . . .	15
Figura 4. Frecuencias alélicas en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	23
Figura 5. Frecuencias genotípicas en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	27
Figura 6. Dendrograma de la distancia genética de Nei (1978) entre seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	37
Figura 7. Estimaciones del flujo genético mediante el número de migrantes por generación ( $N_e m$ ) en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	40
Figura 8. Relación entre divergencia genética ( $F_{ST}$ ) y distancia geográfica entre las poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano. . . . .	40
Figura 9. Relación entre distancia genética (Nei, 1978) y distancia geográfica entre las poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	41
Figura 10. Patrón general de corrientes superficiales en el Pacífico mexicano . . . . .	56
Figura 11. Patrón general de corrientes superficiales en el Golfo de California . . . . .	59
Figura 12. Esquema de gel discontinuo de Poliacrilamida . . . . .	74
Figura 13. Visualización de ME para <i>Porites panamensis</i> . . . . .	75
Figura 14. Visualización de GDH para <i>Porites panamensis</i> . . . . .	76

Figura 15. Visualización de EST para <i>Porites panamensis</i> . . . . .	77
Figura 16. Visualización de LGG para <i>Porites panamensis</i> . . . . .	78

*Lista de tablas*

	Página
Tabla I. Información sobre las localidades donde se realizó la recolección de muestras . . . . .	8
Tabla II. Sistemas enzimáticos probados en el presente estudio . . . . .	10
Tabla III. Sistema enzimático, porcentaje de T y C del gel separador, µg de proteína total para observar actividad, duración de electroforesis y tiempo de tinción aproximado para <i>Porites panamensis</i> . . . . .	14
Tabla IV. Frecuencias alélicas de cinco loci en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	22
Tabla V. Frecuencias genotípicas de cinco loci en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	25
Tabla VI. Resumen de los principales estimadores de la variación genética en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano. .	29
Tabla VII. Parámetros para analizar la estrategia reproductiva dominante en seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano .	31
Tabla VIII. Comparación de frecuencias alélicas por locus entre pares de poblaciones por Método de cadena de Markov . . . . .	34
Tabla IX. Comparación de frecuencias genotípicas por locus entre pares de poblaciones por Método de cadena de Markov. . . . .	35
Tabla X. Identidad genética sin sesgo (Nei, 1978, debajo de la diagonal) y distancia genética (arriba de la diagonal) entre seis poblaciones del coral <i>P. panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	36
Tabla XI. Resumen de estadísticos <i>F</i> de Wright ( $F_{IS}$ , $F_{IT}$ y $F_{ST}$ ) de seis poblaciones del coral <i>Porites panamensis</i> del Pacífico mexicano . . . . .	38
Tabla XII. Comparación por pares de poblaciones del estadístico $F_{ST}$ (debajo diagonal) y valores <i>P</i> (arriba diagonal) del coral <i>Porites panamensis</i> en el Pacífico mexicano . . . . .	38

## 1. Introducción

A nivel mundial, los arrecifes coralinos han recibido una especial atención debido a la seria degradación que han mostrado por más de una década. Los principales factores de esta degradación son la sobrepesca, la contaminación y la mortalidad causada por el cambio climático (Bellwood *et al.*, 2004). Los efectos provocados por estos factores incluyen deficiencias en los procesos fisiológicos de los individuos, eventos de mortalidad masiva de corales a partir de tormentas y climas extremos, efectos indirectos por cambios de abundancia de competidores, depredadores, patógenos y simbioses (Bak y Meesters, 1999; Lasker y Coffroth, 1999).

Los fenómenos mencionados anteriormente provocan modificaciones en la estructura de la comunidad, en la estructura de la población y en la diversidad genética de las especies coralinas (Jackson, 1986; Hughes y Connell, 1999; Lasker y Coffroth, 1999). Además, afectan la supervivencia de las poblaciones locales, lo que contribuye al incremento de la inestabilidad de los arrecifes coralinos y eventualmente pueden provocar extinciones locales (Bak y Meesters, 1999; Lasker y Coffroth, 1999; Bellwood *et al.*, 2004). Por ello, el reclutamiento por parte de las comunidades coralinas lejanas que no hayan sufrido disturbios severos y las capacidades de dispersión larval, se convierten en factores cruciales para asegurar la recuperación del arrecife después de disturbios a grandes escalas (Palumbi, 1997; Bellwood *et al.*, 2004).

Se han realizado estudios a nivel genético que han estimado la dispersión de propágulos entre comunidades arrecifales. Estos estudios se han llevado a cabo principalmente en la Gran Barrera Arrecifal de Australia (Ayre y Hughes, 2000; 2004), aunque también se han realizado estudios en Brasil (Neves *et al.*, 2008), Hong Kong (Ng y Morton, 2003), y en Japón (Nishikawa y Sakai, 2003; 2005). Los estudios de genética poblacional, con sus diferentes métodos analíticos, han sido de vital importancia debido a que se ha brindado un mejor entendimiento de la contribución de las diferentes estrategias de reproducción (sexual y asexual) en la composición genética de las poblaciones y sus repercusiones en el reclutamiento; se ha estimado la variabilidad

genética de las poblaciones, el flujo genético, así como los niveles de estructuración genética poblacional (Palumbi, 1997; Ayre y Hughes, 2000, 2004).

Para la región del Pacífico mexicano (PM) se conocen diversos fenómenos naturales capaces de afectar las comunidades coralinas, tales como las tormentas y huracanes (Ketchum y Reyes-Bonilla, 2001; Reyes-Bonilla, 2003), el aumento en la sedimentación, diferentes grados de turbidez, además del aporte de nutrientes por las desembocaduras de ríos permanentes (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Ochoa-López *et al.*, 1998; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Reyes-Bonilla, 2003). Es importante señalar que el aumento de la temperatura superficial, al menos por la influencia de eventos ENSO (El Niño Oscilación Sureña), han causado mortalidades masivas en los sistemas arrecifales coralinos mexicanos (Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002; Iglesias-Prieto *et al.*, 2003; Reyes-Bonilla, 2003). Particularmente, el ENSO del 1997-98 provocó grandes mortalidades en las principales áreas de desarrollo coralino del PM: en el Golfo de California fue de 18 % (Reyes-Bonilla *et al.*, 2002), en Jalisco y Nayarit del 96% (Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002), y del 60% en Oaxaca (Reyes-Bonilla, 2003). No obstante, de los efectos negativos del ENSO, se ha observado que la recuperación de los arrecifes mexicanos no depende únicamente de la llegada de propágulos desde lugares lejanos del Pacífico, sino también mediante las colonias que han sobrevivido a estos eventos y que fueron capaces de reproducirse y reclutarse localmente (Glynn y Wellington, 1983; Glynn y Ault, 2000; Medina-Rosas *et al.*, 2005).

Los arrecifes del PM están compuestos principalmente por dos géneros coralinos *Pocillopora* y *Porites* (Reyes-Bonilla, 2003); ambos poseen a las principales especies constructoras de arrecifes en el mundo (Glynn y Ault, 2000). El coral *Porites panamensis* es una de las especies que se encuentra distribuida ampliamente en el Pacífico Oriental Tropical, su distribución se limita hasta Panamá y solo esta ausente en islas oceánicas (Glynn y Ault, 2000; López-Pérez *et al.*, 2003; Paz-García y Reyes-Bonilla, 2006). Además, es una de las más importantes del PM debido que es el más

abundante en la parte media y norte del GC (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; López-Pérez *et al.*, 2003; Paz-García y Reyes-Bonilla, 2006) y posee un amplio intervalo de tolerancia térmica (13.7-30.8 °C; Halfar *et al.*, 2005, 2006). La especie es gonocórica, posee una fecundación interna, sus colonias comienzan a reproducirse a una talla pequeña de 5 cm<sup>2</sup> y se reproduce de manera estacional en los meses cálidos en las costas de Jalisco y Oaxaca (Vizcaíno-Ochoa, 2003; Rodríguez-Troncoso, 2006), y la mayor parte del año al Sur del Golfo de California y Panamá (Glynn *et al.*, 1994; Mora-Pérez, 2005). Se ha observado que la reproducción asexual por fragmentación no desempeña un papel importante en su reclutamiento, como se ha encontrado en otras especies de pocilloporidos del PM (Glynn *et al.*, 1994; Reyes-Bonilla y Caderón-Aguilera, 1994; Reyes-Bonilla, 2003). Las larvas de *Porites panamensis* son expulsadas por las colonias femeninas, se fijan a unos pocos metros de las colonias parentales y quizás esto refleje una capacidad limitada de dispersión (Glynn *et al.*, 1994; Glynn y Ault, 2000; Paz-García, 2005). Las características biológicas mencionadas de la especie hacen que posea una lenta recuperación a disturbios naturales. Tal como se ha observado en los arrecifes de Centroamérica donde casi desapareció por completo después de eventos de mortalidad masiva ocasionados por el ENSO de 1982-83 (Guzmán *et al.*, 1987; Weil, 1992a, b; Glynn *et al.*, 1994). En México, se ha observado que el reclutamiento de esta especie ha disminuido cuando los eventos ENSO se han presentado (Reyes-Bonilla y Caderón-Aguilera, 1994), pero a diferencia de los arrecifes de Centroamérica, se ha demostrado que la especie continua reproduciéndose y sus larvas se reclutan localmente (Medina-Rosas *et al.*, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007). Se han realizado estudios genéticos en la especie *P. panamensis* en el Golfo de California (Paz-García, 2005) y Pacífico panameño (Weil, 1992a, b), pero estos han sido con enfoques taxonómicos. Por su parte, Paz-García *et al.* (2009) ha encontrado que diferentes comunidades coralinas de la especie *Porites panamensis* con una distancia de hasta 250 km de separación en el Golfo de California, muestran una ligera diferenciación genética como se observado en otras especies incubadoras (Hellberg, 1996; Maier *et al.*, 2005). El autor sugiere que esta diferenciación genética es posible que se deba a un mayor intercambio genético entre las poblaciones del GC que el que se había pensado previamente por otros autores (*e.g.*

Glynn *et al.*, 1994; Glynn y Ault, 2000). Es importante señalar que actualmente se están realizando estudios para analizar la variación genética, la contribución de las estrategias reproductivas en la composición genética de las poblaciones y el flujo genético que presentan las poblaciones de las especies *Pavona gigantea* (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2007), *Pocillopora damicornis* (Chávez-Romo *et al.*, 2007; 2009) y *Porites panamensis* (Paz-García *et al.*, 2007; 2009) en el PM. Estos estudios son importantes para proporcionar información acerca de la capacidad de dispersión que tienen las especies, conocer el grado de estructuración poblacional y entender las relaciones genéticas entre las comunidades coralinas. Además, la contribución de la estrategia reproductiva (sexual y asexual) en la composición genética de las poblaciones ayuda a tener una mejor comprensión de sus efectos en las poblaciones, sus repercusiones en el reclutamiento y permite confirmar los resultados obtenidos en los estudios de la biología de la reproducción de la especie analizada. Así también, la comprensión de los patrones de variación genética y los procesos que influyen dentro y entre las zonas arrecifales, son fundamentales para estimar la salud genética de las especies coralinas en estos ecosistemas. Con lo anterior se podrá tener mejores elementos para un manejo adecuado de los recursos marinos y por tanto de la biodiversidad.

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo General

- Realizar una caracterización genética a nivel alozímico y determinar el grado de estructuración genética entre las poblaciones del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 en las tres principales áreas de desarrollo coralino del Pacífico mexicano: Golfo de California, Bahía de Banderas y Oaxaca.

### 2.2 Objetivos Particulares

- Describir la variación alélica y genotípica de seis poblaciones de *P. panamensis* a lo largo del Pacífico mexicano.
- Analizar la contribución de la reproducción sexual y asexual en la composición genética de las poblaciones de *P. panamensis*, con base al número de colonias clones ( $N_c$ ), número único de multigenotipos ( $N_g$ ) y al índice de diversidad genotípica ( $G_o:G_e$ ).
- Estimar la distancia genética y determinar la posible estructuración genética entre seis poblaciones de *P. panamensis* en el Pacífico mexicano.

### 3. Materiales y Métodos

#### 3.1 Trabajo de campo

La recolecta de ejemplares se realizó en las tres principales áreas donde existe el mayor desarrollo de estructuras arrecifales en el occidente del país (Reyes-Bonilla, 2003): Golfo de California (GC), en Bahía de Banderas (BB), Nayarit y Jalisco y al sur de Oaxaca (OAX). En el GC las recolectas se realizaron en cuatro zonas: Bahía de Los Ángeles (BLA), Bahía Concepción (BCO), sur de Bahía de La Paz (BLP) y al sur de Bahía de La Ventana (PAV, Fig. 1a-d). En BB y OAX se recolectó en Isla Redonda (Fig. 1e) y en La Entrega (Fig. 1f), respectivamente. La información sobre las localidades de recolecta, las coordenadas, el número de organismos, la profundidad y las fechas del trabajo de campo, se encuentra en la Tabla I.

En cada zona se recolectaron entre 20 y 34 fragmentos coralinos del coral *P. panamensis*, a una profundidad de 0 a 9 metros (Tabla I). La recolecta se realizó con ayuda de buceo autónomo (SCUBA), y los ejemplares se desprendieron desde la base mediante cincel y martillo. Una vez en superficie, los fragmentos fueron colocados en cubetas con agua de mar y se transportaron a tierra para ser almacenados en nitrógeno líquido o en hielo.

Los fragmentos provenientes del Golfo de California fueron transportados al laboratorio de Bioquímica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en La Paz, B. C. S. y posteriormente al Laboratorio de Genética y Biogeografía Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California en la ciudad de Ensenada. Los fragmentos de BB y OAX fueron transportados por avión en hieleras a 4°C desde su procedencia hasta la ciudad de Ensenada. Una vez en el laboratorio, los fragmentos se mantuvieron entre -20 y -80°C con el fin de preservar intacta la función biológica de las enzimas (Weil, 1992a, b; Weil y Weigt, 1996).

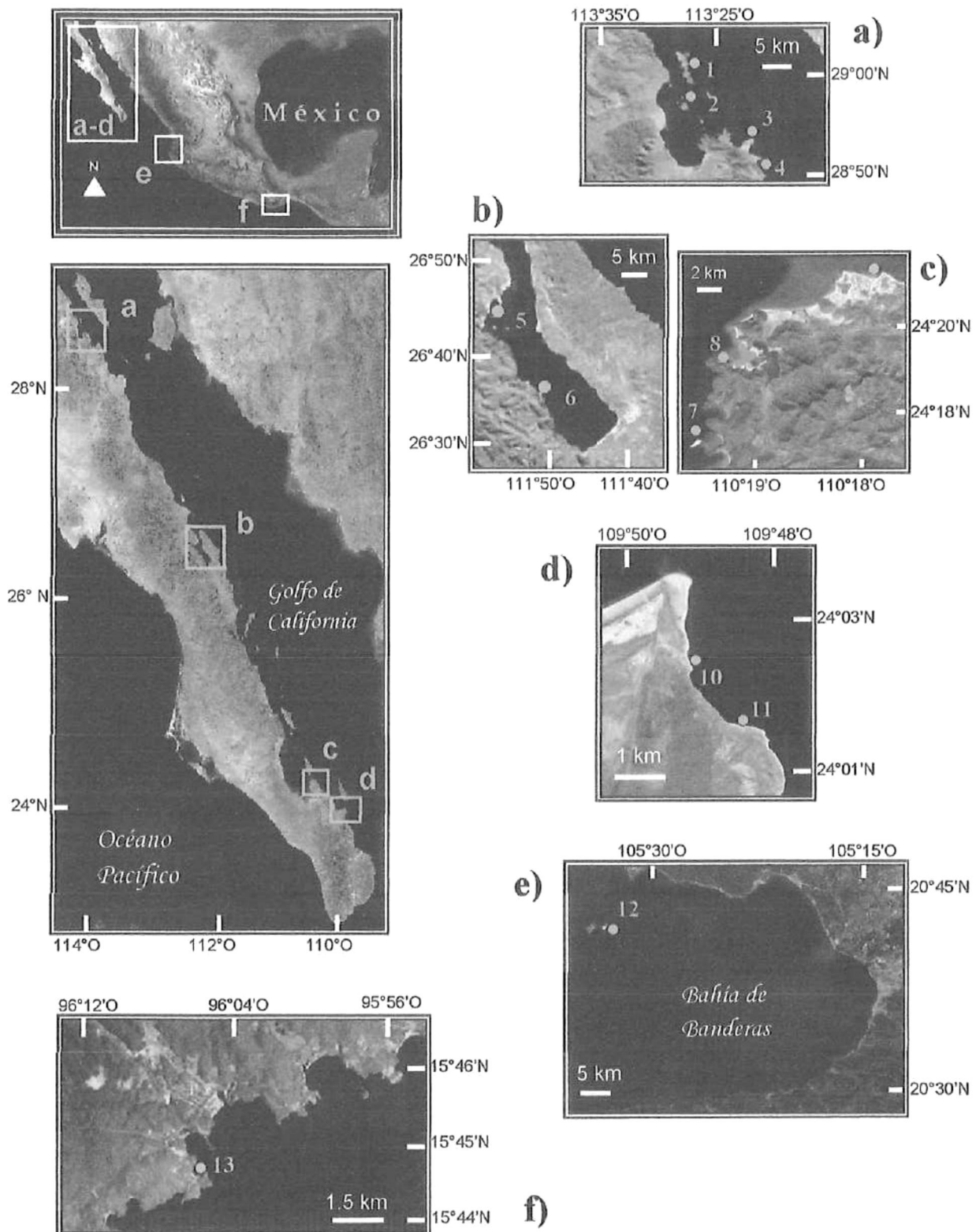


Figura 1. Zonas con localidades donde se realizaron las recolectas. a) Bahía de Los Ángeles, b) Bahía Concepción, c) Sur de Bahía de La Paz, d) Sur de Bahía de La Ventana, e) Bahía de Banderas, f) Bahías de Huatulco. Los números corresponden a las localidades de la Tabla I.

**Tabla 1.** Información sobre las localidades donde se realizó la recolección de muestras.

Zonas / Localidades	Coordenadas	N	Profundidad	Fecha de recolecta
<b>a) Bahía de Los Ángeles (BLA, Norte GC)</b>			2 – 7 m	Agosto 2004
1 - Isla Smith	29°04'31''N, 113°30'08''O	4		
2 - Punta La Ventana	28°59'25''N, 113°29'42''O	6		
3 - Punta Quemada	28°56'55''N, 113°25'25''O	5		
4 - Punta El Soldado	28°52'34''N, 113°21'37''O	5		
<b>b) Bahía Concepción (BCO, Centro GC)</b>			0.5 – 3 m	Agosto 2004
5 - Santispak	26°45'44''N, 111°53'29''O	10		
6 - El Requesón	26°38'27''N, 111°49'45''O	10		
<b>c) Sur Bahía de La Paz (BLP, Sur GC)</b>				
7 - El Faro	24°17'44''N, 110°20'44''O	2	3 – 7 m	Julio 2004
8 - Balandra	24°19'02''N, 110°19'57''O	6	0.5 – 3 m	Julio 2004
9 - Punta Galeras	24°21'14''N, 110°17'01''O	12	0.5 – 3 m	Mayo 2006
<b>d) Sur Bahía La Ventana (Entrada GC)</b>				
10 - Punta Arena	24°02'38''N, 109°49'32''O	26	1 – 5 m	Agosto 2005 y Diciembre 2006
11 - Punta Perico	24°01'55''N, 109°48'50''O	8	1 – 4 m	Agosto 2005
<b>e) Bahía de Banderas (BB, Entrada GC)</b>				
12 - Isla Redonda	20°42'03''N, 105°33'52''O	20	2 – 9 m	Septiembre 2006
<b>f) Bahías de Huatulco, Oaxaca (OAX, Sur PM)</b>				
13 - La Entrega	15°44'40''N, 96°07'35''O	25	3 – 6 m	Diciembre 2006

N = Número de fragmentos recolectados en cada localidad.

### ***3.2 Trabajo de Laboratorio***

Para analizar la variación enzimática entre las poblaciones del coral *P. panamensis*, se empleó el método de electroforesis vertical en geles discontinuos de poliacrilamida (Laemmli, 1970; Chrambach y Rodbard, 1971). Se revisaron 20 sistemas enzimáticos (Tabla II). Las soluciones histoquímicas y condiciones de electroforesis fueron basadas en estudios realizados en el género *Porites* (Weil, 1992a, b; Weil y Weigt, 1996; Garthwaite *et al.*, 1994), en la especie bajo estudio (Paz-García, 2005), en estudios de invertebrados marinos realizados en el laboratorio de Genética y Biología Molecular de la UABC (Licona-Chávez *et al.*, 2007) y protocolos para geles de poliacrilamida (Manchenko, 1994).

**Tabla II.** Sistemas enzimáticos probados en el presente estudio.

E.C.*	Enzima	Abreviación	Estructura cuaternaria
<b>Oxido-reductasas</b>			
1.1.1.8	Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa	GPD	D
1.1.1.37	Malato deshidrogenasa	MDH	D
1.1.1.40	Enzima Málica	ME	T
1.1.1.42	Isocitrato deshidrogenasa	IDH	D
1.1.1.49	Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa	G6PD	D
1.4.1.3	Glutamato deshidrogenasa	GDH	H
1.11.1.6	Catalasa	CAT	T
1.17.1.4	Xantina deshidrogenasa	XDH	T
<b>Transferasas</b>			
2.7.1.1	Hexoquinasa	HK	M
2.7.4.3	Adelinato Kinasa	AK	M
<b>Hidrolasas</b>			
3.1.1.1	Carboxyesterasa	EST	M
3.1.3.1	Fosfatasa alcalina	ALP	D
3.1.3.2	Fosfatasa ácida	ACP	M
3.4.11.1	Leucil aminopeptidasa	LAP	M
3.4.11.4	Leucil aminopeptidasa tipo B Leucil-glicina-glicina	LGG	M
<b>Isomerasas</b>			
5.4.2.2	Fosfoglucomutasa	PGM	M
5.3.1.8	Manosa-6-fosfato isomerasa	MPI	M
5.3.1.9	Glucosa fosfato isomerasa	PGI	D

Abreviaciones: M = monomérica, D = dimérica, T = Tetramérica, H = Hexamérica. \* Comisión de Enzimas del Comité de Nomenclatura para la Unión Internacional de Bioquímica.

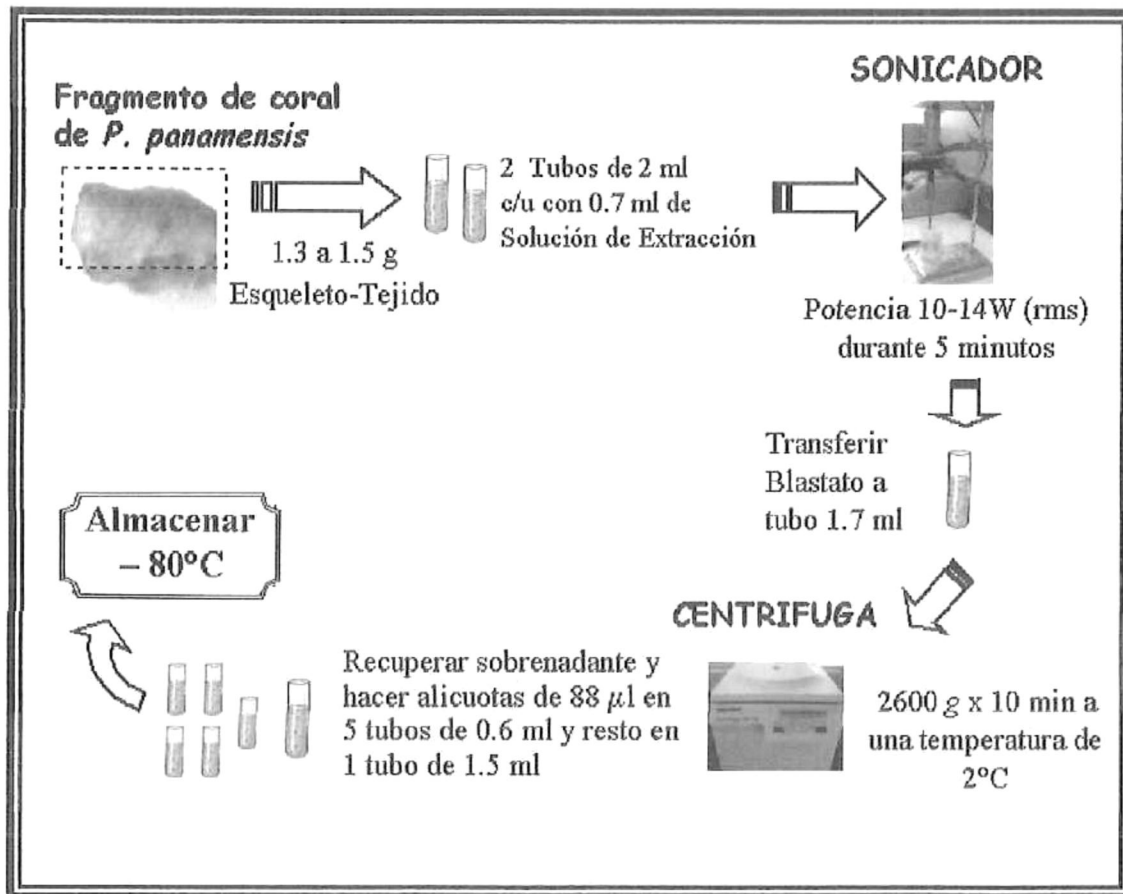
### 3.2.1 Extracción de tejido coralino y preparación de muestras

Las piezas de coral se enjuagaron con agua destilada para eliminar partículas de arena, segmentos de algas e invertebrados. Posteriormente, se fragmentó el coral con ayuda de martillo y cincel para obtener una superficie de tejido-esqueleto de aproximadamente 0.5 x 0.5 cm. Durante este proceso, las muestras se mantuvieron sobre charolas frías y, después de la fragmentación, fueron colocados en hielo para evitar la desnaturalización de las proteínas.

Los fragmentos de tejido-esqueleto se colocaron en dos tubos Eppendorf de 2 ml, cada uno con 1.3 a 1.5 g. Posteriormente, se agregó en cada tubo 0.7 ml de la solución modificada de Stoddart para la extracción de tejido coralino (Stoddart, 1983; Weil, 1992b; Anexo I). Es importante señalar que la utilización de la solución modificada de Stoddart no se recomienda para el análisis de sistemas enzimáticos que utilizan como cofactor el NAD. La solución de extracción posee dentro de sus componentes NADP que es utilizado para estabilizar las deshidrogenasas que utilizan como cofactor al NADP, por esta razón puede causar modificaciones en las reacciones de otros sistemas enzimáticos no dependientes de este cofactor (Harris y Hopkinson, 1978; Richardson *et al.*, 1986).

Los tubos con la solución de extracción fueron agitados con un vortex y puestos en un desmembrador sónico Fisher Scientific modelo 100. Durante el proceso de extracción de tejido coralino, los frascos se mantuvieron en un baño con hielo para evitar la desnaturalización de proteínas. Las muestras fueron sonicadas con una potencia de salida de 10-14 watts (rms) durante cinco minutos. Los tubos se colocaron en un vortex unos segundos para ayudar a terminar de desprender el tejido coralino del esqueleto y para homogenizar el blastato obtenido (mezcla de tejido coralino, zooxantelas y solución de extracción). El blastato fue transferido a un tubo nuevo Eppendorf de 1.5 ml y fue centrifugado a 2600 g (5000 rpm) durante diez minutos a 2°C. El paso de la centrifugación es necesario para minimizar la posibilidad de contaminación de las

microalgas simbiotas (Stoddart, 1983; LaJeunesse *et al.*, 2004) y obtener un concentrado depurado de enzimas del coral como sobrenadante. Después de la centrifugación, se hicieron alícuotas del sobrenadante y se almacenaron entre  $-20$  y  $-80^{\circ}\text{C}$  hasta su posterior análisis. Un esquema simplificado del proceso de extracción de tejido coralino se muestra en la figura 2.



**Figura 2.** Esquema simplificado del proceso de extracción de tejido en *P. panamensis*.

### 3.2.2 Determinación de Concentración de Proteínas de las muestras

En el presente estudio, la concentración de proteína de cada extracto se obtuvo mediante el método espectrofotométrico de Bradford (1976). Esta medición permitió colocar una cantidad constante de proteína de cada muestra para los ensayos electroforéticos.

Se realizó una curva de calibración con albúmina de suero bovino como estándar en un intervalo de 0.5 a 4  $\mu\text{g}$  de proteína. En cada celda para espectrofotómetro se colocaron 60  $\mu\text{l}$  de muestra con diluciones variables (*e.g.* 1:30, 1:50) para que estuvieran dentro de la curva de calibración, se agregaron 540  $\mu\text{l}$  del Reactivo de Bradford y se leyeron a 595 nm en un espectrofotómetro. La concentración de proteína fue obtenida mediante las mediciones de absorbancia y la curva de calibración mediante el programa de aplicación *Bradford Micro* con el que cuenta el espectrofotómetro Genesys 5.

### 3.2.2 Electroforesis

Se prepararon geles discontinuos de acrilamida-bisacrilamida con un porcentaje gel separador concentrador de 6 y 8 % T (Tabla III). Con base en la concentración de proteína total que se obtuvo en cada extracto coralino y a la enzima analizada, se colocaron entre 15 y 90  $\mu\text{l}$  de muestra (20 a 40  $\mu\text{g}$  de proteína total) y 4  $\mu\text{l}$  buffer de carga en cada carril del gel (Anexo I). Los geles fueron colocados en cámaras para electroforesis con el buffer para corrimiento 1X (Anexo I) y puestos en refrigeración a 4°C. La electroforesis se llevó a cabo mediante una fuente de poder programable (modelo 3000p VWR Scientific); las condiciones eléctricas fueron 120 V, 50 mA y 15 W por cada cuatro celdas. La duración de la electroforesis fue aproximadamente de tres horas (Tabla III). Una vez terminada la electroforesis, se retiraron los geles concentrador y separador, y este último gel se colocó en la solución histoquímica específica para cada sistema enzimático (Anexo III).

**Tabla III.** Sistema enzimático, porcentaje de T y C del gel separador,  $\mu\text{g}$  de proteína total para observar actividad, duración de electroforesis y tiempo de tinción aproximado para *Porites panamensis*.

Sistema Enzimático	% T	% C	$\mu\text{g}$ de proteína total	Duración de la electroforesis (horas)	Duración aproximada de la tinción (horas : minutos)
ME	8	0.71	40	3	0:45 a 2:00
GDH	6	0.54	25	2	0:45 a 2:30
EST	8	0.71	30	3	0:45 a 1:30
LGG	6	0.54	25	2	0:45 a 2:30

### 3.2.3 Actividad enzimática

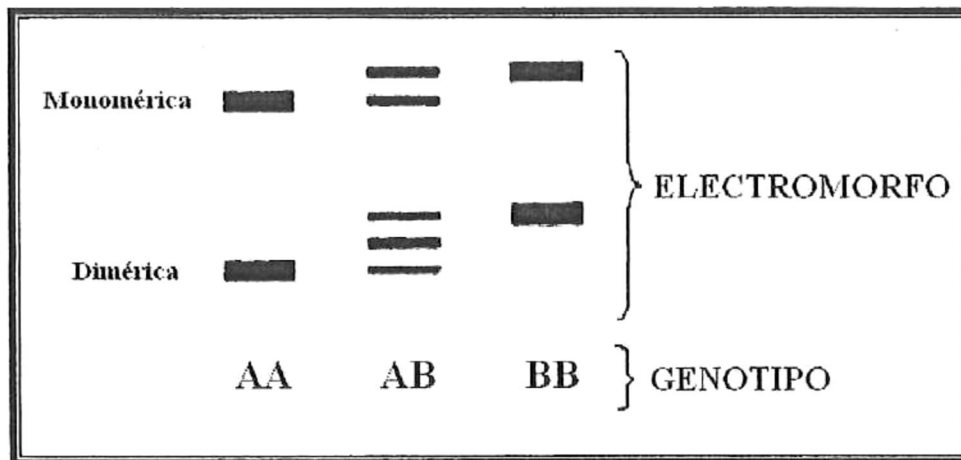
Se prepararon soluciones histoquímicas para evidenciar la actividad enzimática (Anexo III). Cada gel se colocó en 45 ó 50 ml de solución y fueron puestos a 37°C en una incubadora en oscuridad hasta que se observaron las bandas. El tiempo de aparición de las bandas fue variable para cada sistema enzimático (Tabla III). Después de la aparición de los zimogramas, los geles fueron fijados con etanol al 50 % (Manchenko, 1994).

### 3.2.4 Registro de electromorfos y genotipos

El registro se realizó mediante una revisión visual de los geles sobre una lámpara de luz blanca, y con la anotación de la posición y número de bandas presentes. Los geles fueron fotografiados y preservados en bolsas de plástico para futuras referencias.

Los sistemas enzimáticos con actividad en más de un locus (multilocus) fueron asignados numerándolos en orden ascendente de movilidad catódica (por ejemplo, GDH-1, GDH-2, etc). Para nombrar las aloenzimas de un mismo locus se designó como A al alelo con mayor movilidad catódica, B al segundo más móvil y así sucesivamente.

Se consideraron homocigotos a los individuos cuyo electromorfo consistió en una sola banda y heterocigotos a aquellos que dependiendo de la estructura cuaternaria de la proteína, presentaron dos bandas para las monoméricas o tres para diméricas (De la Rosa-Velez y Rodríguez-Romero, 1989; Figura 3).



**Figura 3.** Representación esquemática de los electromorfos y su genotipo, correspondiente a la estructura cuaternaria de la enzima.

### 3.3 Análisis de datos

#### 3.3.1 Variabilidad genética

Con la información obtenida a partir de los zimogramas, se obtuvieron los siguientes estimadores genéticos:

**A) Frecuencias alélicas y genotípicas:** corresponden al número de veces que se presenta un alelo o genotipo en cada locus dentro de una población analizada.

**B) Número promedio de alelos por locus ( $N_a$ ):** es la media del número de alelos por locus considerando todos los loci y todas las poblaciones analizadas.

**C) Polimorfismo:** razón de loci polimórficos identificados y el total de loci analizados. Se siguió el criterio del 95 % para reportar los resultados obtenidos en el presente estudio; esto es, considerar un locus polimórfico si el alelo más común se presentó con una frecuencia  $\leq 0.95$  ( $P_{95}$ ). Es también común observar valores en polimorfismo con criterio del 99 % ( $P_{99}$ ).

**D) Heterocigosis:** Proporción de individuos que poseen más de un alelo por locus en una población. Se estimó con base en los siguientes criterios:

- **Heterocigosis observada ( $H_o$ ).** Obtenido por conteo directo. Es la proporción de individuos de la muestra que son heterocigotos.
- **Heterocigosis esperada ( $H_e$ ).** Se calculó a partir de las frecuencias alélicas mediante la estimación sin sesgo de Nei (1978), asumiendo el equilibrio teórico de Hardy-Weinberg.

$$H_e = \sum_{j=1}^r h_j / r \quad \text{donde:} \quad h = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{2n - 1}$$

$r$  = número de loci;  $x_i$  = corresponde a la frecuencia alélica en una muestra de la población;  $n$  = individuos diploides por locus;  $h_j$  es el valor de  $h$  para el  $j$  ésimo locus.

**E) Equilibrio de Hardy-Weinberg (HW):** El equilibrio fue probado mediante el análisis de bondad de ajuste de ji-cuadrada (Sokal y Rohlf, 1995). Se utilizó para contrastar las frecuencias genotípicas observadas con las esperadas por locus. Los grados de libertad se obtuvieron sustrayendo el número de genotipos del número de alelos (Swofford y Selander, 1981). Debido a que los heterocigotos son atípicos en el sistema enzimático GDH (Richardson *et al.*, 1986) y estuvieron ausentes en las poblaciones analizadas, se realizaron dos pruebas exactas del modelo de HW dentro de cada población: la primera fue realizada con todos los datos, mientras que en la segunda, no se incluyeron los datos del sistema enzimático GDH. Las pruebas fueron realizadas mediante el método de Fisher con ayuda del programa GENEPOP 3.3 (Raymond y Rousset, 1995). Se realizó la corrección secuencial de Bonferroni para reducir la posibilidad de cometer errores del tipo I (Rice, 1989).

**F) Deficiencia o exceso de heterocigotos (D) (Selander, 1970):** Si el valor del estadístico es negativo indica deficiencia, mientras que uno positivo representa un exceso de heterocigotos. El valor del estadístico es cero si las frecuencias genotípicas están en equilibrio de Hardy-Weinberg.

$$D = \frac{H_o - H_e}{H_e} \quad \text{donde } H_o = \text{heterocigosidad observada,} \\ H_e = \text{heterocigosidad esperada}$$

Los anteriores estimadores genéticos fueron calculados mediante el programa BIOSYS-1 (Swofford y Selander, 1981).

### 3.3.2 Estrategia reproductiva dominante

Tres métodos se utilizaron para analizar la contribución de la reproducción sexual y asexual en la composición genética de las poblaciones del coral *Porites panamensis*. Primero, se determinó el número de colonias clones ( $N_c$ ), el número único de multigenotipos ( $N_g$ ) y se obtuvo su porcentaje de contribución en cada una de las poblaciones. Segundo, se calculó la razón  $N_g:N$ , la cual representa una estimación máxima en la contribución de la reproducción asexual mediante un reclutamiento localizado (Ayre *et al.*, 1997), expresión donde  $N$  es el número de individuos analizados en la población. Valores cercanos a uno indican una dominancia de la reproducción sexual. Tercero, se calculó el índice de diversidad genotípica  $G_o:G_e$ , el cual representa la diversidad genotípica observada ( $G_o$ ) entre la esperada ( $G_e$ ) en condiciones de apareamiento aleatorio. La diversidad genotípica fue calculada de acuerdo a Stoddart y Taylor (1988). Se utilizó una prueba  $t$  para observar desviaciones entre  $G_o:G_e$  de la unidad, diferencias estadísticas en la prueba indican una dominancia en la estrategia reproductiva asexual (Stoddart y Taylor, 1988). Por otro lado, una población genéticamente variable con altos niveles de reclutas derivados de reproducción sexual presenta valores cercanos a uno en el índice (Stoddart y Taylor, 1988; Ayre *et al.*, 1997).

### 3.3.3 Diferenciación poblacional y flujo genético

El método de cadena de Markov fue utilizado para examinar diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre los pares de poblaciones, mediante el programa GENEPOP 3.3 (Raymond y Rousset, 1995). La identidad y distancia genética sin sesgo (Nei, 1978) entre las poblaciones fue calculada y esta última, fue utilizada para construir un dendrograma mediante la técnica aglomerativa de ligamiento promedio no ponderado (UPGMA), con ayuda del programa TFPGA versión 1.3 (Miller, 1997).

Se calcularon los estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ ) por locus de acuerdo a Weir y Cockerham (1984), así como su promedio y error estándar para todos los loci utilizando el procedimiento *jackknife* y su estimación asociada mediante *bootstrap* para determinar sus intervalos de confianza al 95%. Estos estadísticos estiman la estructura de la población y el grado de diferenciación genética entre las poblaciones.

a) El coeficiente de endogamia ( $F_{IS}$ ) mide la disminución de la heterocigosidad debido a los apareamientos no aleatorios dentro de la población. Los valores de  $F_{IS}$  van de  $-1$  (donde todos los individuos son heterocigotos) a  $+1$  (donde no se observan heterocigotos).

b) El coeficiente de endogamia total ( $F_{IT}$ ) mide la disminución de la heterocigosidad en el total de la población. Los valores del coeficiente van de  $-1$  a  $+1$  de la misma forma que el índice  $F_{IS}$ .

c) El índice de fijación ( $F_{ST}$ ), es empleado para comparar el grado de diferenciación genética existente entre poblaciones. Los valores de  $F_{ST}$  van de 0 a 1, valores cercanos a cero indican un alto nivel de flujo genético (Panmixia), valores diferentes estadísticamente de cero indican estructura o subdivisión poblacional y valores cercanos a 1 indican la fijación de alelos alternativos (Avice, 1994; Hartl y Clark, 1997).

Además se calculó el estadístico  $F_{ST}$  por pares de poblaciones para verificar los niveles de divergencia genética que existe entre las poblaciones debido al flujo genético y a los patrones de circulación oceánica. Para corroborar si existían diferencias significativas en los estadísticos  $F$  de Wright se utilizó el método de permutación alélica

(10 000 replicas) entre muestras mediante la prueba exacta G (Goudet *et al.*, 1996), mediante el programa FSTAT v. 2.8 (Goudet, 1995). Se realizó la corrección secuencial de Bonferroni para reducir la posibilidad de cometer errores del tipo I (Rice, 1989).

Se estimó el flujo genético entre las poblaciones mediante el número de migrantes por generación ( $N_e m = [(1/F_{ST})-1]/4$ ), donde  $N_e$  es el tamaño efectivo poblacional y  $m$  es la proporción de migrantes por generación (Ayre y Hughes, 2004). Para observar si existía una relación entre la divergencia genética y la distancia geográfica entre las poblaciones (aislamiento por distancia) se realizó la prueba Mantel con 10 000 permutaciones para obtener la significancia estadística en el programa GENEPOP 3.3 (Raymond y Rousset, 1995). Dos pruebas fueron realizadas: a) los valores del estadístico  $F_{ST}$  contra la distancia geográfica, y b) los valores de distancia genética (Nei, 1978) contra la distancia geográfica. La distancia geográfica entre las poblaciones fue obtenida mediante el programa Google Earth.

## 4. Resultados

### 4.1 Variabilidad genética

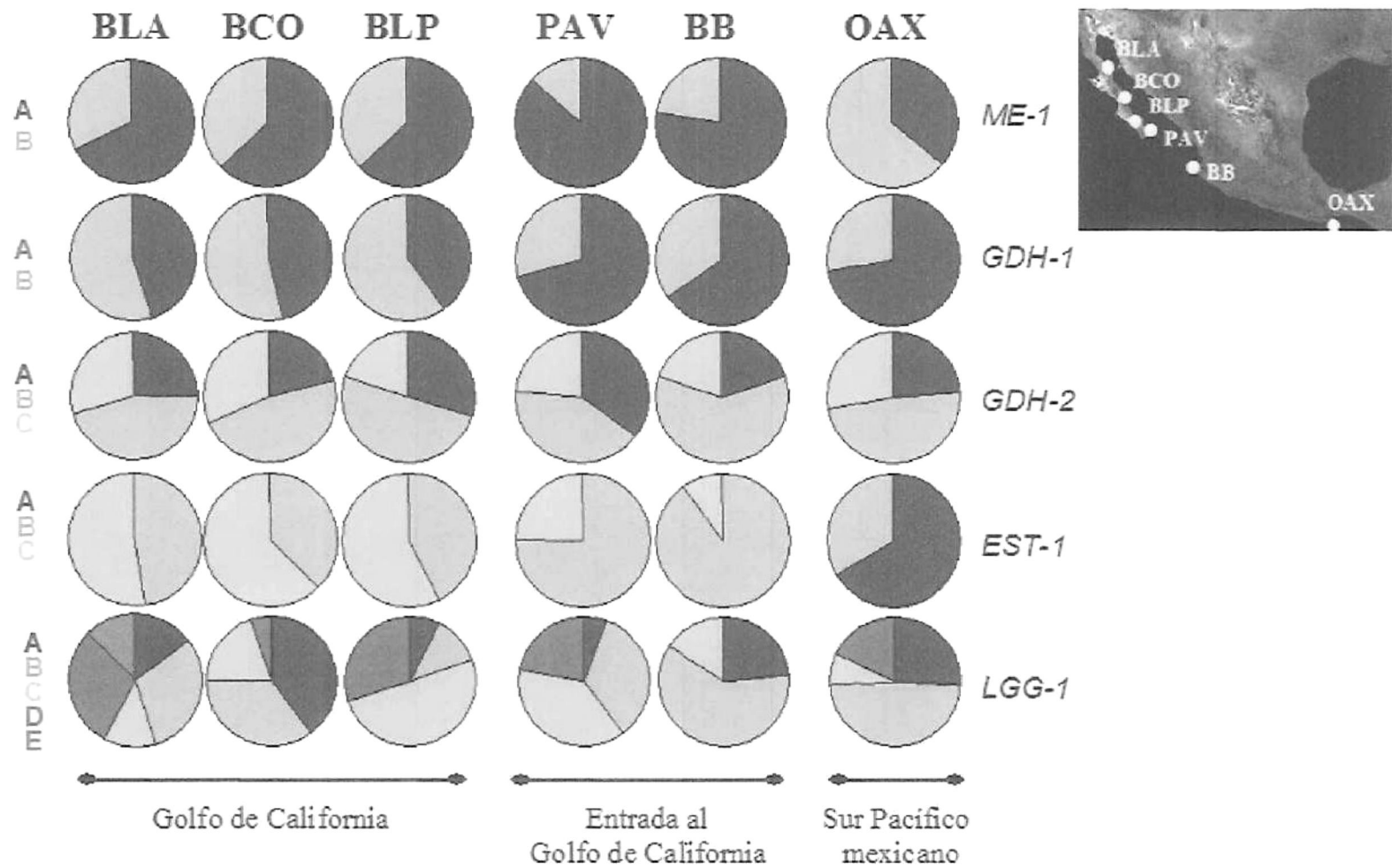
De los 18 sistemas enzimáticos que se probaron, solo en cuatro se obtuvieron resultados consistentes y pudieron ser analizados. Los cuatro sistemas enzimáticos dieron un total de cinco loci. Las frecuencias alélicas y genotípicas se presentan en la Tabla IV y V, respectivamente. Los electromorfos y registro de genotipos de cada sistema enzimático pueden observarse en el Anexo II.

La mayoría de los loci mostraron una composición alélica en grupos que corresponden a una cercanía geográfica de las poblaciones del coral *P. panamensis* (Tabla IV, Fig. 4); con excepción al locus *GDH-2* donde la composición alélica fue similar en todas las poblaciones analizadas. El alelo *ME-1<sup>A</sup>* fue el más abundante en las poblaciones dentro del Golfo de California (BLA, BCO y BLP) y entrada al golfo (PAV y BB), mientras que en OAX fue el alelo *ME-1<sup>B</sup>* (Tabla IV, Fig. 4). El alelo *GDH-1<sup>B</sup>* fue el dominante dentro del GC, y en el resto de las poblaciones el alelo *GDH-1<sup>A</sup>* (Tabla IV, Fig. 4). Una composición de tres grupos fue observada en el locus *EST-1*, donde las poblaciones del GC presentaron una dominancia del alelo *EST-1<sup>C</sup>*, las poblaciones de la entrada del GC (PAV y BB) el alelo *EST-1<sup>B</sup>* y en OAX el alelo *EST-1<sup>A</sup>* fue el más abundante (Tabla IV, Fig. 4). El locus *LGG-1* mostró una mayor variación alélica en la población de BLA y la menor en BB. El alelo *LGG-1<sup>B</sup>* fue el más abundante en las poblaciones de BB y OAX, el alelo *LGG-1<sup>C</sup>* en las poblaciones de BLP y PAV, el alelo *LGG-1<sup>A</sup>* para la población de BCO y dos alelos (*LGG-1<sup>B</sup>* y *LGG-1<sup>D</sup>*) compartieron la mayor frecuencia observada en la población de BLA (Tabla IV, Fig. 4). Es importante señalar que el alelo *EST-1<sup>A</sup>* y el alelo *LGG-1<sup>E</sup>* solo se observaron en las poblaciones de OAX y BLA, respectivamente (Tabla IV, Fig. 4).

**Tabla IV.** Frecuencias alélicas de cinco loci en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano.

<i>Población</i>	<i>BLA</i>	<i>BCO</i>	<i>BLP</i>	<i>PAV</i>	<i>BB</i>	<i>OAX</i>
LOCI						
<i>ME-1</i>						
N	20	20	20	34	20	25
A	0.675	0.625	0.625	0.868	0.775	0.360
B	0.325	0.375	0.375	0.132	0.225	0.640
<i>GDH-1</i>						
N	20	13	20	34	20	25
A	0.450	0.462	0.400	0.706	0.650	0.720
B	0.550	0.538	0.600	0.294	0.350	0.280
<i>GDH-2</i>						
N	20	19	20	34	20	25
A	0.250	0.210	0.300	0.353	0.200	0.240
B	0.450	0.474	0.500	0.412	0.600	0.480
C	0.300	0.316	0.200	0.235	0.200	0.280
<i>EST-1</i>						
N	20	20	20	34	20	25
A	—	—	—	—	—	0.660
B	0.475	0.375	0.425	0.750	0.900	0.340
C	0.525	0.625	0.575	0.250	0.100	—
<i>LGG-1</i>						
N	20	20	20	34	19	25
A	0.150	0.400	0.075	0.059	0.237	0.260
B	0.300	0.350	0.125	0.338	0.605	0.480
C	0.125	0.200	0.500	0.382	0.158	0.080
D	0.300	0.050	0.300	0.221	—	0.180
E	0.125	—	—	—	—	—

Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca. — = alelos no observados; N = número de individuos analizados.



**Figura 4.** Frecuencias alélicas en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Alelos observados A, B, C, D y E (Tabla 4). BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca.

La mayoría de los loci mostraron una composición genotípica en grupos similar a la composición alélica (Tabla V, Fig. 5). En el locus *ME-1*, los genotipos más abundantes de las poblaciones dentro del GC fueron *ME-1<sup>AA</sup>* y *ME-1<sup>AB</sup>*, en las poblaciones de la entrada al golfo fue el genotipo *ME-1<sup>AA</sup>* y en OAX fueron *ME-1<sup>AB</sup>* y *ME-1<sup>BB</sup>* (Tabla V, Fig. 5). En el locus *GDH-1* el genotipo dominante dentro del GC fue el *GDH-1<sup>BB</sup>*, y en el resto de las poblaciones *GDH-1<sup>AA</sup>* (Tabla V, Fig. 5). En *GDH-2*, los genotipos más frecuentes en las poblaciones de BLA y BCO fueron *GDH-2<sup>BB</sup>* y *GDH-2<sup>CC</sup>*, en las poblaciones de BLP y PAV fueron los genotipos *GDH-2<sup>AA</sup>* y *GDH-2<sup>BB</sup>*, y el genotipo *GDH-2<sup>BB</sup>* fue el más frecuente en el resto de las poblaciones (BB y OAX; Tabla V, Fig. 5). En el locus *EST-1*, las poblaciones del GC presentaron una dominancia de los genotipos *EST-1<sup>BB</sup>*, *EST-1<sup>BC</sup>* y *EST-1<sup>CC</sup>*, en la entrada al GC el genotipo *EST-1<sup>BB</sup>* y en OAX el genotipo *EST-1<sup>AA</sup>* fue el más abundante (Tabla V, Fig. 5). En el locus *LGG-1* los genotipos más abundantes fueron *LGG-1<sup>AB</sup>* y *LGG-1<sup>DD</sup>* en BLA; *LGG-1<sup>AA</sup>* y *LGG-1<sup>BB</sup>* en las poblaciones de BCO y BB; los genotipos *LGG-1<sup>CC</sup>* y *LGG-1<sup>DD</sup>* en BLP; *LGG-1<sup>BB</sup>*, *LGG-1<sup>CC</sup>* y *LGG-1<sup>DD</sup>* en PAV; la población de OAX tuvo los genotipos *LGG-1<sup>AB</sup>* y *LGG-1<sup>BB</sup>* como los más frecuentes. Las poblaciones que presentaron mayores variaciones genotípicas fueron las poblaciones de BLA, PAV y OAX. La población con mayores variantes genotípicas fue BLA y la menor fue en BB (Tabla V, Fig. 5). Además es importante señalar que se observaron genotipos exclusivos en las poblaciones de BLA (*LGG-1<sup>DE</sup>* y *LGG-1<sup>EE</sup>*) y OAX (*EST-1<sup>AA</sup>* y *EST-1<sup>AB</sup>*). Por su parte, los dos loci analizados del sistema enzimático *GDH* presentaron homocigotos en todos los individuos (Tabla V, Anexo III).

Se pudieron observar tres grupos con una composición alélica y genotípica similar en las poblaciones: un primer grupo compuesto por las poblaciones que se encuentran dentro del Golfo de California (BLA, BCO y BLP); un segundo grupo que contiene las poblaciones que se ubican en la entrada del golfo (PAV y BB); y un tercero compuesto por la población de OAX que se localiza al sur del Pacífico mexicano (Figs. 4 y 5).

**Tabla V.** Frecuencias genotípicas de cinco loci en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano.

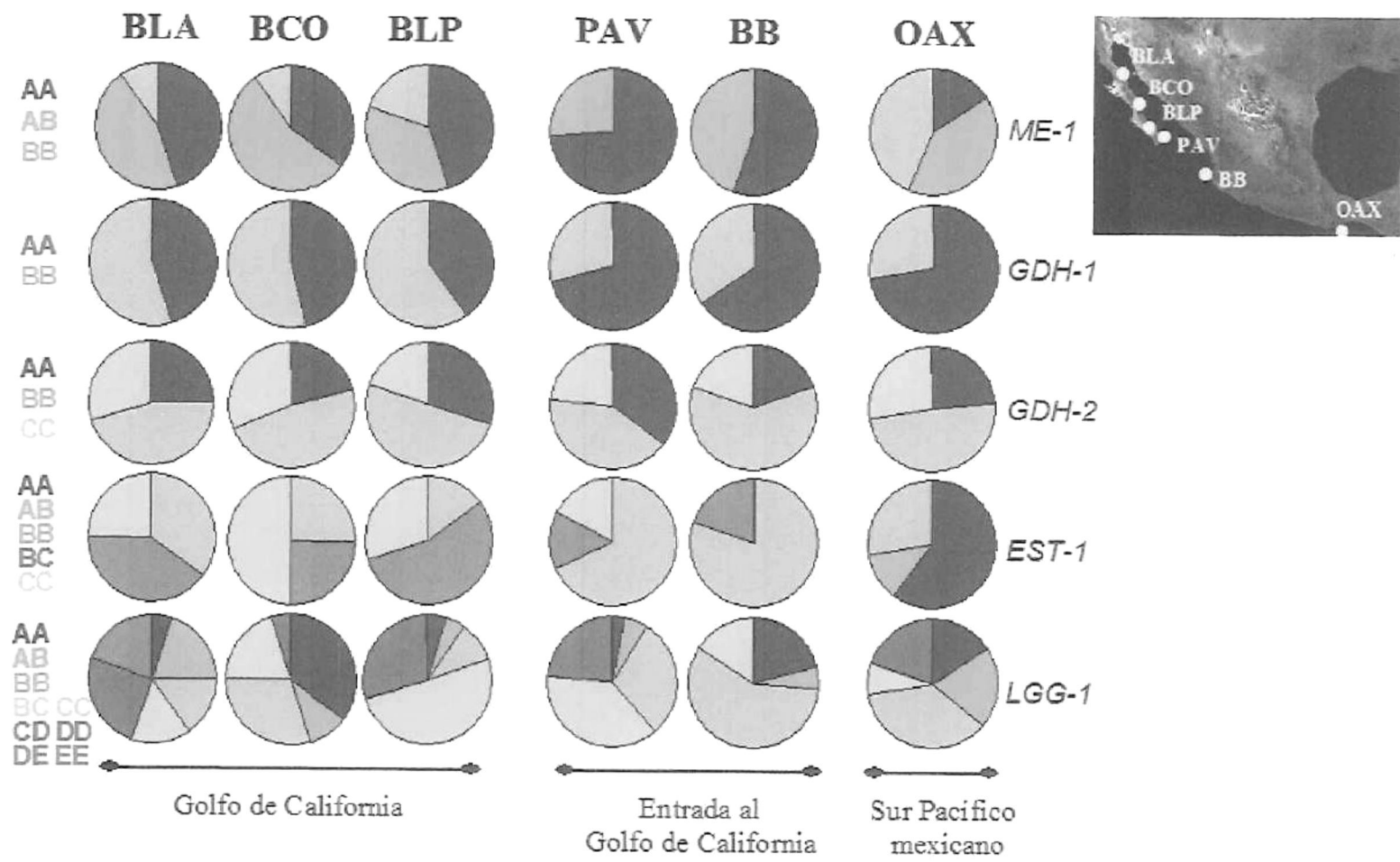
<i>Población</i>	<i>BLA</i>	<i>BCO</i>	<i>BLP</i>	<i>PAV</i>	<i>BB</i>	<i>OAX</i>
LOCUS						
ME-1						
N	20	20	20	34	20	25
AA	0.450	0.350	0.450	0.735	0.550	0.160
AB	0.450	0.550	0.350	0.265	0.450	0.400
BB	0.100	0.100	0.200	—	—	0.440
Ho	0.450	0.550	0.350	0.265	0.450	0.400
He	0.450	0.481	0.481	0.233	0.358	0.470
D	0.000	0.144	-0.272	0.136	0.258	-0.149
X <sup>2</sup> (g.l.)	0.000 (1)	0.440 (1)	1.569 (1)	0.694 (1)	1.471 (1)	0.585 (1)
P	1.000	0.507	0.210	0.405	0.225	0.444
	NS	NS	NS	NS	NS	NS
GDH-1						
N	20	13	20	34	20	25
AA	0.450	0.462	0.400	0.706	0.650	0.720
BB	0.550	0.538	0.600	0.294	0.350	0.280
Ho	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
He	0.508	0.517	0.492	0.421	0.467	0.411
D	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
X <sup>2</sup> (g.l.)	21.076 (1)	14.098 (1)	21.148 (1)	35.476	21.280 (1)	26.585 (1)
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	***	***	***	***	***	***
GDH-2						
N	20	19	20	34	20	25
AA	0.250	0.211	0.300	0.353	0.200	0.240
BB	0.450	0.474	0.500	0.412	0.600	0.480
CC	0.300	0.316	0.200	0.235	0.200	0.280
Ho	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
He	0.662	0.649	0.636	0.660	0.574	0.647
D	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
X <sup>2</sup> (g.l.)	43.586 (3)	41.913 (3)	44.085 (3)	71.431	44.919 (3)	53.677 (3)
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	***	***	***	***	***	***

Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca. — = genotipos no observados; N = número de individuos analizados. Ho = Heterocigosis observada por conteo directo; He = heterocigosis esperada por estimación sin sesgo de Nei (1978). D = Valores positivos del estadístico sugieren exceso y valores negativos deficiencia de heterocigotos. X<sup>2</sup> = Valor del estadístico Ji-cuadrada; g.l. = grados de libertad. Nivel de significancia después de corrección Secuencial de Bonferroni : NS = No significativo, \*p<0.05, \*\*\* p<0.001.

continuación . . . Tabla V

<i>Población</i>	<i>BLA</i>	<i>BCO</i>	<i>BLP</i>	<i>PAV</i>	<i>BB</i>	<i>OAX</i>
LOCUS						
EST-1						
N	20	20	20	34	20	25
AA	—	—	—	—	—	0.600
AB	—	—	—	—	—	0.120
BB	0.350	0.250	0.150	0.676	0.800	0.280
BC	0.400	0.250	0.550	0.147	0.200	—
CC	0.250	0.500	0.300	0.176	—	—
Ho	0.350	0.250	0.550	0.147	0.200	0.120
He	0.512	0.481	0.501	0.381	0.185	0.458
D	- 0.316	- 0.480	0.097	- 0.614	0.083	- 0.738
X <sup>2</sup> (g.l.)	2.100 (1)	4.886 (1)	0.199 (1)	13.466 (1)	0.181 (1)	14.321 (1)
P	0.147	0.027	0.655	0.000	0.671	0.000
	NS	NS	NS	***	NS	***
LGG-1						
N	20	20	20	34	19	25
AA	0.050	0.350	0.050	0.029	0.211	0.160
AB	0.200	0.100	0.050	0.059	0.053	0.200
BB	0.150	0.300	0.100	0.294	0.579	0.360
BC	0.100	—	—	0.029	—	0.040
CC	0.050	0.200	0.500	0.353	0.158	0.040
CD	0.050	—	—	0.029	—	0.040
DD	0.200	0.050	0.300	0.206	—	0.160
DE	0.150	—	—	—	—	—
EE	0.050	—	—	—	—	—
Ho	0.500	0.100	0.050	0.118	0.053	0.280
He	0.786	0.692	0.655	0.698	0.568	0.677
D	- 0.364	- 0.856	- 0.924	- 0.831	- 0.907	- 0.586
X <sup>2</sup> (g.l.)	22.939 (10)	73.336 (6)	52.999 (6)	67.799 (6)	37.519 (3)	35.174 (6)
P	0.011	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	*	***	***	***	***	***

Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Angeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca. — = genotipos no observados; N = número de individuos analizados. Ho = Heterocigosis observada por conteo directo; He = heterocigosis esperada por estimación sin sesgo de Nei (1978). D = Valores positivos del estadístico sugieren exceso y valores negativos deficiencia de heterocigotos. X<sup>2</sup> = Valor del estadístico Ji-cuadrada; g.l. = grados de libertad. Nivel de significancia después de corrección de Bonferroni: NS = No significativo, \*p<0.05, \*\*\* p<0.001.



**Figura 5.** Frecuencias genotípicas en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Genotipos observados AA, AB, BB, BC, CC, CD, DD, DE y EE (Tabla 5) BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca.

En el locus *ME-1*, tres poblaciones (BCO, PAV y BB) presentaron valores de heterocigosis observada mayores a los esperados bajo el equilibrio de HW; dos poblaciones (BLP y OAX) tuvieron valores de heterocigosis observada menores a los esperados y en la población de BLA presentó valores iguales de heterocigosis observada y esperada (Tabla V). Los valores del estadístico D sugieren que las poblaciones de BCO, PAV y BB presentaron un exceso de heterocigotos, BLP y OAX una deficiencia de heterocigotos y en BLA se observó el número de heterocigotos esperados bajo el equilibrio de HW. Sin embargo, la prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada no reveló diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en ninguna de las poblaciones analizadas en el locus *ME-1* (Tabla V). No se observaron heterocigotos en las poblaciones analizadas en los loci *GDH-1* y *GDH-2* (Tabla V), por ello el valor de heterocigosis observada fue cero, el valor del estadístico D fue  $-1.000$  y hubo diferencias significativas con el modelo de WH en la prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada (Tabla V). Por su parte, el locus *EST-1* presentó un exceso de heterocigotos en las poblaciones de BLP y BB, mientras que le resto de las poblaciones mostraron una deficiencia (Tabla V). Después de la prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada solo las poblaciones de PAV y OAX presentaron diferencias significativas con el modelo de HW con una deficiencia de heterocigotos (Tabla V). En el locus *LGG-1*, la mayoría de las poblaciones presentaron valores de heterocigosis observada menores a los esperados en el equilibrio de HW. Los valores del estadístico D fueron negativos y la prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada mostró diferencias significativas ( $P < 0.05$ ), lo que indica que este locus presenta una deficiencia de heterocigotos en todas las poblaciones analizadas.

El número promedio de alelos por locus ( $N_a$ ) estuvo entre 2.4 y 2.8 (Tabla VI). La población con un menor  $N_a$  fue BB y la mayor BLA. Todas las poblaciones presentaron un porcentaje de polimorfismo del 100%. La heterocigosidad observada con base en los cinco loci tuvo un intervalo entre 0.106 y 0.260 para las poblaciones analizadas (Tabla VI). Los valores más bajos y altos correspondieron a PAV y BLA, respectivamente. La heterocigosis observada promedio fue menor a la esperada en todas las poblaciones analizadas y mostró diferencias significativas al equilibrio de HW (Tabla VI). Las desviaciones del modelo de HW se mantuvieron en la mayoría de las poblaciones, exceptuando BLA, cuando se excluyó el sistema *GDH* en el análisis, debido que estuvo compuesto completamente de homocigos (Tabla VI).

**Tabla VI.** Resumen de los principales estimadores de la variación genética en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano.

<i>Población</i>	<i>BLA</i>	<i>BCO</i>	<i>BLP</i>	<i>PAV</i>	<i>BB</i>	<i>OAX</i>
<i>N<sub>a</sub></i>	2.8 (0.6)	2.6 (0.4)	2.6 (0.4)	2.6 (0.4)	2.4 (0.2)	2.6 (0.4)
Todos los loci						
Ho	0.260* (0.109)	0.180* (0.103)	0.190* (0.111)	0.106* (0.050)	0.141* (0.086)	0.160* (0.079)
He	0.583 (0.062)	0.564 (0.045)	0.553 (0.038)	0.479 (0.088)	0.430 (0.073)	0.533 (0.054)
Loci sin <i>GDH</i>						
Ho	0.433 <sup>NS</sup> (0.044)	0.300* (0.132)	0.317* (0.145)	0.176* (0.045)	0.234* (0.116)	0.267* (0.081)
He	0.582 (0.103)	0.551 (0.071)	0.546 (0.055)	0.437 (0.137)	0.370 (0.111)	0.535 (0.535)

$N_a$  = Número promedio de alelos por locus.  $P_{95}$  = polimorfismo con el criterio del alelo más común con frecuencia  $\leq 0.95$ . Ho = Heterocigosis observada por conteo directo; He = heterocigosis esperada por estimación sin sesgo de Nei (1978). Error típico en paréntesis. Nivel de significancia después de corrección de Bonferroni: \* $p < 0.001$ .

#### 4.2 Estrategia reproductiva dominante

Las colonias clones ( $N_c$ ) observadas tuvieron un intervalo de 10 a 30 % de contribución en las poblaciones analizadas (Tabla VII). El número de colonias con multigenotipos únicos ( $N_g$ ) tuvieron una contribución de 85 a 100% en las poblaciones (Tabla VII). Por su parte, la razón en el número único de multigenotipos ( $N_g$ ) y el número de individuos analizados en la población ( $N$ ) tuvo un intervalo de 0.842 a 1.000 (media  $N_g:N = 0.929$ ; Tabla VII). El índice de diversidad genotípica observada ( $G_o$ ) y la esperada ( $G_e$ ) presentó un intervalo de 0.853 a 1.045 (media  $G_o:G_e = 0.939$ ; Tabla VII). No se observaron diferencias significativas entre la diversidad genotípica observada con respecto a la esperada. Estas aproximaciones indican poca contribución de la reproducción asexual (< 30 %) y confirman mediante altos valores en índices  $N_g:N$  y  $G_o:G_e$  que la reproducción sexual es la dominante en el coral *P. panamensis* en las poblaciones analizadas en el Pacífico mexicano.

**Tabla VII.** Parámetros para analizar la estrategia reproductiva dominante en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano.

<i>Población</i>	<i>BLA</i>	<i>BCO</i>	<i>BLP</i>	<i>PAV</i>	<i>BB</i>	<i>OAX</i>	<i>Promedio</i>
<i>N</i>	20	20	20	34	20	25	23.167 (5.177)
<i>N<sub>c</sub></i>	—	2	—	10	6	6	4.000 (3.651)
% <i>N<sub>c</sub></i>	—	10	—	29	30	24	15.569 (12.824)
<i>N<sub>g</sub></i>	20	19	20	29	17	22	21.167 (3.804)
% <i>N<sub>g</sub></i>	100	95	100	85	85	88	92.216 (6.412)
<i>N<sub>g</sub>:N</i>	1.000	0.950	1.000	0.853	0.850	0.880	0.922 (0.064)
<i>G<sub>o</sub></i>	20.000	18.182	20.000	26.273	15.385	20.161	20.000 (3.265)
<i>G<sub>e</sub></i>	19.601 (1.233)	19.250 (1.656)	19.137 (1.767)	30.188 (3.414)	17.101 (2.849)	23.621 (2.194)	21.484 (4.351)
<i>G<sub>o</sub>:G<sub>e</sub></i>	1.020 <sup>NS</sup>	0.944 <sup>NS</sup>	1.045 <sup>NS</sup>	0.8702 <sup>NS</sup>	0.900 <sup>NS</sup>	0.854 <sup>NS</sup>	0.939 <sup>NS</sup> (0.073)

*N* = número de muestras analizadas en la población; *N<sub>c</sub>* = número de colonias clones; *N<sub>g</sub>* = número de colonias con multigenotipos únicos; % = porcentaje de colonias; — = no se observaron clones; *N<sub>g</sub>:N* = índice de la contribución de la reproducción asexual mediante un reclutamiento localizado; *G<sub>o</sub>* = diversidad genotípica observada; *G<sub>e</sub>* = diversidad genotípica esperada. *G<sub>o</sub>:G<sub>e</sub>* = Índice de diversidad genotípica. NS = No significativo mediante la prueba *t* (Stoddart y Taylor, 1988). Desviación estándar en paréntesis.

### 4.3 Diferenciación poblacional

Las comparaciones de las frecuencias alélicas a nivel interpoblacional por locus se muestran en la Tabla VIII(a-e) y la comparación de frecuencias alélicas interpoblacional con base en los cinco loci se presenta en la Tabla VIII f.

La mayoría de las comparaciones mostraron diferencias significativas entre las poblaciones del coral *P. panamensis* en los loci analizados. Las tres poblaciones dentro del GC (BLA, BCO y BLP) no presentaron diferencias significativas en los loci *ME-1*, *GDH-1*, *GDH-2* y *EST-1* (Tabla a-d), mientras que las frecuencias alélicas en el locus *LGG-1* indicó diferencias significativas en estas tres poblaciones (Tabla VIII e). La población de PAV presentó diferencias significativas con respecto a las poblaciones del GC en los loci *ME-1*, *EST-1*, *GDH-1* y *LGG-1*, excepto en la comparación de PAV y BLP en los loci *GDH-1* y *LGG-1*. La población de BB presentó diferencias significativas en las comparaciones de las frecuencias alélicas con las poblaciones del GC en el locus *EST-1* y algunas diferencias en los loci *GDH-1* y *LGG-1*. Las comparaciones entre las poblaciones de BB y PAV solo presentaron diferencias significativas en el locus *LGG-1* (Tabla VIII e). La población de OAX mostró diferencias significativas en la comparación con las poblaciones dentro del GC en los loci *ME-1*, *GDH-1*, *EST-1* y *LGG-1*. Además, la población de OAX presentó diferencias significativas con las poblaciones de PAV y BB en los loci *ME-1*, *EST-1* y *LGG-1*, pero no en los loci *GDH-1* y *GDH-2*. Es importante señalar que el loci *GDH-2* no mostró diferencias significativas en ninguna de las comparaciones interpopulacionales (Tabla VIII c).

La comparación de frecuencias alélicas en todos los loci indicó que no existen diferencias significativas entre las poblaciones de BLA con BCO y BLP (Tabla VIII f); mientras que el resto de las comparaciones entre las poblaciones mostraron diferencias significativas ( $p < 0.001$ ).

Las comparaciones de las frecuencias genotípicas por pares de poblaciones por locus se muestran en la Tabla IX(a-e) y la comparación de frecuencias genotípicas interpopulacionales con base en los cinco loci se presentan en la Tabla IX f. Los resultados de la comparación en las frecuencias genotípicas fueron similares a los de las frecuencias alélicas, a excepción de la población de OAX que fue similar a las poblaciones de BCO y BLA en los loci *GDH-1* y *LGG-1*. De cualquier manera, la comparación de frecuencias genotípicas en todos los loci demostró que no existen diferencias significativas entre las poblaciones dentro del GC (BLA, BCO y BLP); mientras que las comparaciones del resto de las poblaciones del coral *P. panamensis* en el Pacífico mexicano mostraron diferencias significativas (Tabla IX f).

a)							b)						
ME-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	GDH-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	NS	NS	**	NS	**	BLA	—	NS	NS	*	NS	*
BCO	0.815	—	NS	**	NS	*	BCO	1.000	—	NS	*	NS	*
BLP	0.814	1.000	—	**	NS	*	BLP	0.820	0.799	—	NS	*	*
PAV	0.025	0.007	0.007	—	NS	***	PAV	0.011	0.032	0.001	—	NS	NS
JAL	0.447	0.224	0.215	0.282	—	***	JAL	0.122	0.203	0.044	0.671	—	NS
OAX	0.005	0.020	0.018	0.000	0.000	—	OAX	0.015	0.043	0.002	1.000	0.501	—

c)							d)						
GDH-2	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	EST-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	NS	NS	NS	NS	NS	BLA	—	NS	NS	**	***	***
BCO	0.918	—	NS	NS	NS	NS	BCO	0.499	—	NS	***	***	***
BLP	0.621	0.466	—	NS	NS	NS	BLP	0.824	0.822	—	***	***	***
PAV	0.535	0.293	0.708	—	NS	NS	PAV	0.007	0.000	0.001	—	NS	***
JAL	0.423	0.455	0.597	0.134	—	NS	JAL	0.000	0.000	0.000	0.071	—	***
OAX	0.963	0.924	0.641	0.413	0.532	—	OAX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—

e)							f)						
LGG-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	5 loci	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	***	***	***	***	*	BLA	—	NS	NS	***	***	***
BCO	0.000	—	***	***	NS	NS	BCO	0.077	—	***	***	***	***
BLP	0.000	0.000	—	NS	***	***	BLP	0.085	0.000	—	**	***	***
PAV	0.001	0.000	0.093	—	***	***	PAV	0.000	0.000	0.000	—	***	***
JAL	0.000	0.081	0.000	0.000	—	*	JAL	0.000	0.000	0.000	0.000	—	***
OAX	0.023	0.055	0.000	0.000	0.021	—	OAX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—

**Tabla VIII.** Comparación de frecuencias alélicas por locus entre pares de poblaciones por Método de cadena de Markov. Valores p (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). a (ME-1), b (GDH-1), c (GDH-2), d (EST-1), e (LGG-1), f (cinco loci). Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca. Nivel de significancia: NS = No significativo, \*p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001.

a)							b)						
ME-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	GDH-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	NS	NS	*	NS	**	BLA	—	NS	NS	NS	NS	NS
BCO	0.805	—	NS	**	NS	*	BCO	1.000	—	NS	NS	NS	NS
BLP	0.826	1.000	—	*	NS	*	BLP	1.000	1.000	—	*	NS	*
PAV	0.023	0.004	0.011	—	NS	***	PAV	0.087	0.176	0.043	—	NS	NS
JAL	0.433	0.170	0.241	0.233	—	***	JAL	0.341	0.470	0.204	0.767	—	NS
OAX	0.008	0.022	0.032	0.000	0.000	—	OAX	0.126	0.165	0.038	1.000	0.747	—

c)							d)						
GDH-2	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	EST-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	NS	NS	NS	NS	NS	BLA	—	NS	NS	*	***	***
BCO	1.000	—	NS	NS	NS	NS	BCO	0.569	—	NS	**	***	***
BLP	0.845	0.770	—	NS	NS	NS	BLP	0.829	0.832	—	**	***	***
PAV	0.775	0.585	0.818	—	NS	NS	PAV	0.026	0.003	0.004	—	NS	***
JAL	0.701	0.761	0.909	0.356	—	NS	JAL	0.000	0.000	0.000	0.152	—	***
OAX	1.000	1.000	0.861	0.699	0.725	—	OAX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—

e)							f)						
LGG-1	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX	5 loci	BLA	BCO	BLP	PAV	BB	OAX
BLA	—	*	*	*	**	NS	BLA	—	NS	NS	***	***	***
BCO	0.018	—	**	**	NS	NS	BCO	0.477	—	NS	***	***	***
BLP	0.016	0.004	—	NS	***	***	BLP	0.499	0.316	—	***	***	***
PAV	0.019	0.007	0.353	—	**	**	PAV	0.001	0.000	0.001	—	*	***
JAL	0.002	0.342	0.000	0.002	—	NS	JAL	0.000	0.000	0.000	0.020	—	***
OAX	0.078	0.247	0.001	0.006	0.124	—	OAX	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—

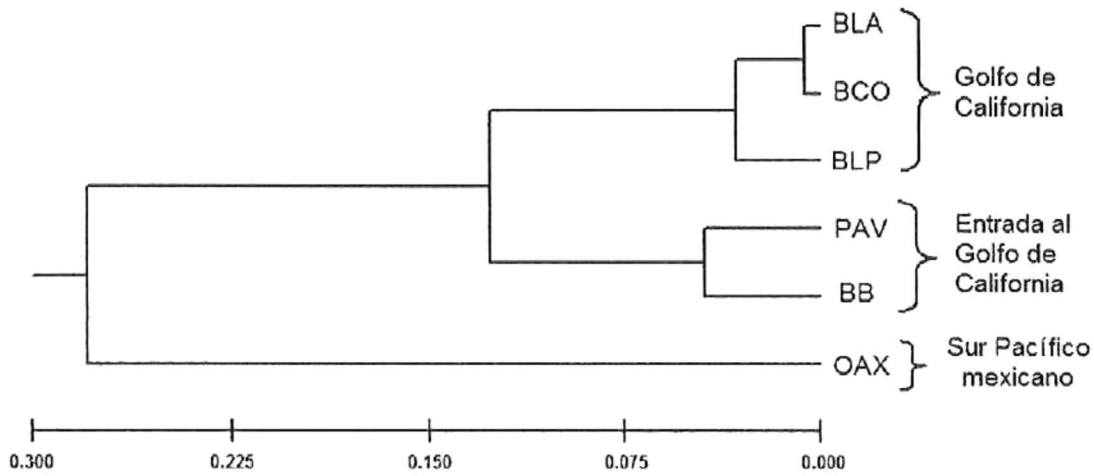
**Tabla IX.** Comparación de frecuencias genotípicas por locus entre pares de poblaciones por Método de cadena de Markov. Valores p (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). Tabla 9a (ME-1), b (GDH-1), c (GDH-2), d (EST-1), e (LGG-1), f (cinco loci). Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; JAL = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca. Nivel de significancia: NS = No significativo, \*p<0.05, \*\* p<0.01, \*\*\* p<0.001.

Los valores de la distancia genética ( $D$ ) entre las poblaciones de *P. panamensis* estuvieron entre 0.006 a 0.352 (Tabla X). Los valores con menor diferenciación genética estuvieron entre 0.006 y 0.045, correspondieron a las poblaciones que se encuentran dentro del GC (BLA, BCO y BLP); y entre PAV y BB con 0.044 (Tabla X). Los valores más altos se observaron en las poblaciones de OAX y BB con el resto de las poblaciones, 0.229-0.352 y 0.112-0.207, respectivamente (Tabla X). El dendrograma construido a partir de la distancia genética (Fig. 6) evidenció tres grupos: a) las poblaciones que se encuentran dentro del Golfo de California (BLA, BCO y BLP), b) las poblaciones que se ubican en la entrada del GC (PAV y BB), y c) la población de OAX que se localiza al sur del Pacífico mexicano.

**Tabla X.** Identidad genética sin sesgo (Nei, 1978, debajo de la diagonal) y distancia genética (arriba de la diagonal) entre seis poblaciones del coral *P. panamensis* en el Pacífico mexicano.

Población	1	2	3	4	5	6
1 BLA	—	0.006	0.018	0.074	0.112	0.262
2 BCO	0.994	—	0.045	0.133	0.132	0.261
3 BLP	0.982	0.956	—	0.104	0.207	0.352
4 PAV	0.929	0.875	0.902	—	0.044	0.294
5 BB	0.894	0.877	0.813	0.957	—	0.229
6 OAX	0.769	0.770	0.703	0.745	0.795	—

Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca.



**Figura 6.** Dendrograma de la distancia genética de Nei (1978) entre seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Abreviaciones: BLA = Bahía de Los Ángeles; BCO = Bahía Concepción; BLP = Sur Bahía de La Paz; PAV = Punta Arena de la Ventana; BB = Isla Redonda, Bahía de Banderas; OAX = La Entrega, Oaxaca.

Los estadísticos F de Wright ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$ ,  $F_{ST}$ ) para las poblaciones de *P. panamensis* se presentan en la Tabla XI. El coeficiente de endogamia dentro de las poblaciones,  $F_{IS}$ , presentó diferencias significativas en cuatro de los cinco loci ( $F_{IS}$  0.410-1.000,  $p < 0.01$ ), y en el valor total de los cinco loci ( $F_{IS} = 0.686$ ,  $p < 0.01$ ). El coeficiente de endogamia total,  $F_{IT}$ , mostró diferencias significativas en cuatro de los cinco loci ( $F_{IT}$  0.612-1.000,  $p < 0.01$ ), y en el valor total de cinco loci ( $F_{IT} = 0.718$ ,  $p < 0.01$ ).

Los valores de  $F_{ST}$  no mostraron diferencias significativas en los loci *GDH-1* y *GDH-2* ( $F_{ST}$  -0.027-0.044,  $p > 0.05$ ), lo cual indica una tendencia a la homogeneidad genética debido a panmixia. Por su parte los loci *ME-1*, *EST-1* y *LGG-1* ( $F_{ST}$  0.074-0.325) y el valor total de los cinco loci fueron diferentes de cero en el estadístico ( $F_{ST} = 0.104$ ,  $p < 0.01$ , Tabla XI) y representan un comportamiento de estructura o subdivisión poblacional.

**Tabla XI.** Resumen de estadísticos  $F$  de Wright ( $F_{IS}$ ,  $F_{IT}$  y  $F_{ST}$ ) de seis poblaciones del coral *Porites panamensis* del Pacífico mexicano.

<i>Locus</i>	$F_{IS}$	$F_{IT}$	$F_{ST}$
ME-1	0.004 <sup>NS</sup>	0.162 <sup>NS</sup>	0.156*
GDH-1	1.000*	1.000*	0.044 <sup>NS</sup>
GDH-2	1.000*	1.000*	-0.027 <sup>NS</sup>
EST-1	0.410*	0.612*	0.325*
LGG-1	0.739*	0.759*	0.074*
Total	0.686*	0.718*	0.104*
Promedio por <i>jackknife</i> (Error estandar)	0.699 (0.163)	0.723 (0.133)	0.103 (0.059)
Intervalo de confianza 95% por <i>bootstrap</i>	0.325 - 0.938	0.449 - 0.940	0.018 - 0.214

Nivel de significancia después de corrección de Bonferroni: NS = No significativo, \*  $p < 0.01$ .

Los valores de  $F_{ST}$  en la comparación por pares de poblaciones estuvieron entre 0.013 a 0.124 (Tabla XII). Todas las comparaciones entre los pares de poblaciones presentaron diferencias significativas, excepto las poblaciones de BLA con BCO y BLP después de la corrección de Bonferroni para el nivel de significancia de la prueba estadística (Tabla XII).

**Tabla XII.** Comparación por pares de poblaciones del estadístico  $F_{ST}$  (debajo diagonal) y valores  $P$  (arriba diagonal) del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano.

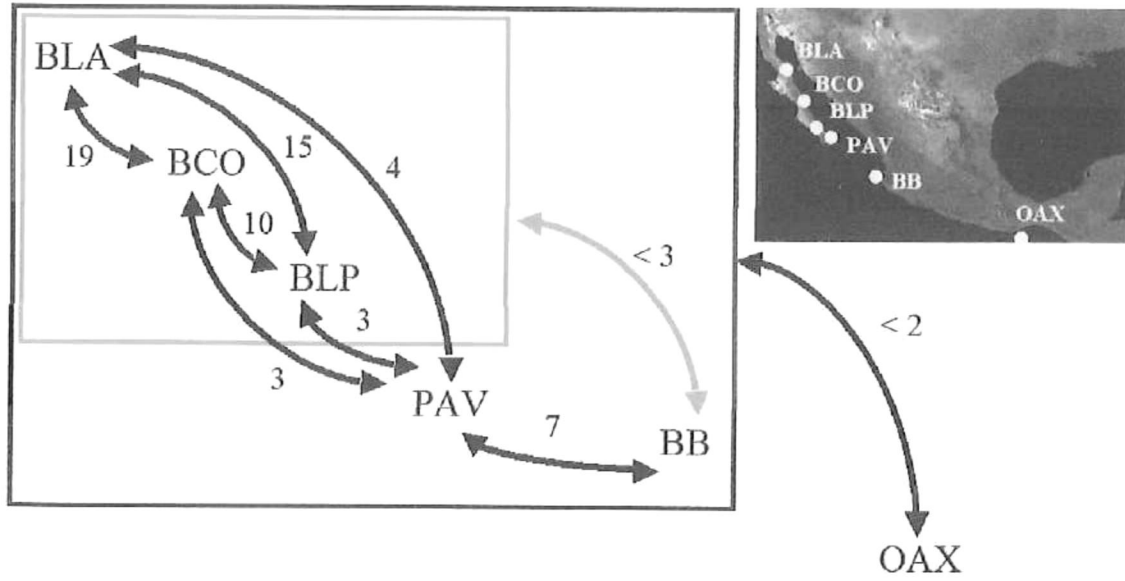
<i>Población</i>	1	2	3	4	5	6
1 BLA	—	0.014 <sup>NS</sup>	0.010 <sup>NS</sup>	0.000*	0.000*	0.000*
2 BCO	0.013	—	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
3 BLP	0.016	0.024	—	0.000*	0.000*	0.000*
4 PAV	0.048	0.071	0.062	—	0.000*	0.000*
5 BB	0.070	0.082	0.103	0.031	—	0.000*
6 OAX	0.096	0.095	0.118	0.124	0.118	—

Nivel de significancia después de la corrección de Bonferroni: NS = No significativo, \*  $p < 0.001$ .

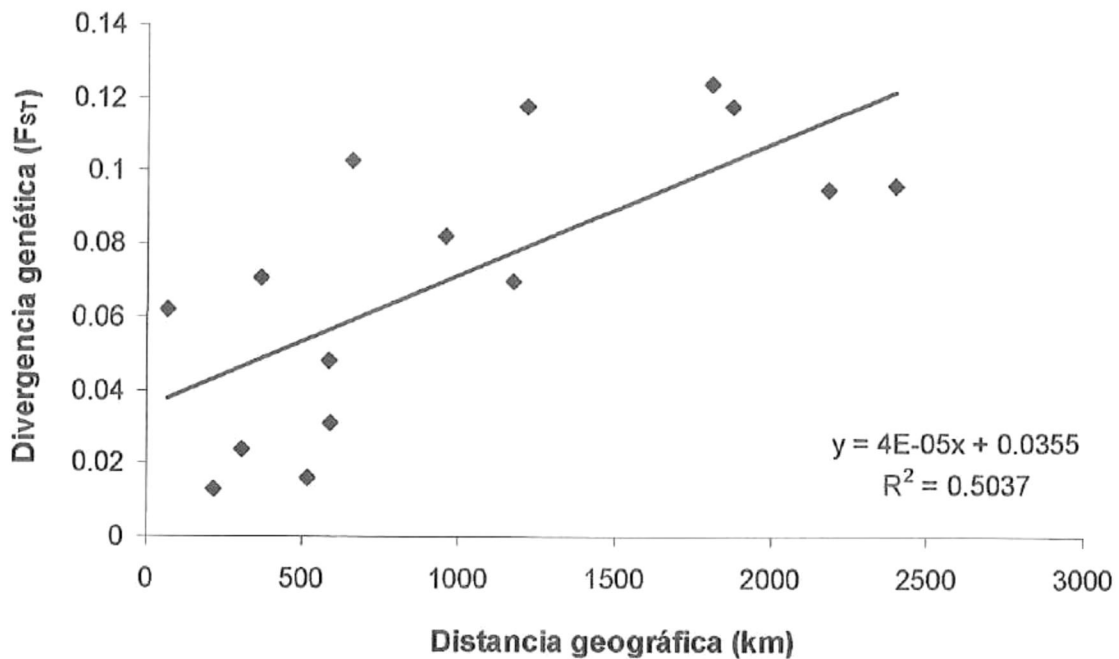
#### 4.4 Flujo genético y aislamiento por distancia

El número de migrantes por generación ( $N_e m$ ) en las poblaciones del coral *P. panamensis* fue de 1 a 19, los valores más altos estuvieron dentro de las poblaciones del GC (BLA, BCO y BLP) entre 19 y 10, y entre las poblaciones de PAV y BB con 7 (Fig. 7). Los valores de migrantes entre PAV y las tres poblaciones del GC fue  $N_e m < 4$ , los valores de BB con las tres poblaciones del GC fue  $N_e m < 3$  migrantes, y los valores de migrantes entre OAX y el resto de las poblaciones analizadas (BLA, BCO, BLP, PAV y BB) fue  $N_e m < 2$  (Fig 7).

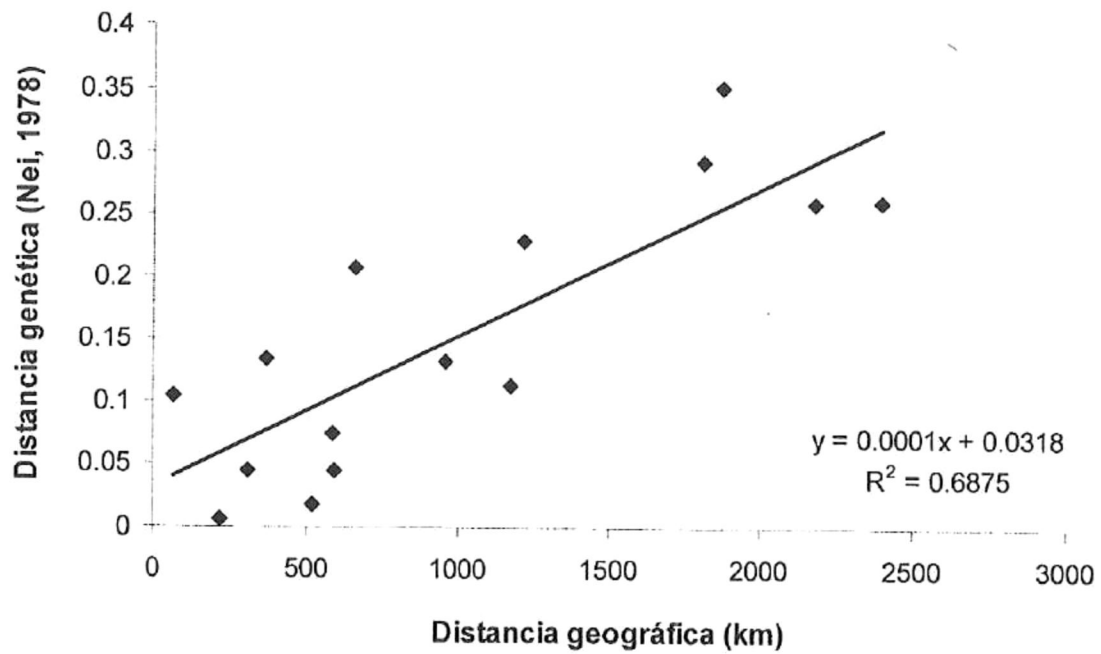
La prueba de aislamiento por distancia de las poblaciones del coral *P. panamensis* en el Pacífico mexicano indicó una relación positiva y significativa entre las variables ( $F_{ST}$  y distancia geográfica  $R^2 = 0.5037$ ,  $p = 0.0262$ , Fig. 8;  $D$  y distancia geográfica  $R^2 = 0.6875$ ,  $p = 0.0126$ , Fig. 9).



**Figura 7.** Estimaciones del flujo genético mediante el número de migrantes por generación ( $N_{em}$ ) en seis poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Las poblaciones que se encuentran dentro de los cuadros indican el flujo genético existente entre estas poblaciones y la población señalada (BB o OAX).



**Figura 8.** Relación entre divergencia genética ( $F_{ST}$ ) y distancia geográfica entre las poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Prueba Mantel (10 000 permutaciones)  $R^2 = 0.5037$ ,  $p = 0.0262$ .



**Figura 9.** Relación entre distancia genética (Nei, 1978) y distancia geográfica entre las poblaciones del coral *Porites panamensis* en el Pacífico mexicano. Prueba Mantel (10 000 permutaciones)  $R^2 = 0.6875$ ,  $p = 0.0126$ .

## 5. *Discusión*

### 5.1 *Variación genética*

La composición alélica de las poblaciones de *P. panamensis* en el PM evidenciaron la existencia de diferentes patrones de distribución geográfica del alelo más abundante, esto fue evidente en los loci *ME-1*, *GDH-1* y *EST-1* (Tabla IV; Fig. 4). El locus *LGG-1* fue particularmente importante debido a que fue en este sistema donde se encontraron las mayores variaciones alélicas entre las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM (Tabla IV; Fig. 4). Estudios realizados en el género *Porites* han evidenciado que el sistema enzimático *LGG* ha mostrado una alta variación geográfica en comparación con otros sistemas y ha sido importante para diferenciar entre especies del género (Weil, 1992a, b; Garthwaite *et al.*, 1994). En contra parte, el locus *GDH-2* presentó tres variaciones alélicas con frecuencias similares en todas las poblaciones analizadas (Tabla IV; Fig. 4). Es importante señalar que las poblaciones más norteña (BLA) y más sureña (OAX) presentaron variantes alélicas (*LGG-1<sup>E</sup>* y *EST-1<sup>A</sup>*) que parecen ser exclusivas de estas poblaciones. La presencia de genotipos o haplotipos únicos han sido encontrados en las poblaciones de otros invertebrados marinos y peces (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000a, b; Medina y Walsh, 2000; Riginos y Nachman, 2001; Riginos, 2005; Valles-Jimenez *et al.*, 2005), los cuales señalan a BLA y OAX como zonas donde se puede encontrar una composición genética distinta al resto del PM y donde pueden existir barreras que evitan el libre flujo genético entre las poblaciones.

La composición genotípica (Tabla V, Fig. 5) presentó un patrón de distribución geográfica similar a la composición alélica. El patrón de variación genotípica pueden deberse en gran medida a que las poblaciones de la entrada del GC (PAV y BB) no presentaron el genotipo  $ME-I^{BB}$  y fue únicamente en estas poblaciones donde se observó una alta frecuencia del genotipo  $EST-I^{BB}$  ( $> 0.676$ ). El locus  $LGG-I$  contribuyó de manera importante en el patrón de la variación genotípica debido que se observaron las mayores variantes en las poblaciones de BLA, PAV y OAX. Además, se observaron genotipos exclusivos de las poblaciones de BLA ( $LGG-I^{DE}$  y  $LGG-I^{EE}$ ) y OAX ( $EST-I^{AA}$  y  $EST-I^{AB}$ ) que permiten una diferenciación interpoblacional. Con base en la composición alélica y genotípica de las poblaciones analizadas del coral *P. panamensis* en el PM, puede demostrarse que existe un arreglo correspondiente a tres grupos: a) las poblaciones ubicadas dentro del GC (BLA, BCO y BLP), b) las que se encuentran en la entrada del GC (PAV y BB), y c) la población de OAX que se localiza al sur del PM (Figs. 4 y 5). El arreglo de la variación genética de las poblaciones de *P. panamensis* observado en el presente estudio corresponde a la ubicación de las provincias biogeográficas Corteziana, Mexicana y en la transición de la provincia Mexicana y Panámica donde se han observado diferencias genéticas en diversos grupos de organismos marinos (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000a, b; Medina y Walsh, 2000; Riginos y Nachman, 2001; Riginos, 2005; Valles-Jimenez *et al.*, 2005; Licona-Chávez *et al.*, 2007).

La mayoría de las poblaciones presentaron una deficiencia de heterocigotos significativa debida a los valores de heterocigosis observada menores a los valores esperados al modelo de HW (Tabla V). Dos loci pertenecientes al sistema enzimático GDH no presentaron heterocigotos en las poblaciones analizadas (Tabla V), estos resultados concuerdan con Richardson *et al.* (1986) que menciona que los heterocigotos en este sistema enzimático en general son atípicos en todos los organismos. Las pruebas realizadas para observar desviaciones equilibrio HW se mantuvieron significativas en la mayoría de las poblaciones, exceptuando a BLA, cuando los loci de *GDH* se excluyeron del análisis (Tabla VI). Lo anterior sugiere que la deficiencia de heterocigotos no es debida a un efecto del sistema enzimático *GDH*, sino que pertenece a una característica propia de las poblaciones de *P. panamensis* en el PM.

La deficiencia de heterocigotos es una característica común en varias especies de invertebrados marinos y corales scleractinios (Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hugnes, 2000). Diversas explicaciones han sido propuestas como la diferencia en los tiempos de expulsión de gametos o larvas, sesgo por diferentes proporciones sexuales de organismos gonocóricos, la mezcla entre poblaciones genéticamente diferenciadas (Efecto Wahlund espacial), por mezcla de cohortes (Efecto Wahlund temporal), mortalidad selectiva, reclutamiento localizado por una dispersión limitada de gametos o larvas, el apareamiento entre organismos emparentados (endogamia) y un bajo tamaño efectivo de la población (Zouros y Foltz, 1984; Hartl y Clark, 1997; Constantini *et al.*, 2007). La deficiencia de heterocigotos en la mayoría de los loci y poblaciones (Tabla V y VI) sugiere que varios factores podrían ser importantes en la estructuración genética de

las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM. Primero, las comunidades arrecifales donde *P. panamensis* habita frecuentemente están formadas por colonias de distintas edades, y si consideramos que esta especie puede reproducirse a edades tempranas (de 1.2 a 3 años) y una talla pequeña de 5 cm<sup>2</sup> (Glynn *et al.*, 1994), estas comunidades podrían comprender un traslape de generaciones. Por ello, la deficiencia de heterocigotos observada en la mayoría de los loci y poblaciones de *P. panamensis* (Tabla V y VI) puede ser resultado de un efecto Wahlund como consecuencia de distintos eventos de reclutamiento de diferentes cohortes y por distintas comunidades coralinas; como se ha observado en otros corales (Ayre *et al.*, 1997; Constantini *et al.*, 2007). Así, la estructura genética de *P. panamensis* podría verse modificada en cada generación por la adición de nuevos reclutas y la mezcla de colonias adultas dependiendo de la conectividad de los sitios. Segundo, al ser *P. panamensis* una especie gonocórica, puede haber un sesgo entre colonias hembras y machos, si existen diferencias en las proporciones sexuales y en las frecuencias alélicas. Estudios de la Biología reproductiva de *P. panamensis* en el PM han revelado que en Bahía de La Paz existe una proporción sexual 1:1 (machos:hembras, Mora-Pérez, 2005), mientras que en Oaxaca la proporción obtenida fue de 1:0.4 (Rodríguez-Troncoso, 2006). Únicamente mediante métodos histológicos convencionales han sido capaces de discriminar entre el sexo de las colonias, por ello no se pudo discernir la existencia de diferencias genéticas entre el sexo de las colonias como posible efecto de deficiencia de heterocigotos en el presente estudio. Tercero, la deficiencia de heterocigotos puede ser ocasionada por diferencias en la expulsión de larvas, debido a que se han observado diferencias temporales en la reproducción de *P. panamensis* en el PM (Vizcaíno-Ochoa, 2003;

Mora-Pérez, 2005; Rodríguez-Troncoso, 2006; ver más adelante en sección 5.2 (*Estrategia reproductiva dominante*). Cuarto, las larvas de la especie *P. panamensis* se fijan a unos pocos metros de las colonias parentales (Glynn *et al.*, 1994) y quizás esto refleje una capacidad limitada de dispersión (Glynn y Ault, 2000; Paz-García, 2005). Una dispersión limitada es generalmente asociada a la endogamia, a la pérdida de la heterocigosidad y a la subdivisión poblacional debido a la deriva genética (Neves *et al.*, 2008). Finalmente, como quinto factor, existen diferencias en la mortalidad sufrida por las comunidades coralinas del PM por distintos fenómenos naturales (e.g. huracanes y blanqueamientos por eventos ENSO; Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002; Iglesias-Prieto *et al.*, 2003; Reyes-Bonilla, 2003). La mortalidad en las comunidades coralinas ocasiona una disminución en el tamaño poblacional y en la heterocigosis (Gillespie, 1998). Además, la aportación de larvas y el reclutamiento puede variar en escala espacial (dentro y entre localidades) y en escala temporal (entre meses y años), en relación con las condiciones ambientales (Constantini *et al.*, 2007); tal como se ha observado en el Pacífico mexicano (Medina-Rosas *et al.*, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007).

La variación genética reportada para especies del género *Porites* en el Caribe y Pacífico de Centroamérica fue de 2.2 a 2.4 número medio de alelos por locus ( $N_a$ ), polimorfismo ( $P_{99}$ ) del 60 a 100% y valores de  $H_o$  de 0.205 a 0.409 (Weil, 1992a, b). Los valores de variación genética obtenidos en el presente estudio (Tabla VI) estuvieron dentro del intervalo reportado para el género *Porites* y fueron mayores a los reportados

previamente para *P. panamensis* en Centroamérica ( $N_a$  de 2.2 a 2.4,  $P_{99}$  de 80 a 90% y valores de  $H_o$  de 0.205 a 0.236; Weil, 1992a, b) y para el GC ( $N_a$  de 1.9 a 2.4,  $P_{99}$  de 90 a 100% y valores de  $H_o$  de 0.331 a 0.529; Paz-García, 2005). Los valores de variación genética de *P. panamensis* en Centroamérica fueron los más bajos de ocho especies del género (Weil, 1992a, b) y fueron menores a los reportados en el GC y PM (Paz-García, 2005; este estudio). El contraste de la variación genética observada entre las poblaciones de *P. panamensis* del PM (Tabla VI) y del Pacífico panameño (Weil, 1992a, b), puede ser debido a diferentes eventos de mortalidad presentados en ambas áreas de desarrollo coralino. Durante el evento ENSO de 1982-83, las poblaciones de *P. panamensis* de los arrecifes de Centroamérica sufrieron severas mortalidades que provocaron que desaparecieran casi por completo, desde ese evento ENSO la especie no fue observada hasta el año de 1989 cuando se observaron nuevos reclutas (Guzmán *et al.*, 1987; Weil, 1992a, b; Glynn *et al.*, 1994). En México, el reclutamiento de *P. panamensis* ha disminuido cuando los eventos ENSO se han presentado (Reyes-Bonilla y Caderón-Aguilera, 1994), pero a diferencia de los arrecifes de Centroamérica, se ha demostrado que la especie ha presentado menores mortalidades, continua reproduciéndose y sus larvas se reclutan localmente (Reyes-Bonilla, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002; Medina-Rosas *et al.*, 2005; Mora-Pérez, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007). Por ello, es factible que las diferencias de la variación genética encontradas en el presente trabajo en el PM y Centroamérica pueden ser debidas a los distintos eventos de mortalidad ocurridos en ambas áreas de desarrollo coralino. Por su parte, la diferencia observada en los valores de la variación genética de *P. panamensis* entre el estudio previo en el GC (Paz-García, 2005) y el presente, puede ser debida a la utilización de diferentes sistemas enzimáticos

y al aumento del número de individuos y poblaciones que se analizaron en la actual investigación.

## 5.2 Estrategia reproductiva dominante

Estudios previos con alozimas en especies de escleractinios han revelado que la mayoría de las poblaciones poseen la capacidad de mezclar las estrategias de reproducción sexual y asexual (Sherman *et al.*, 2005; Whitaker, 2006). Los valores altos en los índices  $N_g:N$  y  $G_o:G_e$  obtenidos en el presente estudio demuestran que el reclutamiento asexual posee poca influencia en las poblaciones de *P. panamensis* como se ha demostrado previamente por estudios ecológicos (Glynn *et al.*, 1994; Reyes-Bonilla y Calderón-Aguilera, 1994), y que la reproducción sexual es la estrategia reproductiva dominante en la contribución de la composición genética de sus poblaciones en el PM. Por otro lado, se observó una mayor frecuencia de colonias originadas por vía asexual (colonias clones) en las poblaciones de PAV, BB y OAX (Tabla VII) en comparación con las poblaciones del GC; esto sugiere que la reproducción asexual podría ser ocasionada en mayor medida en estas poblaciones por el desprendimiento, levantamiento y/o abrasión de las colonias de *P. panamensis* debido a la alta incidencia de tormentas y huracanes en esas zonas (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Lirman *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla, 2003). Además en las localidades de Oaxaca, las colonias de *P. panamensis* se fijan comúnmente sobre los fragmentos muertos de las especies del género *Pocillopora* (López-Pérez, Com. Pers.), característica que puede

aumentar la probabilidad de fragmentación en sus colonias. Se ha señalado que la diversidad genotípica puede variar en función de la frecuencia y tipo de disturbio que afecta a las comunidades coralinas, pero también a la sobrevivencia de reclutas por el habitat, niveles de reclutamiento y las estrategias reproductivas de la especie (Coffroth y Lasker, 1998). Estudios basados en la biología reproductiva de la especie *P. panamensis* señalan que posee una reproducción sexual exitosa en todo el PM, con múltiples eventos de liberación de larvas durante casi todo el año en Bahía de La Paz (Mora-Pérez, 2005), pero con un periodo estacional en el desarrollo de plánulas de agosto a septiembre en Bahía de Banderas (Vizcaíno-Ochoa, 2003) y de mayo a septiembre en Oaxaca (Rodríguez-Troncoso, 2006). Otra diferencia en la reproducción de la especie *P. panamensis* entre las áreas de desarrollo coralino es el número de ovocitos por pólipo, en Bahía de La Paz fue común encontrar de uno a tres ovocitos (Mora-Pérez, 2005), en Bahía de Banderas un ovocito por pólipo (Vizcaíno-Ochoa, 2003), y en Oaxaca fue generalmente de uno a dos ovocitos (Rodríguez-Troncoso, 2006). Estas diferencias en la reproducción del coral *P. panamensis* en las diferentes áreas de desarrollo coralino del PM pudieron haber generado los altos valores de los índices  $N_g:N$  y  $G_o:G_e$  (Tabla VII) en las poblaciones dentro del GC en comparación con el resto de las poblaciones analizadas. Además podrían significar un mayor potencial reproductivo en las poblaciones del GC con respecto a las otras poblaciones del PM, al tener la posibilidad de realizar múltiples eventos de liberación de larvas por pólipo y/o por colonia al año.

### 5.3 Diferenciación poblacional

Una diferenciación genética fue observada entre las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM. Se observó una ligera estructuración genética en las poblaciones que se encuentran dentro del GC (BLA, BCO y BLP) y una estructuración de moderada a alta observada en las poblaciones que se encuentran en la entrada del GC (PAV y BB) y sur del Pacífico mexicano (OAX).

Las comparaciones de las frecuencias alélicas y genotípicas considerando todos los loci, mostraron diferencias significativas en la mayoría de las poblaciones, excepto en las poblaciones que se encuentran en el GC (Tabla VIII f y IX f). Los valores más bajos de distancia genética de Nei (1978) correspondieron a las poblaciones dentro del GC (BLA, BCO y BLP) entre 0.006 y 0.045; y entre PAV y BB con 0.044 (Tabla X). Los valores de distancia genética entre las poblaciones del GC son similares a los reportados en literatura para las especies que poseen una ligera estructuración genética como en *Montipora tortuosa* (0.001-0.035, Stobart y Benzie, 1994), *Goniastrea aspera* (0.015-0.045, Nishikawa y Sakai, 2005) y *Pocillopora damicornis* (0.016-0.066, Adjeround y Tsuchiya, 1999). Lo anterior sugiere que las poblaciones de *P. panamensis* que se encuentran dentro del GC, y las poblaciones de PAV y BB poseen ligeras diferencias genéticas. Por su parte, los valores de distancia genética en las poblaciones de BB y OAX con el resto de las poblaciones de *P. panamensis* en el PM fueron los mayores en el estudio (0.112-0.352) y son semejantes a los reportados en las especies con una estructura genética alta en sus poblaciones como en *Acropora tenuis* (0.031-

0.187, Nishikawa *et al.*, 2003; Márquez *et al.*, 2002), *Mycedium elephantotus* (0.020-0.280, Yu J-K *et al.*, 1999), *Stylophora pistillata* (0.014-0.309, Nishikawa *et al.*, 2003). Además también se aproximaron a los valores obtenidos para *Pocillopora damicornis* (0.026-0.337, Chávez-Romo *et al.*, datos no publicados) con una estructuración genética en el PM y para dos poblaciones ubicadas en el Pacífico de Panamá para las especies de *Pocillopora damicornis* ( $D < 0.270$ ) y *Porites panamensis* ( $D = 0.256$ ) que se encuentran afectadas por surgencias y blanqueamientos coralinos ocasionados durante eventos ENSO (Weil, 1992a, b; D’Croz y Maté, 2004). Por su parte, el dendrograma construido con base a las distancias genéticas mostró tres grupos de poblaciones formados ligeramente por su proximidad geográfica (Fig. 4), el cual, apoya la similitud entre las poblaciones dentro del GC y la diferenciación con las poblaciones de la entrada del GC (PAV y BB), y el sur del PM (OAX). Lo anterior señala que las poblaciones que se encuentran dentro del GC podrían comprender poblaciones más homogéneas genéticamente, mientras que la población de la boca del GC (PAV y BB) y sur del PM (OAX) poseen una mayor diferenciación genética y esta diferencia podría ser debida a la alta frecuencia de fenómenos naturales (e.g. huracanes, surgencias y mortalidades por eventos ENSO).

Las diferencias significativas encontradas en los índices de endogamia dentro ( $F_{IS}$ ) y en el total ( $F_{IT}$ ) de las poblaciones indican una deficiencia de heterocigotos, un posible reclutamiento local, y como consecuencia un flujo genético limitado en las poblaciones de *P. panamensis* en el PM. Los valores significativos del estadístico  $F_{ST}$

en la mayoría y en el total de los loci (0.074-0.325, Tabla XI) y en la comparación por pares de poblaciones (0.013-0.124, Tabla XII), indican una estructuración genética del coral *P. panamensis* en poblaciones del PM con una separación de 65 a 2400 kms. Los valores del estadístico  $F_{ST}$  en las poblaciones que se encuentran dentro del GC (0.013-0.024) con una separación de 216 a 520 km, pertenecen a una ligera estructuración genética de acuerdo al criterio establecido por Wright (1978); mientras que los valores de las poblaciones de la entrada al GC y el sur del PM ( $F_{ST}$  0.048-0.124) que poseen una separación de 590 a 1800 km corresponden a una estructuración moderada a alta. Valores similares han sido reportados en otras especies coralinas incubadoras con una estructuración genética en la costa de California como *Balanophyllia elegans* (media  $F_{ST}$  = 0.195; Hellberg, 1996) y en Japón como *Stylophora pistillata* (0.070-0.346; Nishikawa *et al.*, 2003) con poblaciones con una separación de 302 y 650 kms, respectivamente. Otras especies con poblaciones en la Gran Barrera Arrecifal australiana con una estructuración genética y una mayor separación geográfica (2460 kms) como *Acropora cuneata* y *Seriatopora hystrix* han mostrado valores de 0.240-0.343 y 0.026-0.405 respectivamente (Ayre y Hughes, 2004). Lo anterior sugiere que dentro de las especies incubadoras coralinas existen patrones de estructuración genética que pueden observarse en una escala de geográfica en kms, quizás debido a la dispersión limitada de sus larvas y al alto reclutamiento local (Harrison y Wallace, 1990; Helberg, 1996; Carlon, 1999).

Particularmente, estudios realizados en el Golfo de California y Pacífico mexicano han mostrado una subdivisión poblacional y una reducción del flujo genético en varios grupos de invertebrados marinos y peces (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000a, b; Medina y Walsh, 2000; Riginos y Nachman, 2001; Riginos, 2005; Valles-Jimenez *et al.*, 2005; Licona-Chávez *et al.*, 2007). Así mismo, se ha observado una alta estructuración genética en poblaciones coralinas en las especies *Pocillopora damicornis* ( $F_{ST}$  0.027-0.420, Chávez-Romo *et al.*, datos no publicados) y *Pavona gigantea* ( $\Phi_{ST}$  0.10-0.20; Saavedra-Sotelo *et al.*, datos no publicados). Se han sugerido diversos factores que pueden estar provocando una subdivisión poblacional en la región del PM, entre ellos están efectos combinados de biogeografía, distancia geográfica, discontinuidad del hábitat, dirección de corrientes, diferencias en condiciones ambientales (diferencias de temperatura, regímenes de marea, condiciones eutróficas por surgencias) lo que podría significar historias evolutivas distintas entre las poblaciones (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000a, b; Riginos y Nachman, 2001; Alvarez-Borrogo, 2002; Halfar *et al.*, 2005; Licona-Chávez *et al.*, 2007).

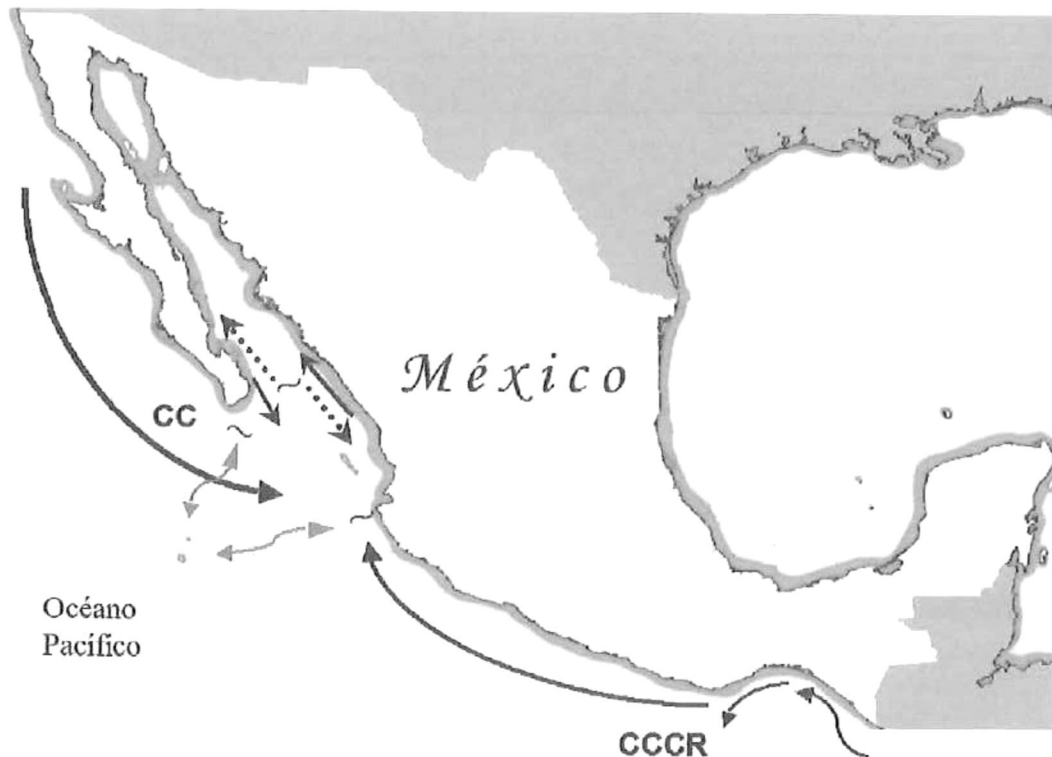
#### 5.4 Flujo genético y aislamiento por distancia

Diferencias en el flujo genético existen en las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM. La anterior aseveración es apoyada por la diferencia en los altos números de migrantes por generación entre las poblaciones dentro del GC ( $N_{em} = 10-19$ ), en comparación con el resto del PM ( $N_{em} < 7$ , Fig 5). Este flujo genético es importante en un contexto evolutivo, debido que obedece a una ligera diferenciación genética entre las poblaciones dentro del GC con una separación aproximada de 216 a 520 km, y una diferenciación genética de moderada a alta entre el resto de poblaciones del PM con distancias entre 590 a 1800 km. Se ha mencionado que un migrante por generación entre las poblaciones es suficiente para evitar las diferencias por la deriva genética y la fijación de alelos (Avice, 1994; Hartl y Clark, 1997). Sin embargo, es posible que las diferencias encontradas entre las poblaciones de *P. panamensis* en el PM, se han debidas a las diferencias en reproducción y en la dispersión; ya que estos factores pueden producir distintos patrones en el intercambio genético entre las poblaciones coralinas (Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2000; Neves *et al.*, 2008). Además, el flujo genético entre las poblaciones es afectado por diversos factores como la reproducción de la especie estudiada, traslape de las generaciones, la habilidad de dispersión, disponibilidad de espacio para reclutamiento, discontinuidad del habitat, condiciones oceanográficas y aislamiento por distancia (Stoddart, 1983; Ayre *et al.*, 1997; Palumbi, 1994).

La relación encontrada entre la divergencia genética y la distancia geográfica mediante la prueba de Mantel ( $F_{ST}$  y distancia geográfica  $R^2 = 0.5037$ ,  $p = 0.0262$ , Fig. 6; D y distancia geográfica  $R^2 = 0.6875$ ,  $p = 0.0126$ , Fig. 7), apoya que las poblaciones de la especie *P. panamensis* poseen un aislamiento por distancia. Otras especies coralinas incubadoras han mostrado una dispersión limitada y un aislamiento por distancia en poblaciones separadas por 20 y 50 km en *Seriatopora hystrix* (Maier *et al.*, 2005) y en *Balanophyllia elegans* (Hellberg, 1996), respectivamente. Esta relación indica que el flujo genético ocurre principalmente en las poblaciones cercanas debido a la dispersión limitada de la larva de especies coralinas incubadoras, y disminuye entre las poblaciones distantes. Lo anterior, promueve una relación directa entre divergencia genética y distancia geográfica, esta relación es conocida como aislamiento por distancia, la cual puede explicar una diferenciación entre las poblaciones (Hellberg, 1996; Palumbi, 2003). Además el reclutamiento local parece ser el proceso dominante de las poblaciones de *P. panamensis* y puede ser uno de los aspectos más importantes para explicar la estructura genética observada en el presente estudio. Por otro lado, el reclutamiento parece ser heterogéneo, al menos en la región de Bahía de Banderas y Oaxaca, debido a que puede variar entre las localidades con una separación de 1.5 a 6 km (Medina-Rosas *et al.*, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007). Estos datos sugieren que existen otros factores de mediana a gran escala que pueden estar influyendo en la estructuración genética observada. Además, la dispersión larval, por mínima que sea, se vuelve un factor primordial en la conexión genética entre las poblaciones de *P. panamensis*.

### 5.5 Patrón de circulación oceánica y rutas de dispersión en el PM.

Para poder comprender las relaciones genéticas existentes entre las comunidades coralinas en el PM, a continuación se explican las tres posibles rutas de dispersión para los propágulos coralinos en relación con el patrón de corrientes (Fig. 10) y las evidencias genéticas encontradas en el presente trabajo que apoyan o rechazan dichas rutas.



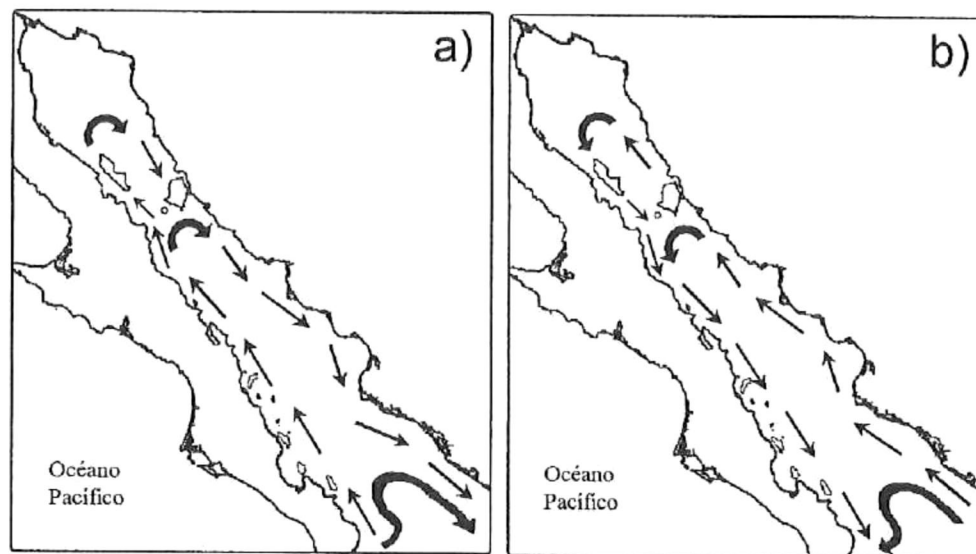
**Figura 10.** Patrón general de corrientes superficiales en el Pacífico mexicano. CC = Corriente de California, CCCR = Corriente Costera de Costa Rica, (~) ubicación estacional de frentes oceánicos. La línea punteada y continua en la entrada del Golfo de California indican la circulación en invierno y verano, respectivamente. Las líneas continuas con flechas en doble sentido, indican la posible ruta de migración entre las Islas de Revillagigedo y el continente (Fuente: Cano-Pérez, 1991; Álvarez-Borrego, 2002).

La primer ruta de dispersión coralina dentro del Pacífico mexicano es generada principalmente por la Corriente Costera de Costa Rica (CCCR) con una dirección de Sur a Norte. Esta corriente es paralela a la costa de Centroamérica y México, y puede llegar a Bahía de Banderas y Golfo de California (Wyrтки, 1965; Roden, 1971). Diversos autores han señalado la posibilidad de que la CCCR transporte propágulos coralinos desde Centroamérica hasta Oaxaca, por la afinidad de especies coralinas entre estas áreas (Glynn y Wellington, 1983; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998). Así también, que ocurra una dispersión de propágulos desde Oaxaca a Bahía de Banderas y de ahí al Golfo de California (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Glynn y Ault, 2000; Reyes-Bonilla, 2003), pero es probable que no todas las especies puedan realizar una dispersión o colonización mediante esta trayectoria debido a que existen frentes oceánicos al sur de Bahía de Banderas y en la entrada del Golfo de California (Cano-Pérez, 1991; Reyes-Bonilla, 2001; 2003). La composición genética obtenida en el presente trabajo evidenció que existen genotipos que son exclusivos de la población de OAX ( $EST-I^{AA}$  y  $EST-I^{AB}$ ) que posiblemente sean dominantes en poblaciones más sureñas. Por lo que esta primer ruta de dispersión podría ocurrir entre las poblaciones de *P. panamensis* del Sur del PM y las poblaciones de Centroamérica. Sin embargo, los valores significativos del estadístico  $F_{ST}$  (Tabla XII) y las estimaciones del flujo genético mediante el número de migrantes por generación (Fig. 5) entre las poblaciones de BB y OAX señalan que existe una alta estructuración genética entre estas poblaciones y un flujo genético poco frecuente.

La segunda ruta de dispersión de propágulos coralinos comprende a las Islas de Revillagigedo con el continente, desde el GC o de Bahía de Banderas hacia estas islas (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Reyes-Bonilla *et al.*, 1999; Ketchum y Reyes-Bonilla, 2001; Reyes-Bonilla, 2003). En el presente estudio no fue posible analizar poblaciones de las Islas de Revillagigedo para comprobar esta ruta de dispersión. Sin embargo, estudios genéticos en *Pavona gigantea* mostraron haplotipos distintos entre las Islas de Revillagigedo y poblaciones del sur del Golfo de California y Bahía de Banderas (Saavedra-Sotelo *et al.*, datos no publicados), por lo que es posible que exista un aislamiento debido a la distancia de las islas oceánicas con el continente y a la presencia de frentes oceánicos.

La tercer ruta, comprende la dispersión de propágulos desde el GC de California a Bahía de Banderas (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Ketchum y Reyes-Bonilla, 2001). Esta ruta puede ser posible por la corriente superficial que fluye hacia el sur por el extremo occidental del golfo durante el invierno y hacia el norte por el verano, y por los giros ciclónicos y anticiclónicos que ocurren en la entrada del GC (Figs. 11a, b; Álvarez-Borrogo, 2002; Makarov y Jímez-Illesca, 2003). Estudios de genética poblacional en las especies coralinas *Pocillopora damicornis*, *Porites panamensis* y *Pavona gigantea* muestran una estrecha relación entre las poblaciones del sur del GC y Bahía de Banderas (Chavéz-Romo *et al.*, datos no publicados; Paz-García, este estudio; Saavedra-Sotelo *et al.*, datos no publicados), lo que podría confirmar esta ruta de dispersión. Por su parte, la similitud de la composición genética (Figs. 4 y 5), la estrecha distancia genética (Tabla X y Fig. 6), la ligera diferenciación genética (Tabla XII) y el

flujo genético de moderado a alto (Fig. 7) observados entre las poblaciones dentro del GC en el coral *P. panamensis* podrían deberse al patrón estacional de corrientes superficiales en el Golfo de California (Fig. 11) y a la reproducción de la especie en casi todo el año (Mora-Pérez, 2005). La similitud de las poblaciones de la entrada del GC (PAV y BB) podría deberse a estos dos factores mencionados; donde en invierno las poblaciones del sur del GC podrían exportar propágulos a las Islas Marías o hasta Bahía de Banderas mediante un giro anticiclónico de la circulación oceánica (Fig. 11a), y en verano estas últimas poblaciones podrían generar emigrantes hacia las poblaciones norteñas por medio del giro ciclónico de la entrada del GC (Fig. 11b).



**Figura 11.** Patrón general de corrientes superficiales en el Golfo de California. **a)** Indica la circulación en Invierno, **b)** circulación en verano (Fuente: Álvarez-Borrego, 2002; Makarov y Jímez-Illesca, 2003).

## 6. Conclusiones.

- Se observó una composición genética de acuerdo a la ubicación geográfica de las poblaciones y se detectaron genotipos exclusivos de las poblaciones de BLA (*LGG-I<sup>DE</sup>* y *LGG-I<sup>EE</sup>*) y OAX (*EST-I<sup>AA</sup>* y *EST-I<sup>AB</sup>*) que permiten una diferenciación interpoblacional.
- El número de colonias clones ( $N_c$ ) y los índices  $N_g:N$  y  $G_o:G_e$  demuestran que el reclutamiento asexual posee poca influencia en las poblaciones (< 30%) y que la reproducción sexual es la más importante en el mantenimiento de las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM.
- La diferencia en los altos valores de los índices  $N_g:N$  y  $G_o:G_e$  en las poblaciones del GC (BLA, BCO y BLP), podrían significar un mayor tamaño poblacional y potencial reproductivo al tener la posibilidad de realizar múltiples eventos de liberación de larvas por pólipo y/o por colonia al año; en comparación de las poblaciones del resto del PM (PAV, BB, OAX).
- Las poblaciones de *P. panamensis* en el PM mostraron un arreglo de tres grupos genéticamente relacionados: a) las poblaciones ubicadas dentro del GC (BLA, BCO y BLP), b) las que se encuentran en la boca del GC (PAV y BB), y c) OAX que se localiza al sur del PM. Además pudieron ser diferenciados con base a la composición alélica y genotípica de las poblaciones (variabilidad genética), a la

distancia genética. Además esta estructura correspondió con la proximidad geográfica de las poblaciones.

- La mayoría de las poblaciones del coral *P. panamensis* presentaron desviaciones significativas al modelo de Hardy-Weinberg en la variación genética (frecuencias alélicas y genotípicas) y en los índices de endogamia (dentro  $F_{IS}$  y en el total  $F_{IT}$ ) de las poblaciones, lo que indica una deficiencia de heterocigotos. Esta deficiencia puede ser consecuencia de:
- 1) distintos eventos de reclutamiento de diferentes cohortes y por la mezcla de colonias adultas de comunidades coralinas distintas (efecto Wahlund)
  - 2) sesgo entre el sexo de las colonias por diferencias en las proporciones sexuales
  - 3) diferencias temporales en la expulsión de larvas a lo largo del PM
  - 4) un alto reclutamiento local y endogamia por una dispersión limitada de la larva
  - 5) diferencias en la mortalidad sufrida por las comunidades coralinas debido a distintos fenómenos naturales.
- Una diferenciación genética fue observada entre las poblaciones del coral *P. panamensis* en el PM, con base en la variación y distancia genética, y al estadístico  $F_{ST}$ . Uno correspondiente a una ligera estructuración genética en las poblaciones que se encuentran dentro del GC (BLA, BCO y BLP) y una estructuración de moderada a alta observada en las poblaciones que se encuentran en la entrada del GC (PAV y BB) y sur del Pacífico mexicano (OAX).

- Las poblaciones de *P. panamensis* se ajustaron al modelo de aislamiento por distancia, donde el flujo genético ocurre principalmente entre poblaciones aledañas, debido a una dispersión larval limitada, y disminuye entre las poblaciones distantes.
  
- Los patrones de circulación oceánica pueden en gran medida estar generando la composición genética en grupos y la estructuración genética observada en las poblaciones de *P. panamensis* en el PM, y en general de otras especies coralinas y otros taxa.

## 7. *Literatura Citada*

- Adjeround, M. y M. Tsuchiya. 1999. Genetic variation and clonal structure in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* in the Ryukyu Archipelago, southern Japan. *Mar Biol* 134: 753-760.
- Alvarez-Borrego, S. 2002. Physical oceanography. In: *Island Biogeography of the Sea of Cortés* (Case TJ, Cody ML, Ezcurra E eds), pp. 41–59. Oxford University Press, Oxford.
- Ayre, D. J. y T. P. Hughes. 2000. Genotypic diversity and gene flow in brooding and spawning corals along the Great Barrier Reef, Australia. *Evolution* 54 (5): 1590-1605.
- Ayre, D. J. y T. P. Hughes. 2004. Climate change, genotypic diversity and gene flow in reef-building corals. *Ecol. Lett.* 7: 273-278.
- Ayre, D. J. y B. L. Willis. 1988. Population structure in the coral *Pavona cactus*: clonal genotypes show little phenotypic plasticity. *Mar. Biol.* 99: 495-505.
- Ayre, D. J., T. P. Hughes y R. J. Standish. 1997. Genetic differentiation, reproductive mode, and gene flow in the brooding coral *Pocillopora damicornis* along the Great Barrier Reef, Australia. *Mar. Ecol. Progres. Ser.* 159: 175-187.
- Avise, J. C. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York, NY. 511 pp.
- Bak, R. P. M. y E. H. Meesters. 1999. Population structure as a response of coral communities to global change. *Amer. Zool.* 39: 56-65
- Bellwood, D. R. , T. P. Hughes, C. Folke y M. Nyström. 2004. Confronting the coral reef crisis. *Nature* 429: 827-833.
- Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-Dye Binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cano-Pérez, F. A. 1991. Golfo de California: Oceanografía física 453-495 p. En: *Oceanografía de mares mexicanos*. (de la Lanza-Espino, G.) AGT Editor. México.
- Carlson, D. B. 1999. The evolution of mating systems in tropical reef corals. *TREE* 14 (12): 491-495.

- Carriquiry, J. D. y H. Reyes-Bonilla. 1997. Estructura de la comunidad y distribución geográfica de los arrecifes coralinos de Nayarit, Pacífico de México. *Ciencias Marinas* 23 (2): 227-248.
- Carriquiry, J.D., A. L. Cupul-Magaña, F. Rodríguez-Zaragoza y P. Medina-Rosas. 2001. Coral bleaching and mortality in the Mexican Pacific during the 1997-98 El Niño and prediction from a remote sensing approach. *Bull. Mar. Sci.* 69 (1): 237-249.
- Chávez-Romo H. E., F. Correa-Sandoval, H. Reyes-Bonilla, D. A. Paz-García, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M. P. Hernández-Cortés. 2007. Variación genética de la Leucil aminopeptidasa (E. C. 3.4.11.1) en *Pocillopora damicornis* Linnaeus, 1758 en el Pacífico mexicano. IV Congreso Mexicano de Arrecifes de Coral.
- Chávez-Romo H. E., F. Correa-Sandoval, H. Reyes-Bonilla, D. A. Paz-García, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M. P. Hernández-Cortés. 2009. Genetic structure of a scleractinia coral, *Pocillopora damicornis*, in the Mexican Pacific Proc 11th Int Coral Reef Sym.
- Chrambach, A. y D. Rodbard. 1971. Polyacrilamide gel electrophoresis. *Science* 172: 440-450.
- Constantini, F., C. Fauvelot y M. Abbiati. 2007. Fine-scale genetic structuring in *Corallium rubrum*: evidence of inbreeding and limited effective larval dispersal. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 340: 109-119.
- D' Croz, L. y J. L. Maté. 2004. Experimental responses to elevated water temperature in genotypes of the reef coral *Pocillopora damicornis* from upwelling and non-upwelling environments in Panama. *Mar. Biol.* 23: 473-483.
- De la Rosa-Vélez, J. y F. Rodríguez-Romero. 1989. Enfoque genético para el análisis de poblaciones de recursos pesqueros: el caso de la población ostrícola de la laguna términos, Campeche. 255-284 pp. En: J. De la Rosa-Vélez y F. González-Farías (eds), Temas de Oceanografía Biológica en México. UABC. Ensenada.
- De la Rosa-Vélez, J., R. Escobar-Fernández, F. Correa-Sandoval, M. Marqueda-Cornejo y J. De la Torre-Cueto. 2000. Genetic structure of two commercial penaeids (*Penaeus californiensis* and *P. stylirostris*) from the Gulf of California, as revealed by allozyme variation. *Fish. Bull.* 98: 674-683
- Garthwaite, R. L., D. C. Potts, J. E. N. Veron y T. J. Done. 1994. Electrophoretic identification of poritid species (Anthozoa: Scleractinia). *Coral Reefs* 13 (1): 49-56.

- Gillespie, J.H. 1998. Population genetics: a concise guide. John Hopkins University Press, London.
- Glynn, PW; Colley, SB; Eakin, CM; Smith, DB; Cortes, J; Gassman, NJ; Guzman, HM; Del Rosario JB; Feingold, JS. 1994. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama, and Galapagos Islands (Ecuador). 2. Poritidae. *Mar. Biol.* 118 (2): 191-208.
- Glynn, P. W. y J. S. Ault. 2000. A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral reefs* 19: 1-23.
- Glynn, P. W. y J. M. Wellington. 1983. Corals and coral reefs of the Galápagos islands. University of California Press, Berkeley.
- Goudet J, 1995. FSTAT (vers. 1.2): a computer program to calculate F-statistics. *J. Hered.* 86: 485-486.
- Goudet J, M. Raymond, T. Demeus y F. Rousset. 1996. Testing differentiation in diploid populations. *Genetics.* 144:1933-1940
- Guzmán, H. M., J. Cortés, R. H. Richmond y P. W. Glynn. 1987. Efectos del fenómeno de "El Niño Oscilación Sureña" 1982/83 en los arrecifes coralinos de la Isla del Caño, Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.* 35 (2): 325-332.
- Halfar, J., L. Godinez-Orta, B. Riegl, J. E. Valdez-Holguin y J.M. Borges. 2005. Living on the edge: high-latitude *Porites* carbonate production under temperate eutrophic conditions. *Coral Reefs* 24: 582-592.
- Halfar, J., L. Godinez-Orta, M. Mutti, J. E. Valdez-Holguin, J. M. Borges. 2006. Carbonates calibrated against oceanographic parameters along a latitudinal transect in the Gulf of California, Mexico. *Sedimentology* 53: 297-320.
- Harris, H. y D. A. Hopkinson. 1978. Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics. North Holland Biomedical Press.
- Hartl, D. L. y Clark, A. G. 1997. Principles of population genetics. 3ra edición. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 542 pp.
- Hellberg, M. E. 1996. Dependence of gene flow on geographic distance in two solitary corals with different larval dispersal capabilities. *Evolution* 50 (3): 1167-1175.
- Jackson, J. B. C. 1986. Modes of dispersal of clonal benthic invertebrates: consequences for species distributions and genetic structure of local populations. *Bull. Mar. Sci.* 39: 588-606.

- Ketchum, J. T. y H. Reyes-Bonilla. 2001. Taxonomía y distribución de los corales hermatípicos (Scleractinia) del Archipiélago de Revillagigedo, México. *Rev. Biol. Trop.* 49 (3-4): 803-848.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- LaJeunesse, C. T., D. J. Thornhill, E. F. Cox, F. G. Stanton, W. K. Fitt y G. W. Schmidt. 2004. High diversity and host specificity observed among symbiotic dinoflagellates in reef coral communities from Hawaii. *Coral Reefs* 23 (4): 596-603
- Lasker, H. R. y M. A. Coffroth. 1999. Responses of clonal reef taxa to environmental change. *Amer. Zool.* 39: 92-103.
- Licona-Chávez, A., F. Correa-Sandoval, J. de la Rosa-Vélez, F. Camarena-Rosales. 2007. Análisis genético y morfométrico de *Chione californiensis* y *C. subimbricata* (Bivalvia: Veneridae) del Pacífico oriental mexicano y el Golfo de California. *Ciencias Marinas* 33(2): 149-171.
- López-Pérez, R. A., H. Reyes-Bonilla, A. F. Budd y F. Correa-Sandoval. 2003. Posición taxonómica de *Porites sverdrupi*, coral endémico del Golfo de California. *Ciencias Marinas* 29(4B): 677-691.
- López-Pérez, R. A., M. G. Mora-Pérez y G. E. Leyte-Morales. 2007. Coral (Anthozoa: Scleractinia) recruitment at Bahías de Huatulco, Western México: Implications for coral community structure and dynamics. *Pacific Science* 61 (3): 355-369.
- Maier, E., R. Tollrian, B. Rinkevich, B. Nürnberger. 2005. Isolation by distance in the scleractinian coral *Seriatopora hystrix* from the Red Sea. *Marine Biology* 147: 1109-1120.
- Makarov, V. y A. Jiménez-Illesca. 2003. Corrientes básicas barotrópicas en el Golfo de California. *Ciencias Marinas* 29 (2): 141-153.
- Manchenko, G. P. 1994. Handbook of Detection of Enzymes on Electrophoretic Gels. CRC Press. USA. 341 pp.
- Márquez, M. L., M. J. H. Van Oppen, B. L. Willis y D. J. Miller. 2002. Sympatric populations of the highly cross-fertile coral species *Acropora hycinthus* and *Acropora cytherea* are genetically distinct. *Proc. R. Soc. Lond. B* 269: 1289-1294.

- Medina-Rosas, P., J. C. Carriquiry y A. L. Cupul-Magaña. 2005. Reclutamiento de *Porites* (Scleractinia) sobre sustrato artificial en arrecifes afectados por el Niño 1997-98 en Bahía Banderas, Pacífico Mexicano. *Ciencias Marinas* 31 (1A): 103-109.
- Medina, M. y P. J. Walsh. 2000. Comparison of four Mendelian loci of the California Sea Hare (*Aplysia californica*) from populations of the coast of California and the Sea of Cortez. *Mar. Biotechnol.* 2: 449-455.
- Miller, M. P. 1997. Tools for population genetic analyses (TFPGA) 1.3: A Windows program for the analysis of allozyme and molecular population genetic data. Programa distribuido por el autor en <http://bioweb.usu.edu/mpmbio/tfpga.asp>.
- Mora-Pérez, M. G. 2005. Biología reproductiva del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 (Anthozoa: Scleractinia), en Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR.
- Nei, M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. *Genetics* 89: 583-590.
- Neves, E. G., S. C. S. Andrade, F. L. Silveira y V. N. Solferini. 2008. Genetic variation and population structuring in two brooding coral species (*Siderastrea stellata* and *Siderastrea radians*) from Brazil. *Genetica* 132: 243-254.
- Ng, W. C. y B. Morton. 2003. Genetic structure of the scleractinian coral *Platygyra sinensis* in Hong Kong. *Mar. Biol.* 143 (5): 963-968.
- Nishikawa, A., M. Katoh y K. Sakai. 2003. Larval settlement rates and gene flow of broadcast-spawning (*Acropora tenuis*) and planula-brooding (*Stylophora pistillata*) corals. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 256: 87-97.
- Nishikawa, A. y K. Sakai. 2005. Genetic connectivity of the scleractinian coral *Goniastrea aspera* around the Okinawa Islands. *Coral Reefs* 24: 318-323.
- Ochoa-López, E., H. Reyes-Bonilla y J. Ketchum-Mejía. 1998. Daños por sedimentación a las comunidades coralinas del sur de la Isla Socorro, Archipiélago de Revillagigedo, México. *Ciencias Marinas* 24 (2): 233-240.
- Palumbi, S. R. 1997. Molecular biogeography of the Pacific. *Coral Reefs* 16 (Suppl): S47-S52.
- Palumbi, S. R. 2003. Population genetics, demographic connectivity, and the design of marine reserves. *Ecological Applications* 13 (1) supplement: S146-S158.

- Paz-García, D. A. 2005. Revisión taxonómica del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 (Anthozoa: Scleractinia) en el Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura. UABCS. 70 pp.
- Paz-García, D. A. y H. Reyes-Bonilla. 2006. Variaciones temporales en la tasa de regeneración a lesiones artificiales de dos morfotipos de *Porites panamensis*. *Ciencias Marinas* 32 (1B): 187-194.
- Paz-García, D. A., F. Correa-Sandoval, H. E. Chávez-Romo, H. Reyes-Bonilla, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas, M. P. Hernández-Cortés. 2007. Variación genética de la Leucil aminopeptidasa (E. C. 3.4.11.1) en *Porites panamensis* Verrill, 1866 en el Pacífico mexicano. IV Congreso Mexicano de Arrecifes de Coral.
- Paz-García, D. A., F. Correa-Sandoval, H. E. Chávez-Romo, H. Reyes-Bonilla, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas, M. P. Hernández-Cortés (2009) Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) from the Mexican Pacific. Proc 11th Int Coral Reef Sym
- Raymond M. y Rousset F. (1995) GENEPOP (version 1.2): population genetics software for exact tests and ecumenicism. *J. Hered.* 86:248–249
- Reyes-Bonilla H. 2001. Effects of the 1997–1998 El Niño-Southern Oscillation communities of the Gulf of California, Mexico. *Bull. Mar. Sci.* 69: 251–266.
- Reyes-Bonilla, H. 2003. Coral reefs of the Pacific coast of Mexico. 331-349 pp. *En: Latin American Coral Reefs*. J. Cortés (ed). Elsevier Science.
- Reyes-Bonilla, H. y L. E. Calderón-Aguilera. 1994. Parámetros poblacionales de *P. panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) en el arrecife de Cabo Pulmo, México. *Rev. Biol. Trop.* 42: 121-128.
- Reyes-Bonilla, H. y A. López-Pérez. 1998. Biogeografía de los corales pétreos (Scleractinia) del Pacífico de México. *Ciencias Marinas* 24: 211-224.
- Reyes-Bonilla, H., T. L. Pérez-Vivar y J. T. Ketchum-Mejía. 1999. Distribución geográfica y depredación de *Porites lobata* (Anthozoa: Scleractinia) en la costa occidental de México. *Rev. Biol. Trop.* 47: 273-279.
- Reyes-Bonilla, H., J. D. Carriquiry, G. E. Leyte-Morales y A. L. Cupul-Magaña. 2002. Effects of the El Niño-Southern Oscillation and the anti-El Niño event (1997–1999) on coral reefs of the western coast of México. *Coral Reefs* 21: 368–372.

- Richardson, B. J., P. R. Baverstock y M. Adams. 1986. Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematics and population studies. Academic Press INC, Australia. 410 pp.
- Rice, W. R. 1989. Analyzing tables of statistical tests. *Evolution* 43 (1): 223-225.
- Riginos, C. y M. W. Nachman. 2001. Population subdivision in marine environments: the contributions of biogeography, geographical distance and discontinuous habitat to genetic differentiation in a blennioid fish, *Axoclinus nigricaudus*. *Molecular Ecology* (2001) 10: 1439–1453.
- Roden, G. I. 1971. Thermohaline structure and baroclinic flow across the Gulf of California entrance and in the Revillagigedo islands region. *J. Phy. Ocean.* 2: 177-183.
- Rodríguez-Troncoso, A. P. 2006. Ciclo reproductivo de tres especies de corales formadoras de arrecife en Bahía La Entrega, Oaxaca, México. Tesis de Maestría. UABC.
- Selander, R. K. 1970. Behavior and genetic variation in natural populations. *Amer. Zool.* 10: 53-66.
- Sherman, C. D. H., D. J. Ayre y K. J. Miller. 2005. Asexual reproduction does not produce clonal populations of the brooding coral *Pocillopora damicornis* on the Great Barrier Reef, Australia. *Coral Reefs* 25: 7-18.
- Sokal, R. R. y F. J. Rohlf. 1995. Biometry. The principles and practice of statistics in Biological Research. W. H. Freeman and Company. New York. 887 pp.
- Stobart, B. y J. A. H. Benzie. 1994. Allozyme electrophoresis demonstrates that the scleractinian coral *Montipora digitata* is two species. *Mar. Biol.* 118: 183–190.
- Stoddart, J. A. 1983. Asexual production of planulae in the coral *Pocillopora damicornis*. *Mar. Biol.* 76: 279-284.
- Stoddart, J. A. y J. F. Taylor. 1988. Genotypic Diversity: Estimation and Prediction in Samples. *Genetics* 118: 705-711.
- Swofford, D. L. y R. B. Selander. 1981. Biosys-1: a FORTRAM program for the comprehensive analysis of electrophoretic data in population genetics and systematics. *J. Hered.* 72: 281-283.
- Valles-Jimenez, R., P. Cruz y R. Perez-Enriquez. 2005. Population genetic structure of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) from Mexico to Panama: microsatellite DNA variation. *Mar. Biotechnol.* 6: 475-484.

- Vizcaíno-Ochoa, V. E. 2003. Biología reproductiva de tres especies de corales formadores de arrecifes en Bahía Banderas, México. Tesis de Maestría. UABC. Ensenada.
- Weil, E. 1992a. Genetic and Morphological variation in Caribbean and eastern Pacific *Porites* (Anthozoa, Scleractinia). Preliminary Results. *Proc. 7th Inter. Coral Reef Symp.* 2: 643-656.
- Weil, E. 1992b. Genetic and morphological variation in *Porites* (Anthozoa: Scleractinia) across the isthmus of Panama. Tesis Doctoral. University of Texas, Austin, 238 pp.
- Weir, B. S. and C. C. Cockerham. 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. *Evolution* 38(6): 1358-1370.
- Whitaker, K. 2006. Genetic evidence for mixed modes of reproduction in the coral *Pocillopora damicornis* and its effect on population structure. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 306: 115–124.
- Willis, B. L. y D. J. Ayre. 1985. Asexual reproduction and genetic determination of growth form in the coral *Pavona cactus*: biochemical genetic and immunogenic evidence. *Oecologia* 65: 516-525.
- Wright, S. 1978. Evolution and the genetics of populations. University of Chicago Press, Chicago. 580 pp.
- Wyrtki, K. 1965. Surface currents of the eastern Pacific Ocean. *Bull. Interam. Trop. Tuna Comm.* 9: 279-303.
- Yu, J.-K., H.-Y. Wang, S.-C. Lee y C.-F. Dai. 1999. Genetic structure of a scleractinian coral, *Mycedium elephantotus*, in Taiwan. *Mar. Biol.* 133 (1): 21-28.
- Zouros E. y D. W. Foltz. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. *Malacologia* 25(2): 583–591.

---

## *8. Anexos*

---

**Anexo I. Protocolo para la preparación de soluciones stock.**

El código siguiente al reactivo que se encuentra entre paréntesis pertenece a la compañía SIGMA.

**1) Solución Stoddart (1983).**

Sucrosa (S-2395)	1g	
NADP (N-0505)	2.5 mg	
EDTA (ED 2SS)	0.1 g	
2-mercaptoetanol (M-7154)	0.1 ml	
Agua destilada	9.8 ml	Almacenar a 4°C en oscuridad.

**2) Solución Monomera de Acrilamida (30.8 % T, 2.7% C)**

Acrilamida (A-8887)	30 g
N-bisacrilamida (M-7279)	0.8 g

Disolver en 100 ml de agua destilada. Filtrar con papel Wathman No. 4 y almacenar a 4°C en oscuridad. Tener precaución debido que la acrilamida es un reactivo neurotóxico.

**3) Buffer separador (1.5 M Tris-HCl, pH 8.8)**

Trizma Base (T-1503) 45.41 g  
Ajustar pH con HCl, aforar a 250 ml con agua destilada. Almacenar a 4°C.

**4) Buffer concentrador (0.5 M Tris-HCl, pH 6.75)**

Trizma Base (T-1503) 15.13 g  
Ajustar pH con HCl, aforar a 250 ml con agua destilada. Almacenar a 4°C.

**continuación . . . Anexo I.****5) Buffer para corrimiento 5X, pH 8.3 (para cámara de electroforesis)**

Trizma Base (T-1503) 6.05 g

Glicina (G-7126) 28.5 g

Agua destilada 1000 ml Ajustar pH con HCl.

Mezclar 100 ml de buffer 5X con 400 ml de agua destilada para obtener una concentración 1X. Almacenar a 4°C.

**6) Buffer de carga**

Glicerol (G-8773) 4 ml

Azul de bromofenol 1% 500 µl

0.5 M Tris-HCl 5 ml

Mezclar reactivos por inversión en un tubo de 15 ml. Almacenar a 4°C.

**7) Persulfato de Amonio 10 % (APS)**

Disolver 100 mg de persulfato de amonio por ml de agua destilada. Hacer alícuotas de 200 µl. Almacenar a -20°C.

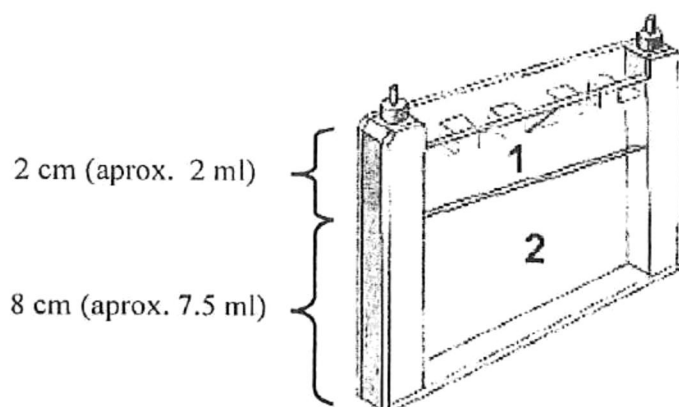
## Anexo II. Protocolo para la preparación de geles discontinuos.

➤ **1 - GEL CONCENTRADOR** (100 x 100 x 0.7 mm espesor)

<i>Reactivos</i>	<i>3.8 % T, 0.34 % C</i>
Agua destilada	1.38 ml
Buffer separador	_____
Buffer concentrador	0.56 ml
Solución de Acrilamida	0.291
APS 10%	11 µl
TEMED	3 µl
TOTAL	2.25 ml

➤ **2 - GEL SEPARADOR**

<i>Reactivos</i>	<i>6 % T, 0.54 % C</i>	<i>8 % T, 0.71 % C</i>
Agua destilada	4.35	3.82 ml
Buffer separador	2 ml	2 ml
Buffer concentrador	_____	_____
Solución de Acrilamida	1.6 ml	2.13 ml
APS 10%	50 µl	50 µl
TEMED	5 µl	5 µl
TOTAL	8 ml	8 ml



**Figura 12.** Esquema de gel discontinuo de Poliacrilamida.  
1 = gel concentrador, 2 = gel separador.

### Anexo III. Protocolo para la preparación de soluciones histoquímicas

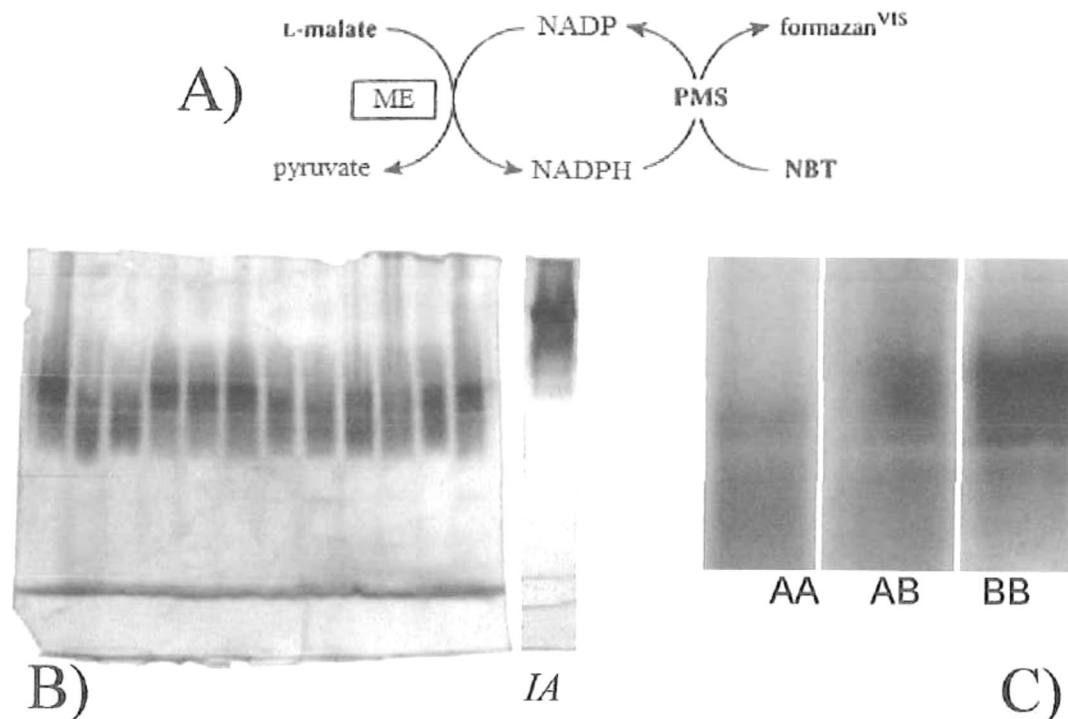
Incubar el gel en la solución histoquímica en oscuridad a 37°C hasta que aparezcan las bandas de color azul oscuro (compuesto formado llamado formazan). Lavar el gel y detener reacción con etanol al 50%.

#### ➤ EC. 1.1.1.40 Enzima Mállica (ME)

Solución sustrato ácido málico	45 ml
NADP	15 mg
NBT	15 mg
PMS	3 mg

*Preparación solución sustrato ácido málico:*

Disolver 65 mg de L-ácido Mállico en 45 ml de 0.1 M Tris-HCl, pH 8. Posteriormente ajustar a pH 8 con NaOH. La solución sustrato puede ser almacenada a 4°C debido que es estable en refrigeración.



**Figura 13.** Visualización de ME para *Porites panamensis*. A) esquema de la reacción (tomado de Manchenko, 1994); B) electromorfos en el coral y en invertebrados asociados al coral (utilizado como control, IA); C) genotipos observados.

➤ E. C. 1.4.1.3 Glutamato deshidrogenasa (GDH)

0.1 M Tris-HCl, pH 8	50 ml
Ácido Glutámico	200 mg
NADP	20 mg
MTT	10 mg
PMS	10 mg

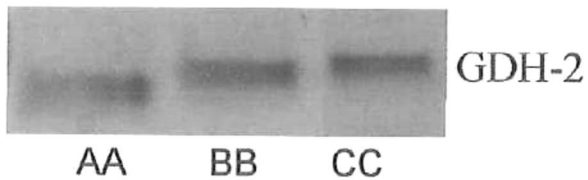
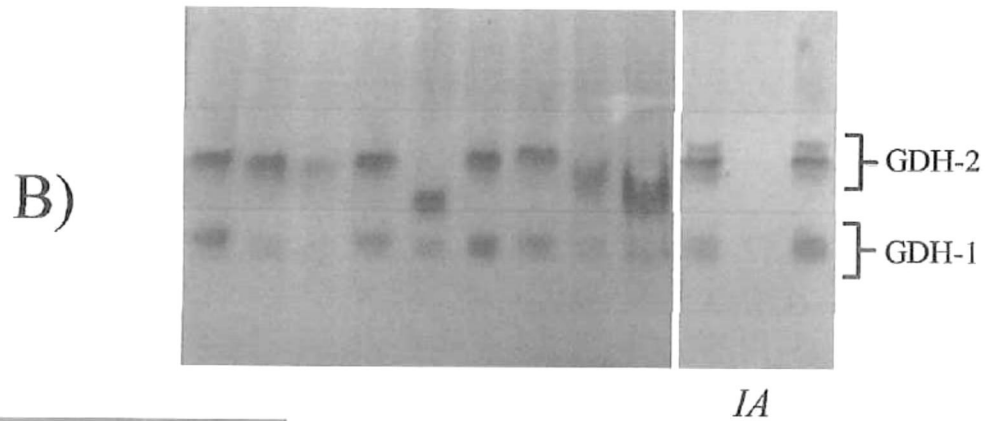
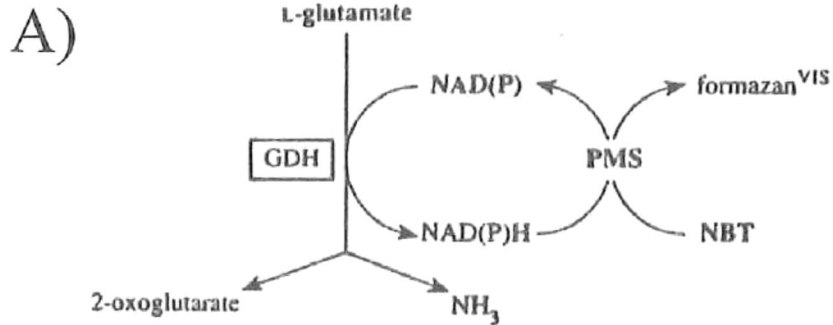


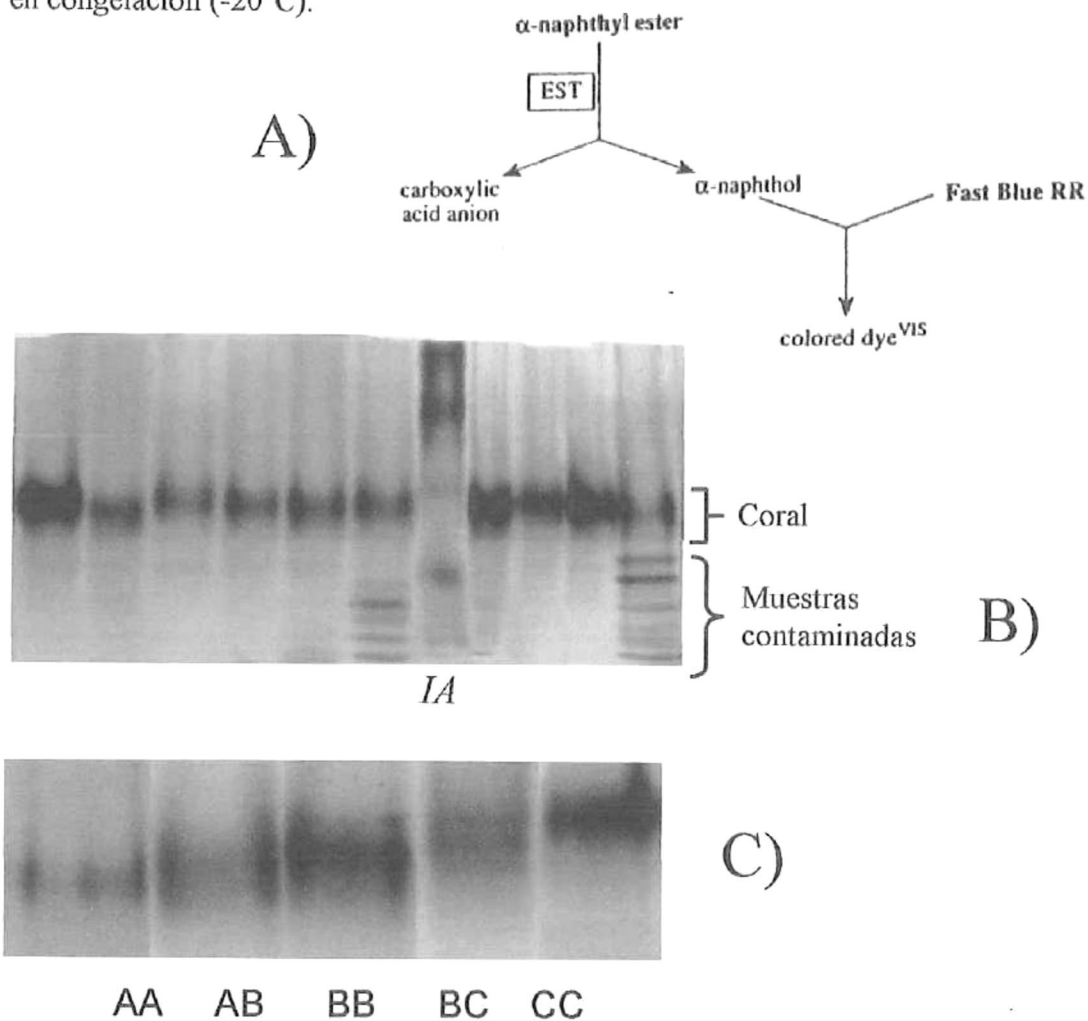
Figura 14. Visualización de GDH para *Porites panamensis*. A) esquema de la reacción (tomado de Manchenko, 1994); B) electromorfos en el coral y en invertebrados asociados al coral (utilizado como control, IA); C) genotipos observados.

➤ E.C. 3.1.1.1 Esterasa (EST)

0.5 M Tris-HCl, pH 7.1	5 ml
Sal azul rápido BB	50 mg
Solución sustrato EST	1.5 ml
Agua destilada	43.5 ml

*Preparación solución sustrato de Esterasas:*

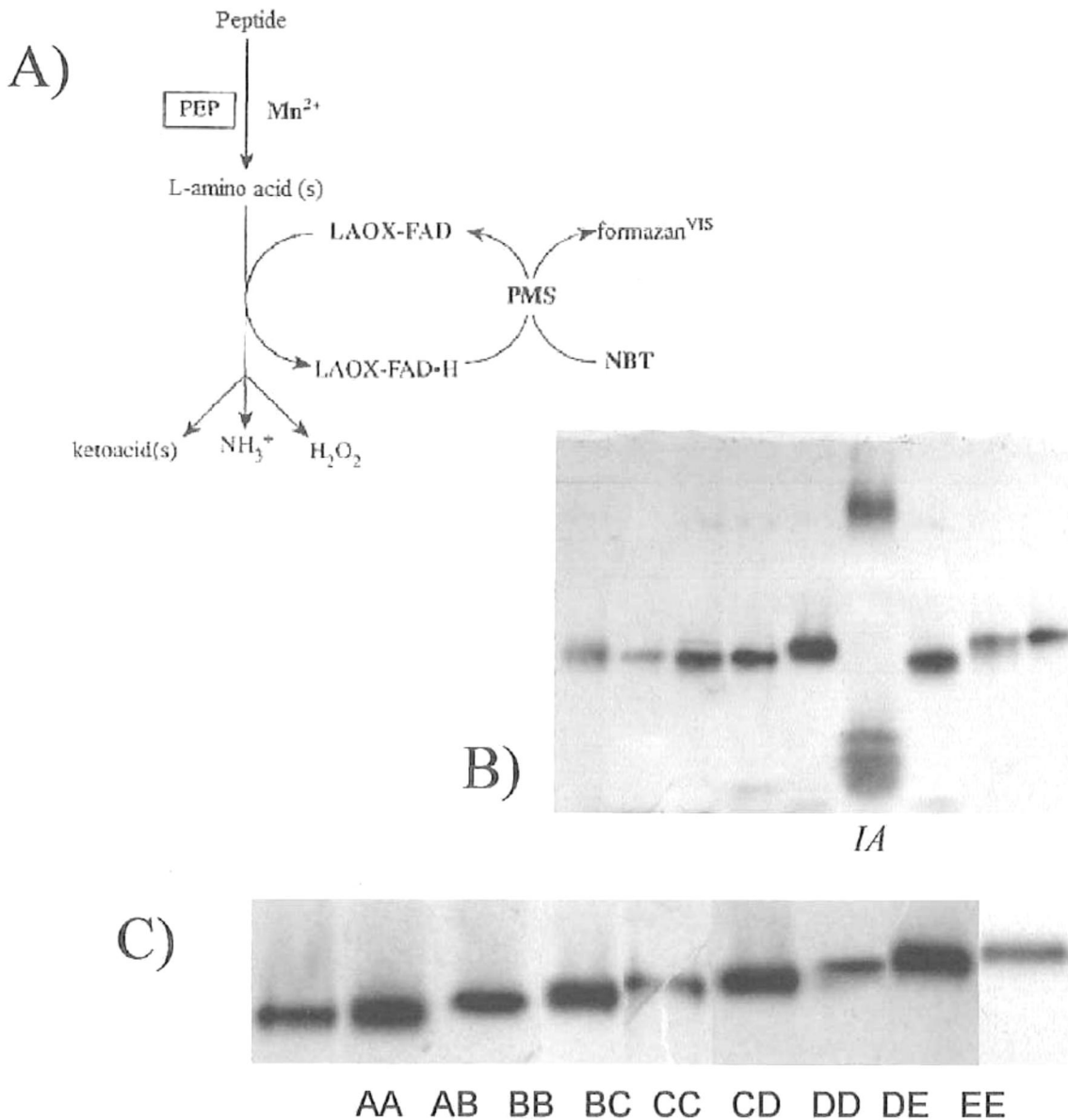
Disolver 0.1 g de  $\alpha$ -naftil acetato y 0.1 g de  $\beta$ -naftil acetato en 5 ml de acetona. Posteriormente agregar 5 ml de agua destilada. Almacenar en congelador durante 4 días en congelación ( $-20^{\circ}\text{C}$ ).



**Figura 15.** Visualización de EST para *Porites panamensis*. A) esquema de la reacción (tomado de Manchenko, 1994); B) electromorfos en el coral y en invertebrados asociados al coral (utilizado como control, IA); C) genotipos observados.

➤ E. C. 3.4.11.1 Leucil aminopeptidasa tipo B Leucil-glicina-glicina (LGG)

0.05 M Tris-HCl, pH 8	40 ml	* Equivalente a 8
L-amino ácido oxidasa	33.3 mg*	unidades de Enzima
LGG	40 mg	
NBT	20 mg	
PMS	5 mg	



**Figura 16.** Visualización de LGG para *Porites panamensis*. **A)** esquema de la reacción (tomado de Manchenko, 1994); **B)** electromorfos en el coral y en invertebrados asociados al coral (utilizado como control, IA); **C)** genotipos observados.