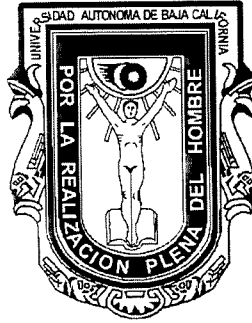


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS



**VARIACIÓN GENÉTICA DEL CORAL *Pocillopora damicornis* Linnaeus, 1758
(Scleractinia) EN EL PACÍFICO MEXICANO**

TESIS

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

Héctor Efraín Chávez Romo

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. DICIEMBRE 2009

Resumen

Se realizó una caracterización genética y determinó la estructura genética poblacional de la especie de coral *Pocillopora damicornis* en tres áreas de desarrollo coralino del Pacífico mexicano (PM): Golfo de California (GC), Bahía de Banderas (BDB) y Oaxaca (OAX). Los organismos analizados provinieron de seis localidades: El Portugués (POR), Punta Gaviotas (PGA), ubicadas en el GC, Punta Arena de la Ventana (PAV) e Isla Redonda (IRD), en la entrada del GC, Las Dos Hermanas (LDH) y La Entrega (LET) al sur del PM (SPM). El análisis genético fue a nivel de alozimas, por medio de electroforesis vertical en geles discontinuos de poliacrilamida. Se registraron seis loci pertenecientes a cuatro sistemas enzimáticos. Se observaron genotipos exclusivos o diagnósticos en las poblaciones al norte del PM (POR y PGA LGG-1^{AB}) y SPM (LDH: LGG-1^{AC}, LGG-1^{BC} y LGG-1^{CD}; LET: LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}); el genotipo LGG-1^{BC} es compartido entre PGA y LDH. La mayoría de las poblaciones de *P. damicornis* presentaron deficiencias de heterocigotos y no se ajustaron al modelo de Hardy-Weinberg. Estas deficiencias pueden ser debido a: I) la predominancia de la reproducción asexual vía fragmentación en las comunidades coralinas de *P. damicornis*; II) un reclutamiento local y endogamia debido a una dispersión limitada de gametos o larvas; III) la reproducción de distintas colonias sexualmente maduras a edades tempranas y por diferentes eventos de reclutamiento de distintas cohortes (efecto Wahlund); IV) Distintos eventos de mortalidad de las comunidades coralinas por disturbios naturales. Los índices $N_g:N$ y $G_o:G_e$ revelan una combinación de estrategias reproductivas

(reproducción asexual y sexual) en las poblaciones de *P. damicornis* en el PM. Se observa una notable diferenciación genética entre las poblaciones del PM al identificarse tres grupos, I) las del GC (POR y PAV), II) entrada del GC (PAV e IRD), y III) las del SPM (LDH y LET). Se encontró una baja estructura genética entre las poblaciones del GC (POR, PGA, PAV e IRD) y de moderada a alta entre estas últimas y las del SPM (LDH y LET). El flujo genético entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM fue de bajo a moderado y no se observa un aislamiento por distancia; lo anterior muy posiblemente debido a una dispersión amplia de gametos en las poblaciones del GC (POR, PGA, PAV e IRD), no obstante de que existe una contribución importante de la reproducción asexual en algunas poblaciones del PM. Los patrones de circulación superficial oceánica del PM muy posiblemente mantienen la variación y estructura genética observada en las poblaciones de *P. damicornis*, aunque no debe descartarse la influencia de otros factores.

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

VARIACIÓN GENÉTICA DEL CORAL *Pocillopora damicornis*
Linnaeus, 1758 (Scleractinia) EN EL PACÍFICO MEXICANO

TESIS

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

MAESTRO EN CIENCIAS EN OCEANOGRAFÍA COSTERA

PRESENTA

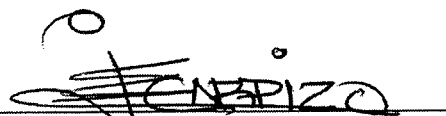
Héctor Efraín Chávez Romo

Aprobada por:




Dr. Francisco Correa Sandoval

Presidente del jurado



Dr. Eugenio de J. Carpizo Ituarte

Sinodal



Dr. Héctor Reyes Bonilla

Sinodal

Dedicatoria

A mi Hermosa y adorada madre, Ma. Esther Romo Zarate, eres mi motivación para continuar en este camino, gracias por apoyar todas mis decisiones y seguir a mi lado.

A mi Padre y hermanos porque son muy importantes en vida.

A mis sobrinos porque al estar junto a ellos todo es felicidad y la vida no transcurre.

A mis abuelos. . . que están en otro plano. . . pero se que están al pendiente de lo que sucede. . .

A la memoria de Mario Alberto, desearía volver a ver tu sonrisa y poder escucharte de nuevo. . . a pesar del corto tiempo. . . continuas en mí.

A Karina Xolaltenco Coyotl, gracias por llegar a mi vida y enseñarme que aun existen personas que te apoyan ante cualquier eventualidad, estos cuatro años han sido demasiado buenos a tu lado. . . esta si la cumplí, espero te guste. . .

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca de maestría otorgada (198888) para la realización de la presente tesis.

Al programa de Posgrado de Oceanografía Costera de la Facultad de Ciencias Marinas y al Instituto de Investigaciones Oceanológicas (por medio del programa PIFI 3.3, FOMES OP/PIFI-2006-02-16-02) de la UABC, por el financiamiento otorgado para asistir a los diferentes congresos en los que se presentó información de esta tesis.

Apoyo del proyecto CIBNOR-UABCS “Revisión del estatus de las especies del género *Porites* (Link, 1807, Anthozoa: Scleractinia) en el Golfo de California, México”. Bajo la responsabilidad del Dr. Héctor Reyes Bonilla y Dr. Martha Patricia Hernández Cortés, investigadores de la UABC y CIBNOR, respectivamente.

Al proyecto SEMARNAT (2002-C01-0605) “Diagnostico de los Recursos Naturales de la Bahía y Microcuenca del Río Cacaluta”. Responsable Dr. Andrés López Pérez investigador de la UMAR.

Dr. Francisco Correa Sandoval, gracias por brindarme la oportunidad de trabajar en su laboratorio, por sus comentarios e ideas que han sido de gran ayuda en mi aprendizaje, además de las sugerencias para mejorar el escrito.

Al Dr. Héctor Reyes Bonilla por la ayuda brindada, sugerencias e interés para mejorar el escrito, también por continuar apoyando mis ideas y ser participe de ellas.

Dr. Eugenio Carpizo Ituarte, le agradezco las sugerencias e ideas hechas, y por el apoyo brindado durante los momentos difíciles.

A la Dr. Martha Patricia Hernández Cortés por el apoyo en el almacenamiento de las muestras.

Al Dr. Andrés López Pérez por la ayuda en la recolecta de organismos en Las Dos Hermanas y La Entrega, Oaxaca.

M. C. Pedro Medina Rosas, gracias por la ayuda en el muestreo de La Isla Redonda, Bahía de Banderas, además de sus sugerencias hechas para mejorar el estudio.

Al grupo de trabajo del Parque Nacional Islas Marietas y al Centro de Investigaciones de la Costa, de la UdG por el apoyo brindado en la recolecta de los organismos.

Al grupo de trabajo del Dr. Héctor Reyes Bonilla que apoyaron en la recolecta de organismos en las localidades del Golfo de California, junto con Omar López Fuerte y Andrés Peralta quienes han brindado su apoyo desde mi tesis de licenciatura, gracias viejos.

A David Arturo Paz García, por adentrarme en el campo de la genética, gracias por las asesorías, comentarios e ideas durante todo este tiempo, sin tu ayuda esto hubiera sido imposible, también por el apoyo brindado en campo para la recolecta de muestras. Espero que esto sea el inicio de una larga colaboración.

A la Dra. Ana Licona Chávez por su apoyo y comentarios que ayudaron en gran medida a mejorar el trabajo de laboratorio.

A Luis Lombardo (ex alumno UABC), Diana Sánchez Toyas (esposa de David Paz, quién también brindo un gran apoyo en la recolecta de organismos) y a Karina Xolaltenco Coyotl (ex alumna UABC y gran amiga) que ayudaron en el procesamiento de las muestras, en verdad muchas gracias por el tiempo que se tomaron para apoyarme en laboratorio, sin ustedes esto hubiera sido eterno.

A Carlos Alberto Barrera Arriaga y María Esther Jiménez López por seguirme hasta Ensenada, ja ja ja, gracias por compartir momentos tan agradables. No se olviden de las personas que realmente los han apoyado. . .

Marcela, Daniel, Alex y a la Familia Hernández Name por estar al pendiente durante este tiempo y preocuparse por todo lo relacionado a mi vida.

Nadia Citlali y Alfonso Medellín, hermanita fue muy bueno llegar a esta ciudad tan agradable, parte de la culpa es tuya. Tu apoyo siempre ha sido incondicional y lo agradezco enormemente, los dos son grandes personas y no se que habría hecho sin ustedes.

Doña Esther para usted es todo esto, es una persona maravillosa, siempre esta dispuesta a escuchar no importando que le aburra con mis historias, sin usted el

camino hubiera sido difícil, tan sólo le pido que no cambie y menos se aparte de mi vida. La llevo en mi mente cada día que transcurre. Te quiero mucho madre.

Karina Xolaltenco Coyotl, sin ti la ciudad no es la misma, apenas han transcurrido pocas horas y se siente un vacío enorme. . . nunca más, nunca más chaparrón. . .oyeeeeee, no se vale. . . ya extraño bailar contigo. . . eres tan espontánea que cualquier cosa que haces me sirve para olvidar que vivo en un estrés constante, eso nadie más te lo da, siempre tendrás un lugar en mi corazón. Sabrás el significado? Para poder decírtelo tendrás que regresar a la ciudad. . .

Lii ne naa, biaani' ne banda'. Guendarachelú guié' ne biguidi' que nizaaladxé'. Ndaani' bizé bizalulu' biaba' ne ma' qui niree'. Yannadxí rusaa ma' raca stale gayuaa guendaricaala' dxi' zelu'. Ladxiduá zaqueca nuu, nutaaguná' ti guié', cabeza gueedu'. Yanna naa sica ti ba' ma' biaanda' guiruti' rindaqui' guié', sica ti bizé bibidxi xnisa. Ca nezayú xtí' xquídxinu bionde ne que huayuuya' lii. Dxdxigá rinabadiidxa' daaya yaga, dxidxibá ca guie, dxidxigá bandaga. Guná' nga lii, pa lii ne naa, bi ne guendanabani.

Contenido

	Página
Resumen	<i>i</i>
Página de aprobación	<i>iii</i>
Dedicatoria	<i>iv</i>
Agradecimientos	<i>v</i>
Contenido	<i>viii</i>
Lista de figuras	<i>x</i>
Lista de tablas	<i>xii</i>
1. Introducción	1
2. Objetivos	8
2. I. Objetivo general	8
2. II. Objetivos Particulares	8
3. Materiales y métodos	9
3. I. Trabajo de campo	9
3. II. Trabajo de Laboratorio	14
3. II. 1. Análisis genético	14
3. II. 2. Extracción de tejido	14
3. II. 3. Cuantificación de la concentración de proteína	17
3. II. 4. Análisis electroforético	18
3. II. 5. Actividad enzimática	20
3. II. 6. Interpretación de los zimogramas	21
3. II. 6. 1. Registro de electromorfos	21
3. II. 6. 2. Designación de genotipos	21
3. III. Análisis numérico	23
3. III. 1. Variabilidad genética	23
3. III. 2. Estrategia reproductiva dominante	25
3. III. 3. Diferenciación poblacional	26
3. III. 4. Flujo genético y aislamiento por distancia	28
4. Resultados	30
4. I. Variabilidad genética	30
4. II. Estrategia reproductiva dominante	41
4. III. Diferenciación poblacional	41
4. IV. Flujo genético y aislamiento por distancia	50

	Página
5. Discusión	53
5. I. Variabilidad genética	53
5. II. Estrategia reproductiva dominante	61
5. III. Diferenciación poblacional	66
5. IV. Flujo genético y aislamiento por distancia	70
5. V. Patrón de circulación y posibles rutas de dispersión en el PM	72
6. Conclusiones	78
7. Recomendaciones	80
8. Literatura citada	82
9. Anexos	103
Anexo I. Protocolo para la preparación de soluciones stock	103
Anexo II. Preparación de geles discontinuos	105
Anexo III. Preparación de soluciones histoquímicas, reacción y actividad enzimática	106

Lista de figuras

	Página
Figura 1. Zonas y localidades en las cuales se hicieron los muestreos a) Norte Bahía de La Paz, b) Sur Bahía de La Paz, c) Sur Bahía de La Ventana, d) Bahía de Banderas y e) Bahías de Huatulco. *Sitio de recolecta.	11
Figura 2. Representación esquemática de la forma en la que fueron inyectadas las muestras en cada carril de los geles. Los acrónimos indican la abreviación de cada enzima.	19
Figura 3. Visualización de los electromorfos y asignación de genotipos de acuerdo a la estructura cuaternaria de la proteína. El esquema fue modificado del de Harris y Hopkins (1978).	22
Figura 4. (a) Frecuencias alélicas y (b) número de organismos con tinción positiva para seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano. GC: Golfo de California, EGC: Entrada al Golfo de California, SPM: Sur del Pacífico mexicano, POR: El Portugués, PGA: Punta Gaviotas, PAV: Punta Arena de La Ventana, IRD: La Isla Redonda, LDH: Las Dos Hermanas, LET: La Entrega.	33
Figura 5. Frecuencias genotípicas en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano. Abreviación de los grupos y poblaciones igual que en la Figura 4.	37
Figura 6. Dendrograma de la distancia genética de Nei (1978) entre seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano. POR: El Portugués, PGA: Punta Gaviotas, PAV: Punta Arena de La Ventana, IRD: La Isla Redonda, LDH: Las Dos Hermanas, LET: La Entrega.	48
Figura 7. Flujo genético, con base en el número de migrantes por generación (N_{em}), en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> a lo largo del Pacífico mexicano. Abreviación de las poblaciones como en Figura 6.	51
Figura 8. Relación de la divergencia genética (F_{ST}) y distancia geográfica entre las poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano. $P= 0.051$	51
Figura 9. Relación de la distancia genética (F_{ST}) y distancia geográfica entre las poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano. $P= 0.031$	52

Figura 10. Patrón de corrientes superficiales presentes en el Pacífico mexicano. CC: Corriente de California, CCCR: Corriente Costera de Costa Rica, ~: frentes oceánicos, circulación en invierno (→) y verano (⋯→) dentro del Golfo de California, ↖; posible ruta de dispersión de Islas Revillagigedo con el continente y/o viceversa (Origen: Cano-Pérez, 1991; Álvarez-Borrego, 2002). 74

Figura 11. Patrón de corrientes superficiales presentes en el Golfo de California. a) circulación durante el invierno y b) circulación en el verano (Origen: Álvarez-Borrego, 2002; Makarov y Jiménez-Illesca, 2003). 77

Figura 12. Gel discontinuo de poliacrilamida. 105

Figura 13. Actividad de enzima málica en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados. 106

Figura 14. Actividad de glutamato deshidrogenasa en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados. 107

Figura 15. Actividad de esterasa en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados. 108

Figura 16. Actividad de leucil glicina glicina en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados. 109

Lista de tablas

	Página
Tabla 1. Zonas y localidades del Pacífico mexicano donde se realizaron las recolectas.	13
Tabla 2. Sistemas enzimáticos ensayados durante la estandarización de la técnica de electroforesis.	15
Tabla 3. Sistemas enzimáticos empleados en la electroforesis y concentración de proteína necesaria para observar actividad enzimática en <i>P. damicornis</i>	19
Tabla 4. Frecuencias alélicas de cinco loci polimórficos y uno monomórfico en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i>	32
Tabla 5. Frecuencias genotípicas de cinco loci polimórficos en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano.	35
Tabla 6. Variación genética en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano.	40
Tabla 7. Análisis para determinar la estrategia reproductiva dominante en seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano.	43
Tabla 8. Comparaciones de las frecuencias alélicas por locus (a-e) y todos los loci (f) entre pares de poblaciones mediante el método de cadena de Markov. Valor <i>P</i> (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). Abreviación de las poblaciones igual que en la Tabla 4. Nivel de significancia: * <i>P</i> < 0.05, ** <i>P</i> < 0.01, *** <i>P</i> < 0.001, NS: no significativo.	44
Tabla 9. Comparaciones de las frecuencias genotípicas por locus (a-e) y todos los loci (f) entre pares de poblaciones mediante el método de cadena de Markov. Valor <i>P</i> (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). Abreviaciones de las poblaciones como en la Tabla 4. Nivel de significancia: * <i>P</i> < 0.05, ** <i>P</i> < 0.01, *** <i>P</i> < 0.001, NS: no significativo.	46
Tabla 10. Identidad genética (debajo de la diagonal) y distancia genética sin sesgo (arriba de la diagonal) de acuerdo a Nei (1978) entre seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano.	47
Tabla 11. Estadísticos <i>F</i> de Wrigth (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}) para seis poblaciones de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano.	49

Tabla 12. Comparación por pares de poblaciones del estadístico F_{ST} (debajo de la diagonal) y valor P (arriba de la diagonal) entre seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. 50

1. Introducción

Los arrecifes de coral son ecosistemas altamente productivos y diversos, debido a su heterogeneidad de condiciones ambientales son el soporte de una gran cantidad de especies de invertebrados de importancia económica (p. ej. crustáceos, moluscos y peces), que son la base para la formación y permanencia de estos ecosistemas (Glynn, 1997; 2001; Knowlton, 2001; LaJeunesse *et al.*, 2007). Se estima que existen alrededor de 800 especies de corales hermatípicos pertenecientes al Orden Scleractinia (Bourne, 1900) que se caracterizan por estar limitados a aguas cálidas y relativamente someras (Glynn *et al.*, 1972; Carpenter, 1997; Glynn, 1997).

La pérdida y degradación de los hábitats coralinos se ha incrementado considerablemente en el Pacífico Oriental durante las últimas dos décadas (Glynn, 1988; Guzmán, 1991). Esto debido a las intensas y constantes alteraciones (disturbios) naturales y/o antropogénicas, que han afectado a la mayoría de los arrecifes en esta región (Salvat, 1987; Guzmán, 1991). La lenta recuperación, combinada con una intensa bioerosión, ha dado lugar a una extensa destrucción de la estructura del arrecife (Glynn, 1988; Guzmán, 1988). Estas variaciones tienen importantes consecuencias en la biología de cada especie, por ejemplo en la forma de reproducción, así como en el proceso de sucesión ecológica como parte de la recuperación de la comunidad arrecifal después de un impacto (Connell *et al.*, 1997; Hughes *et al.*, 1992). De igual manera ocasionan modificaciones en la estructura poblacional y en la diversidad genética. Altera la posibilidad de sobrevivencia de los arrecifes y

puede llegar a ocasionar extinciones locales de sus poblaciones (Guzmán *et al.*, 1987; Guzmán, 1991; Glynn y D'Cross, 1990).

La Región del Pacífico mexicano (PM) esta influenciada por una cantidad de fenómenos naturales que pueden originar cambios en las comunidades coralinas, tal es el caso de la sedimentación, la turbidez, el aporte de nutrientes por la descarga de ríos, además de la ocurrencia de tormentas y huracanes (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Ochoa-López *et al.*, 1998; Reyes-Bonilla, 2003). De igual forma, la región es afectada, por anomalías en la temperatura superficial del mar ocasionadas por la Oscilación Sureña de El Niño, y que en conjunto todos estos eventos, han originado mortalidades masivas de los arrecifes coralinos (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Reyes-Bonilla, 2001; 2003; Carriquiry *et al.*, 2001). En forma especial durante El Niño de 1997-1998, se registró la mayor temperatura superficial del agua observada, lo que ocasionó daños masivos en las principales comunidades coralinas (Medina-Rosas *et al.*, 2005); en el Golfo de California se registró una mortalidad del 18%, en Jalisco y Nayarit fue de 96% y en Oaxaca alrededor del 70% (Kramer *et al.*, 2000; Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002). A pesar de esto, diversos estudios sobre cobertura, reclutamiento y biología reproductiva de las comunidades coralinas realizados en la región, indican que existe una aparente recuperación de los arrecifes afectados (Vizcaíno-Ochoa, 2003; Medina-Rosas *et al.*, 2005; Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007; López-Pérez *et al.*, 2007). Se pone de manifiesto que la reproducción sexual y el reclutamiento local de las colonias sobrevivientes, juegan un papel importante en la recuperación de

aquellos arrecifes que fueron afectados por estos eventos y la mejora no sólo se debe al aporte de propágulos provenientes de otros sitios del Pacífico (Glynn y Wellington, 1983; Medina-Rosas *et al.*, 2005).

La realización de estudios genéticos en los que se utilizan marcadores moleculares y ensayos a nivel de alozimas por medio de electroforesis, han sido empleados ya que son útiles para analizar el estado genético de las poblaciones en arrecifes coralinos, ya sea por un monitoreo o después de algún fenómeno natural (Hunter, 1993; Adjeround y Tsuchiya, 1999; Ayre y Hughes, 2004; Ridgway, 2005; Miller y Ayre, 2004; 2008a). Los análisis alozímicos representan actualmente un buen método, rápido y fácil de desarrollar que proveen una óptima resolución, para conocer las variaciones intraespecíficas poblacionales de arrecifes coralinos (Awise, 2004; Ridgway, 2005). Estas investigaciones se han desarrollado principalmente en la gran Barrera de Arrecife, en Australia (Benzie *et al.*, 1995; Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2000; Miller y Ayre, 2004; 2008a), en la costa Oeste de Australia y Hawaii (Stoddart 1983; 1984a, b; Whitaker, 2004), en Japón (Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Nishikawa *et al.*, 2003; Nishikawa y Sakai, 2005), al sur de África (Ridgway *et al.*, 2001; Ridgway, 2005), en California (Hellberg, 1995; 1996; 2002), Panamá (Weil y Weigt, 1996; D’Croz y Maté, 2004) y Brasil (Neves *et al.*, 2008). Los estudios son de gran relevancia debido a que han ayudado a estimar la variabilidad genética, el flujo genético, el grado de estructuración genética y el aislamiento por distancia entre las poblaciones (Hellberg, 1994; Palumbi, 1997; Yu *et al.*, 1999; Ayre y Hughes, 2004; Ayre y Miller, 2004; Combosch *et*

al., 2008; Miller y Ayre, 2008a). De la misma manera, han resultado ser una excelente herramienta para inferir el éxito de la reproducción sexual (Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2000; Dai *et al.*, 2000; Ng y Morton, 2003; Miller y Ayre, 2008b; Neves *et al.*, 2008). El uso de estas metodologías ha ayudado a tener una mejor comprensión de la contribución de las diferentes estrategias reproductivas (asexual y sexual), en la composición genética de las poblaciones y en su derivado reclutamiento (Stoddart, 1983; Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2000; Ayre y Miller, 2004; Gilmour, 2002; Hellberg y Taylor, 2002; Sherman *et al.*, 2006).

Una de las especies que ha recibido mayor atención a nivel mundial, en cuanto a estudios genéticos se refiere, es *Pocillopora damicornis* (Stoddart, 1983; 1984a, b; Benzie *et al.*, 1995; Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2004; D’Croz y Maté, 2004; Miller y Ayre, 2008b), debido a que se le considera como una de las principales especies constructoras de arrecifes en el Océano Pacífico (Veron, 2000; Reyes-Bonilla, 2003). Se le registra en el Pacífico Occidental y Central desde Filipinas, Indonesia y Australia, hasta Hawaii y las Islas Line (Veron, 2000). En el Pacífico Oriental se distribuye desde el Golfo de California hasta Ecuador, incluyendo todas las islas oceánicas. Es una especie ramificada, hermafrodita y se caracteriza por presentar una alta complejidad reproductiva, al mostrar dos estrategias reproductivas (**asexual** y **sexual**), que dependen de la posición geográfica en la que se localice (Fadlallah, 1983; Richmond y Hunter, 1990; Harrison y Wallace, 1990), característica que también ha originado varios de los estudios con el fin de determinar la

contribución de cada una de las estrategias en las composición genética de sus poblaciones (Stoddart, 1983; 1984a, b; Benzie *et al.*, 1995; Ayre *et al.*, 1997; Adjeround y Tsuchiya, 1999; Miller y Ayre, 2004; Sherman *et al.*, 2006; Whitaker, 2006; Miller y Ayre, 2004; 2008b). En el PM *P. damicornis* es considerada una de las especies más abundantes, se reproduce y recluta de manera asexual (vía fragmentación), a lo largo del año (Vizcaíno-Ochoa, 2003; Rodríguez-Troncoso, 2004; 2006), por lo que desempeña un papel importante en la recuperación de las poblaciones afectadas (Reyes-Bonilla y Calderón-Aguilera, 1994; Reyes-Bonilla, 2003). Aunque también, puede presentar una reproducción sexual, de mayo a noviembre, por medio de desove de gametos al medio al sur del Golfo de California (Chávez-Romo, 2004; Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007), tal y como se ha observado en Panamá (Glynn *et al.*, 1991). Sin embargo, toda esta información ha sido inferida con el empleo de métodos histológicos y sólo en ciertos sitios del PM, por lo que esta debe ser sustentada con otro tipo de estudios que ayuden a comprender lo que sucede en las comunidades coralinas del PM, siendo uno de éstos el análisis genético de sus poblaciones.

Actualmente en el PM se han desarrollado algunos estudios genéticos, dos de los cuales se enfocan en aspectos taxonómicos para diferenciar entre dos morfotipos del coral *Porites panamensis* (Paz-García, 2005; Paz-García *et al.*, *en prensa a*). En los dos estudios, los autores concluyen con base en la variación y distancia genética, junto con la ausencia de alelos fijos, que los morfotipos de *P. panamensis* corresponden a una misma especie; aunque Paz-

García *et al.*, (*en prensa a*) también analizaron el flujo genético, la contribución de las diferentes estrategias reproductivas y el grado de estructuración genética en sus poblaciones, ellos observan una diferenciación genética entre las poblaciones de los dos morfotipos en la parte norte y central del Golfo de California (GC), mientras que en el sur del GC estas son similares y pueden constituir una población que es más homogénea genéticamente. El resto de los estudios también hacen un análisis similar, aunque sin fines taxonómicos, para ver la relación y diferenciación genética, determinar la contribución de las diferentes estrategias reproductivas (sólo en la segunda especie) y la estructura genética en las poblaciones de tres especies de coral; *Pavona gigantea* (el único estudio que emplea marcadores moleculares, dos genes mitocondriales (COX1 e Intron NAD) y uno nuclear (h_{COX1}); Saavedra-Sotelo, 2007), la autora encontró una estructura genética alta y flujo genético limitado entre la mayoría de sus poblaciones, que podría deberse a la prevalencia de la reproducción sexual a lo largo del PM en esta especie, además de no encontrar un aislamiento por distancia significativo; *Porites Panamensis* (Paz-García, 2009; Paz-García *et al.*, 2007; *en prensa b*), los autores encuentran genotipos exclusivos en la población más sureña (GC) y norteña (sur del Pacífico mexicano, SPM), señalan que las comunidades coralinas del GC separadas por una distancia de hasta 250 km mostraron una ligera diferenciación genética, que posiblemente se deba a un intercambio genético mayor entre sus poblaciones contrario a lo que se había sugerido, además encuentran una contribución mayor de la reproducción sexual y un aislamiento por distancia en

las poblaciones de esta especie; *Pocillopora damicornis* (Chávez-Romo *et al.*, 2007; *en prensa*), en estos estudios se hace mención a una variación genética similar a lo largo del PM, con ligeras diferencias en las poblaciones al SPM, con evidencia de genotipos exclusivos al norte del GC y SPM, incluida una diferenciación y estructura genética entre las poblaciones del GC y de moreda a alta entre las del SPM, lo que podría deberse a las diferentes estrategias reproductivas (posible desove de gametos dentro del GC y fragmentación entrada del GC-SPM) que presenta esta especie a lo largo del PM. Es necesario señalar que los estudios antes citados, de las tres especies, hacen referencia en que las condiciones oceanográficas (patrones de circulación principalmente) presentes a lo largo del PM pueden ser el principal factor que genere la estructura genética observada en las poblaciones.

La información obtenida con este tipo de estudios también es de gran relevancia ya que se puede comparar y corroborar con lo encontrado en los estudios previos que analizan la biología reproductiva de *P. damicornis* a lo largo del PM (Vizcaíno-Ochoa, 2003; Rodríguez-Troncoso, 2004; 2006; Chávez-Romo, 2004; Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007). De la misma manera, el conocimiento de las variaciones genéticas entre y dentro de las comunidades coralinas es importante ya que pueden ayudar a estimar el estado de salud genética de esta especie en las zonas arrecifales. Así, con este conocimiento se pueden aportar herramientas necesarias que ayuden a proponer mejoras en el manejo de las comunidades coralinas a lo largo del PM.

2. Objetivos

2. I. *Objetivo general*

Caracterizar genéticamente y determinar el grado de estructura genética de las poblaciones del coral *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758), en tres áreas de desarrollo coralino del Pacífico mexicano: Golfo de California, Bahía de Banderas y Oaxaca.

2. II. *Objetivos Particulares*

- ♦ Describir la variación genética de seis poblaciones de *P. damicornis* a lo largo del Pacífico mexicano.
- ♦ Analizar la contribución de las estrategias reproductivas (asexual y sexual) en la composición genética de las poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano, con base al número de colonias clones (N_c), al número único de multigenotipos únicos ($N_g:N$) e índice de diversidad genotípica ($G_o:G_e$).
- ♦ Estimar la distancia genética y determinar el grado de estructuración genética presente en esta especie dentro de la región.

3. Materiales y métodos

3.1. Trabajo de campo

El presente estudio se realizó en seis zonas que pertenecen a tres de las áreas coralinas clave del Pacífico mexicano: Golfo de California (GC), Bahía de Banderas (BDB) y Oaxaca (OAX). Se recolectaron ejemplares de *Pocillopora damicornis* en tres zonas del GC: El Portugués (POR), Punta Gaviotas (PGA) y Punta Arena de La Ventana (PAV; Figura 1); en BDB la recolecta se hizo en La Isla Redonda (IRD; Figura 1), y en Oaxaca las zonas donde se recolectó fueron La Entrega (LET) y Las Dos Hermanas (LDH; Figura 1; Tabla 1).

La toma de los especímenes se realizó entre mayo y septiembre de 2006, a una profundidad de 2 a 9 m por medio de buceo autónomo (SCUBA) en cada una de las zonas (Tabla 1). Los especímenes, entre 16 y 48 fragmentos, fueron desprendidos del sustrato rocoso o arrecifal, con ayuda de martillo y cincel, y constaron de una rama de *P. damicornis* con longitud de 5 a 9 cm, tomada de distintas colonias que se encontraban separadas entre sí, por una distancia de 2 a 3m. Esto se hizo con la finalidad de evitar que se tratara de organismos clones, originados vía fragmentación. Una vez recolectados, los fragmentos se colocaron en cubetas de plástico con agua de mar o bolsas de nylon para ser llevados a tierra y ahí fueron colocados en hielo molido o nitrógeno líquido para su traslado al laboratorio.

Los ejemplares de las zonas pertenecientes al área del Golfo de California, se transportaron el mismo día en nitrógeno líquido al Laboratorio de Bioquímica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) en

La Paz, B. C. S., y antes de 24 horas, los especímenes se guardaron temporalmente a -80°C , temperatura a la cual se preserva intacta su actividad enzimática (Weil, 1992a; b; Weil y Weigt, 1996). Por su parte, los especímenes recolectados en las zonas pertenecientes a las áreas de Bahía de Banderas y Oaxaca se transportaron en hielo y mantuvieron en congelación por un periodo de dos semanas en el Centro Universitario de la Costa *campus* Puerto Vallarta de la Universidad Autónoma de Guadalajara y en la Universidad del Mar *campus* Puerto Ángel, respectivamente. Posteriormente, todo el material (de las tres ciudades) fue transportado al Laboratorio de Biogeografía Molecular de la Universidad Autónoma de Baja California *campus* Ensenada. El envío de los ejemplares se hizo en una hilera cerrada herméticamente, la cual contenía hielo fino molido, alcohol etílico al 50% y sal común que ayudaron a mantener las muestras a una temperatura de -15°C (comunicación personal Dr. Francisco Correa-Sandoval, 2006). Finalmente, los ejemplares se almacenaron a -80°C hasta su extracción de tejido.

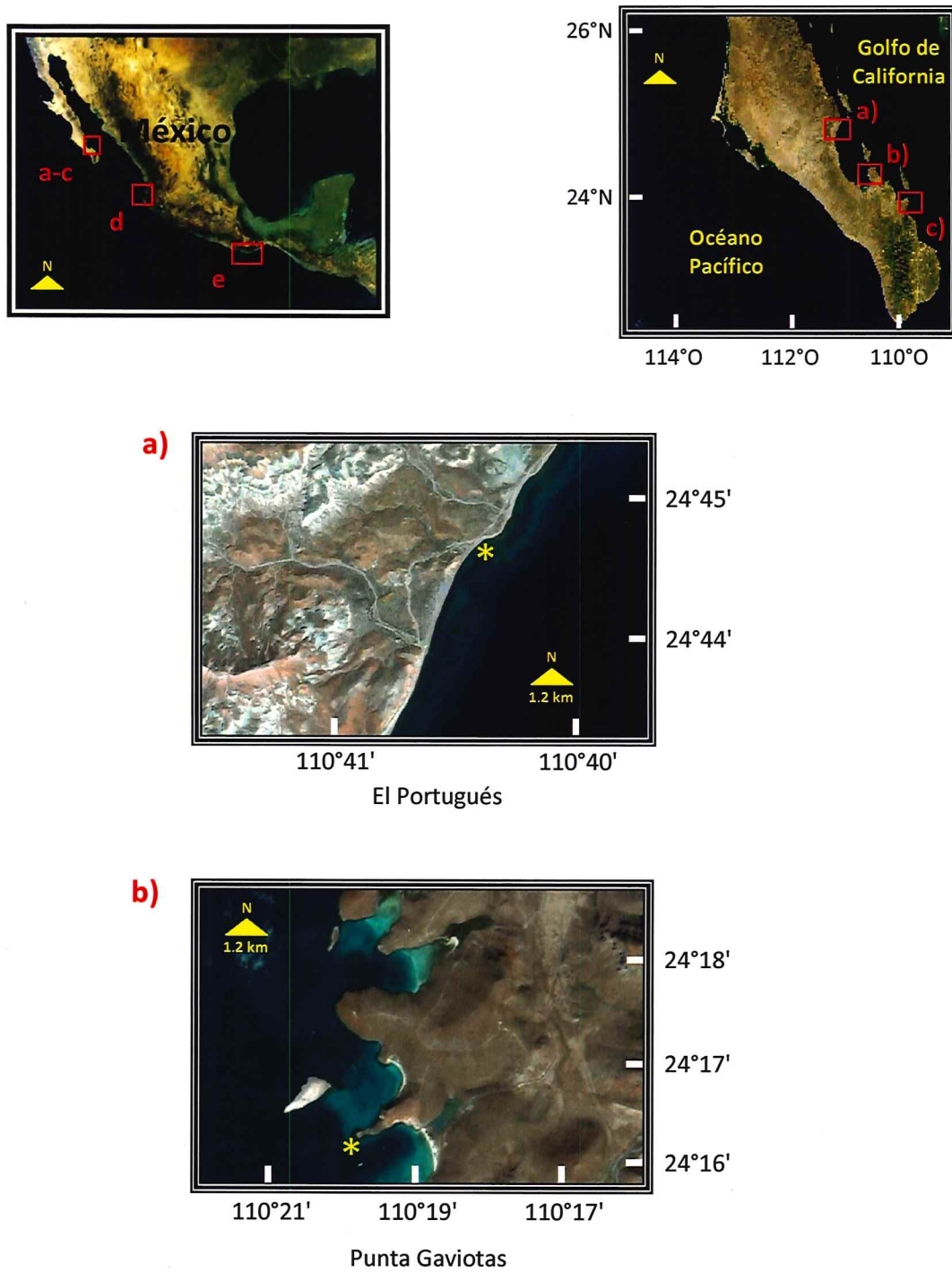
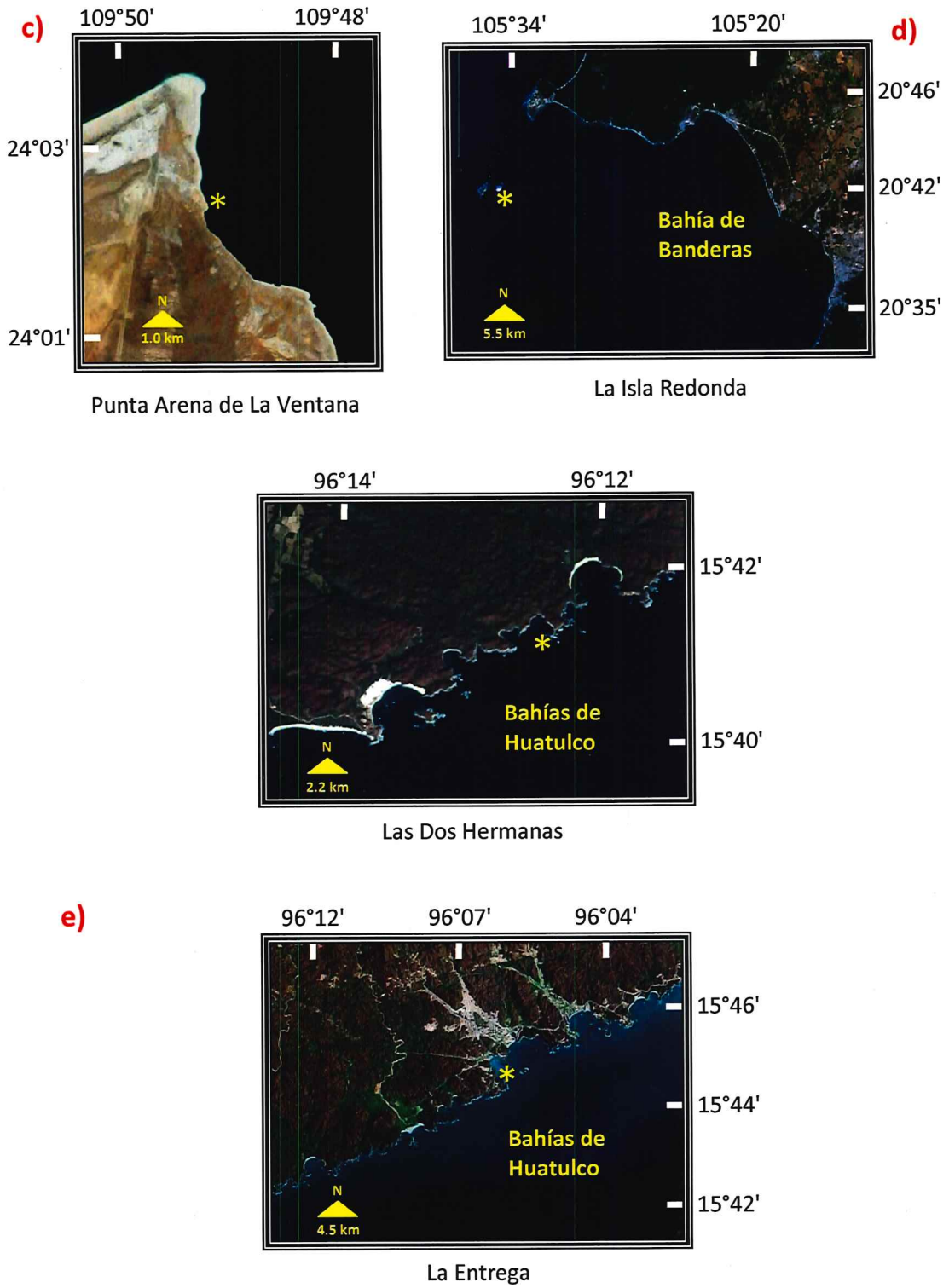


Figura 1. Zonas y localidades en las cuales se hicieron los muestreos. a) Norte Bahía de La Paz, b) Sur Bahía de La Paz, c) Sur Bahía de La Ventana, d) Bahía de Banderas y e) Bahías de Huatulco. *Sitio de recolecta.



continuación. . . Figura 1.

Tabla 1. Zonas y localidades del Pacífico mexicano donde se realizaron las recolectas.

Zonas/localidades	Localización geográfica	N	Profundidad (m)	Fecha de recolecta
a) Norte Bahía de La Paz (GC)				
I) El Portugués	24°44'48"N y 110°40'50"O	43	2-7	Diciembre 2006
b) Sur Bahía de La Paz (GC)				
II) Punta Gaviotas	24°16'48"N y 110°19'48"O	48	2-5	Mayo y Diciembre 2006
c) Sur Bahía de La Ventana (entrada GC)				
III) Punta Arena de La Ventana	24°02'38"N y 109°49'32"O	31	1-5	Diciembre 2006
d) Bahía de Banderas (BDB, entrada GC)				
IV) La Isla Redonda	20°42'03"N y 105°33'52"O	22	2-9	Septiembre 2006
e) Bahías de Huatulco, Oaxaca (SPM)				
V) Las Dos Hermanas	15°42'00"N y 96°12'30"O	40	3-6	Diciembre 2006
VI) La Entrega	15°44'40"N y 96°07'35"O	16	3-6	Diciembre 2006

N: Número de fragmentos recolectados por localidad.

3. II. Trabajo de Laboratorio

3. II. 1. Análisis genético

Con la finalidad de estandarizar la técnica de extracción de tejido y electroforesis vertical en geles discontinuos de poliacrilamida (Laemmli, 1970; Chrambach y Rodbard, 1971), se realizaron ensayos previos en los que se analizaron 18 sistemas enzimáticos (Tabla 2). De lo cuales, finalmente se emplearon 4 debido a que presentaron una mayor definición enzimática (†; Tabla 2).

3. II. 2. Extracción de tejido

Los fragmentos de coral se descongelaron parcialmente a una temperatura de 4°C durante 1 a 4 horas como máximo. Estos se enjuagaron con agua destilada con el fin de eliminar restos de arena, macroalgas e invertebrados asociados a la rama. Enseguida, con ayuda de un martillo y cincel se trituraron aproximadamente entre 1 y 4 cm² de cada fragmento, lo cual dependió de la longitud total de cada rama. El fragmento de coral triturado se colocó en vasos de precipitados a una temperatura de 4°C con el fin de evitar la desnaturalización de las proteínas.

Con ayuda de una balanza analítica marca Mettler (modelo AE200) se pesaron aproximadamente 2.6 g de fragmento coralino (tejido y esqueleto) y se colocaron en 2 tubos Eppendorf® de 1.5 ml (1.3 g x 1 tubo). A cada uno de los tubos se le agregó 0.7 ml de la solución de homogeneización propuesta por Stoddart (1983) y modificada por Weil (1992b; Anexo I).

Tabla 2. Sistemas enzimáticos ensayados durante la estandarización de la técnica de electroforesis.

E.C.*	Enzima	Abreviación	Estructura cuaternaria
1. Oxidoreductasas			
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
2. Transferasas			
2.7.1.1	Hexoquinasa	HK	M
2.7.4.3	Adelinato kinasa	AK	M
3. Hidrolasas			
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
3.4.11.1	Leucil aminopeptidasa tipo B Leucil-glicina-glicina [†]	LGG	M
5. Isomerasas			
5.3.1.8	Manosa-6-fosfato isomerasa	MPI	M
5.3.1.9	Glucosa-6-fosfato isomerasa	PGI	M
5.4.2.2	Fosfoglucomutasa	PGM	D

Abreviaciones: M: monomérica, D: dimérica, T: tetramérica, H: hexamérica. *Comité de Nomenclatura de la Unión Internacional de Bioquímica y Biología Molecular (NC-IUBMB).

Previo a la extracción del tejido coralino, los tubos fueron agitados en un vortex (para mezclar bien la solución con los fragmentos) y posteriormente colocados en un desmembrador sónico marca Fisher Scientific® (modelo 100), con el que se le aplicaron pulsos durante cinco minutos en una potencia de 5-10 watts (rms). Esto se hizo con la finalidad de separar el tejido coralino del esqueleto ya que revienta las paredes celulares y, por lo tanto, ayuda a que las proteínas se encuentren en condiciones que permitan su aislamiento. Debido a que la aplicación del ultrasonido provoca un sobrecalentamiento de las muestras y, por consecuencia, una degradación de las proteínas, los tubos se colocaron en un vaso de precipitados con hielo molido, agua destilada y sal, que permitió a mantenerlos en una temperatura de -15°C. Enseguida, los tubos se colocaron en un vortex con el fin de homogeneizar el blastato obtenido (zooxantelas, tejido coralino y solución de extracción). El blastato, que constaba de 1.0 a 1.4 ml aproximadamente, se transfirió a un tubo nuevo Eppendorf de 1.7 ml que fue centrifugado a 2600 g durante diez minutos a una temperatura de 4°C, con el fin de separar las zooxantelas (microalgas simbiotes) del tejido coralino, con ayuda de una centrifuga marca Eppendorf® (modelo 5415 D). Esta separación se decidió hacer para reducir la posibilidad de que existiera una contaminación de las zooxantelas durante el análisis, sin embargo, se ha mencionado que en caso de que estas presenten actividad enzimática, muestran una movilidad electroforética distinta a la de los corales (Stoddart, 1983; Ayre *et al.*, 1991; Weil, 1992a; b; Weil y Weigt, 1996). Finalizada la

centrifugación, se hicieron alícuotas de 88 μ l con el concentrado de enzimas en ocho tubos Eppendorf de 0.6 ml, mientras que el resto de éste fue colocado en un tubo nuevo de 1.7 ml. Todos los tubos fueron almacenados a -80°C para su posterior análisis.

3. II. 3. **Cuantificación de la concentración de proteína**

En un estudio previo, se señaló que la cantidad de proteína necesaria para detectar actividad enzimática en la especie de coral *Porites panamensis* es de 20 a 25 μ g y que depende de la enzima a analizar (Paz-García, 2005). Debido a lo anterior y con la finalidad de asegurar una actividad enzimática durante el análisis electroforético, se determinó la concentración de proteína para cada uno de los extractos coralinos por medio del método espectrofotométrico de Bradford (1976). El método está adaptado para microplaca, pero en el presente estudio se modificó para poder utilizar celdas. Lo primero que se hizo fue obtener una curva de calibración con albúmina de suero bovino como estándar con un intervalo de 0.5 a 4.0 μ g de proteína. Para obtener la concentración de cada uno de los extractos, se colocaron 60 μ l de muestra en cada celda más 540 μ l del Reactivo de Bradford y se leyeron a 595 nm en un espectrofotómetro marca Thermo Spectronic® (modelo *Genesys 5*). Se realizaron diferentes diluciones con la intención de que los valores estuviesen dentro de la curva de calibración.

3. II. 4. **Análisis electroforético**

Previo a la electroforesis, se prepararon geles discontinuos de acrilamida-bisacrilamida al 8% (Anexo II). La electroforesis se realizó en 8 cámaras verticales marca Fisher Biotech con capacidad para dos geles cada una. En los pozos de los geles fueron inyectados entre 20-120 μ l de extracto coralino de cada individuo (25 a 50 μ g de proteína; Tabla 3), con base en el análisis de concentración de proteína que se hizo a las muestras, más 8 μ l de amortiguador de carga (Anexo I). La forma en que fueron colocadas las muestras en cada uno de los geles se presenta en la Figura 2. Excepto en algunos casos en los cuales las muestras por su mayor concentración proteínica, se colocaron de forma alternada en el gel como se ha empleado en algunos estudios de invertebrados marinos (Licona-Chávez, 2007), donde se ha mencionado que de esta manera se pueden evitar sesgos al momento de efectuar la lectura de los zimogramas. A las cámaras para electroforesis se les agregó amortiguador para el electrodo Tris-Glicina 1x (Anexo I), fueron cerradas y colocadas dentro de un refrigerador marca Fisher Scientific® con la finalidad de mantener una temperatura constante de 4°C durante el análisis. Las cámaras se conectaron a una fuente de poder marca E-C Apparatus Corporation® (modelo EC 4000 P, serie 90), en la cual se fijaron las condiciones eléctricas iniciales (120 Voltios, 50 milli Ampers y 15Watts, por celda) y el tiempo de duración de la electroforesis (Tabla 3). Al finalizar la electroforesis, las cámaras fueron retiradas del refrigerador con el fin de separar los geles

concentrador y separador (Anexo II). El primer gel fue desechado y el segundo se colocó en un recipiente de plástico, al cual se le agregó el sustrato específico (solución histoquímica) para cada enzima (Anexo III).

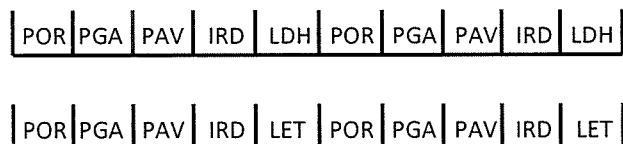


Figura 2. Representación esquemática de la forma en la que fueron inyectadas las muestras en cada carril de los gels. Los acrónimos indican la abreviación de cada enzima.

Tabla 3. Sistemas enzimáticos empleados en la electroforesis y concentración de proteína necesaria para observar actividad enzimática en *P. damicornis*.

Sistema Enzimático	µg de proteína	Tiempo de electroforesis (horas:minutos)	Tiempo de tinción (horas:minutos)
ME	40	3:00	0:30 a 2:00
GDH	25	3:30	0:30 a 2:00
EST	30	3:00	0:30 a 1:30
LGG	50	3:30	1:00 a 6:00

3. II. 5. **Actividad enzimática**

Para revelar los diferentes sistemas enzimáticos, se prepararon las soluciones histoquímicas de tinción de acuerdo a protocolos empleados en algunas especies de coral del género *Porites* (Weil, 1992b; Paz-García, 2005; *en prensa a; b*), de moluscos bivalvos pertenecientes al género *Chione* (Licona-Chávez, 2007) y en manuales de electroforesis (Manchenko, 1994; Anexo III). La preparación de las soluciones histoquímicas de tinción se realizó aproximadamente 10 minutos antes de que terminara la electroforesis. Finalizado el corrimiento, cada gel se incubó en 40 o 50 ml de la solución sustrato a 37°C y en oscuridad hasta que aparecieron las bandas (zimogramas; Anexo III). Dichas bandas indican regiones de actividad enzimática y aparecen debido a la reacción entre la enzima a revelar y el sustrato específico a un pH conocido con un amortiguador óptimo, que finalmente forman un compuesto conocido como formazán (Manchenko, 1994; Anexo III). El tiempo de aparición de los zimogramas osciló entre 30 y 360 minutos para cada uno de los sistemas enzimáticos (Tabla 3). Una vez que aparecieron las bandas, los geles se retiraron de la incubadora para decantar la solución histoquímica y fueron enjuagados con agua destilada para posteriormente ser fijados con 65% de alcohol etílico y 0.5 % de glicerol (Manchenko, 1994).

3. II. 6. Interpretación de los zimogramas

La interpretación de los zimogramas consistió de dos partes: 1) revisión de los geles y registro de los electromorfos, y 2) asignación de los genotipos de acuerdo a la estructura cuaternaria de la enzima.

3. II. 6. 1. Registro de electromorfos

Para el registro de los electromorfos se realizó una revisión visual de cada uno de los geles sobre una lámpara de luz blanca, elaborándose esquemas de los patrones de las bandas. Posteriormente, estos fueron fotografiados con una cámara digital. Al finalizar este procedimiento, los geles se guardaron en bolsas de plástico para ser almacenados en caso de requerir verificar algún registro.

3. II. 6. 2. Designación de genotipos

La interpretación de los geles se hizo empleando una designación alélica de A, B, C, D y así consecutivamente, el alelo A fue considerado como aquél que ha alcanzado la mayor distancia catódica (Swofford y Selander, 1981). Esto fue realizado para cada locus y en caso de existir más de uno (multilocus), se realizó una asignación numérica, empleando el número 1 para el locus más alejado del origen y el 2 en el locus con menor avance (p. ej., ME-1, ME-2, respectivamente; Anexo III). Con base en la estructura cuaternaria de la proteína, se designaron como homocigotos a los electromorfos que presentaron

una sola banda y heterocigotos a aquellos que mostraron dos o más bandas (De la Rosa-Vélez y Rodríguez-Romero, 1989; Figura 3 y Anexo III).

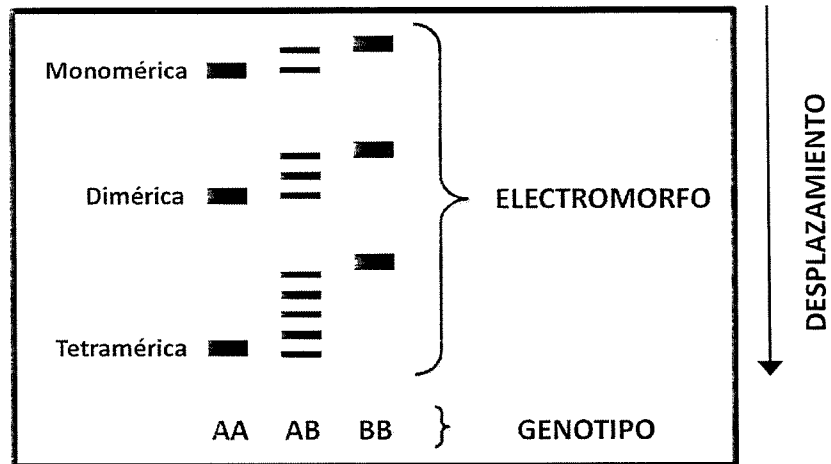


Figura 3. Visualización de los electromorfos y asignación de genotipos de acuerdo a la estructura cuaternaria de la proteína. El esquema fue modificado del de Harris y Hopkins (1978).

3. III. Análisis numérico

Con los datos obtenidos, se hicieron cálculos sobre la variabilidad y estructura genética, así como la estrategia reproductiva dominante, con ayuda de diferentes programas genéticos que a continuación se describen:

3. III. 1 Variabilidad genética

- *Frecuencias alélicas*: Es el número de veces que se encuentra un alelo para cada locus dentro de una población (Atherly et al., 1999).
- *Frecuencias genotípicas*: Es el número de veces que se presenta un genotipo para cada locus en una población (Gillespie, 1998).
- *Número promedio de alelos por locus (n)*: Es la media del número de alelos por locus considerando todos los loci analizados (Richardson et al., 1986).
- *Polimorfismo*: Se refiere a la razón de loci polimórficos identificados y el total de loci analizados (Ayala y Kiger, 1984). Se consideró un locus polimórfico si el alelo más común se presenta con una frecuencia ≤ 0.95 (P_{95}).

Estos estimadores fueron calculados con ayuda del programa Biosys-1 (Swofford y Selander, 1981) y GENEPOP 3.4 (Raymond y Rousset, 2003).

- *Heterocigosis*: Se refiere a la proporción de individuos que poseen más de un alelo por locus en una población (Richardson et al., 1986). Se hizo una estimación de la heterocigosis observada (H_o) y heterocigosis esperada (H_e):

a) *Heterocigosis observada (H_o)*: Son aquellos individuos de la muestra que son heterocigotos y se obtiene por conteo directo (Richardson *et al.*, 1986).

b) *Heterocigosis esperada (H_e)*: Se calculó con base en las frecuencias alélicas por medio de la estimación sin sesgo de Nei (1978) y al asumir el equilibrio de Hardy-Weinberg.

$$H_e = \sum_{j=1}^r h_j / r$$

donde:

$$h = \frac{2n(1 - \sum x_i^2)}{2n - 1}$$

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

➤ *Equilibrio de Hardy-Weinberg*: Se llevó a cabo con el fin de contrastar las frecuencias genotípicas observadas con las esperadas por locus. El equilibrio se examinó mediante la prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada (Sokal y Rohlf, 1995). Los grados de libertad se calcularon al sustraer el número de genotipos del número de alelos (Swofford y Selander, 1981). La prueba se realizó con ayuda del programa GENEPOP 3.4 (Raymond y Rousset, 2003). De la misma manera, al nivel de significancia se le aplicó la corrección secuencial de Bonferroni para reducir la posibilidad de errores del tipo I (Rice, 1989).

➤ *Deficiencia o exceso de heterocigotos (D; Selander, 1970):* Cuando el valor del estadístico es negativo indica una deficiencia, mientras que uno positivo sugiere exceso de heterocigotos (Wright, 1978). Mientras que un valor de $P \geq 0.5$ indicará que las frecuencias genotípicas están en equilibrio de HW (Wright, 1978).

$$D = \frac{H_o - H_e}{H_e}$$

Donde, H_o : heterocigosis observada y H_e : heterocigosis esperada

Este estimador se calculó con ayuda del programa Biosys-1 (Swofford y Selander, 1981).

3. III. 2. **Estrategia reproductiva dominante**

Se emplearon tres métodos para inferir la contribución de la reproducción asexual y sexual en la composición genética de las poblaciones analizadas. **a)** Se calculó el número de colonias clones (N_c), el número de multigenotipos únicos (genotipos únicos detectados de cada sitio; N_g) y se obtuvo su porcentaje de contribución en cada población; **b)** se calculó la razón $N_g:N$, con base en el número de multigenotipos únicos (N_g) y el número de organismos analizados en la población (N). Esta razón provee una estimación máxima en la contribución de la reproducción asexual a través de un reclutamiento localizado (Ayre *et al.*, 1997) y en la que los valores cercanos a 1 indican dominancia de la reproducción sexual; y **c)** con base en el índice $G_o:G_e$, el cual compara la

diversidad genotípica observada (G_o) entre la esperada (G_e) en condiciones de apareamiento aleatorio. La razón fue calculada con base en lo propuesto por Stoddart y Taylor (1988) y en este índice, los valores cercanos a 1 indican que en una población genéticamente variable existen altos niveles de reclutas de origen sexual (Stoddart y Taylor, 1988; Ayre *et al.*, 1997).

3. III. 3. **Diferenciación poblacional**

Se uso el método de cadena de Markov con la finalidad de observar diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre pares de poblaciones, el análisis se hizo con ayuda del programa GENEPOP 3.4 (Raymond y Rousset, 2003).

Para identificar las diferencias genéticas entre las poblaciones, también se calculo la identidad y distancia genética sin sesgo de Nei (1978) para todos los loci expresados (Gorman y Renzi, 1979). De igual forma, se construyó un dendrograma, empleando las distancias genéticas obtenidas y con el fin de ver la relación genética existente entre de las poblaciones, mediante el análisis de agrupamiento UPGMA. Dichos análisis fueron realizados con ayuda del programa TFGA versión 1.3 (Miller, 1997).

Con el fin de estimar la estructura genética poblacional y el grado de diferenciación genética entre las poblaciones, se calcularon los estadísticos F de Wright (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}) para cada locus de acuerdo al método de Weir y Cockerman (1984). Así también, se calcularon sus valores promedio, el error

estándar (*Jackknife*) y los intervalos de confianza al 95% mediante el análisis *Bootstrap*. A continuación, se hace una descripción de cada uno de los coeficientes de acuerdo a Wright (1951; 1965; 1978).

Coefficiente de endogamia individual (F_{IS}): Mide la subdivisión intrapoblacional. En este índice, los valores encontrados en -1 indican exceso de heterocigotos, mientras que valores +1 implica una deficiencia de heterocigotos.

Coefficiente de endogamia total (F_{IT}): Mide la combinación de efectos intra e interpoblacionales. Ayuda a estimar la disminución de la heterocigosidad en el total de la población. Valores de -1 indican exceso de heterocigotos y de +1 implican deficiencia de heterocigotos.

Índice de fijación (F_{ST}): fue utilizado para comparar el grado de diferenciación genética entre las poblaciones, sus valores van en un rango de 0 a 1. En este coeficiente, los valores cercanos a cero (0) indican panmixia, mientras que aquellos cercanos a 1 indican estructura o subdivisión poblacional (Avice, 2004; Hartl y Clark, 1997).

También, se calculó el estadístico F_{ST} por pares de poblaciones para corroborar el grado de diferenciación genética entre estas, los que posteriormente serán empleados en la estimación del flujo genético y finalmente se contrastarán con los patrones de circulación oceánica. Con la finalidad de

confirmar si existían diferencias significativas en los estadísticos F de Wright, se aplico el método de permutación (10, 000 replicas) alélica entre muestras por medio de la prueba exacta G (Goudet *et al.*, 1996).

Los cálculos para los estadísticos F de Wright y F_{ST} por pares de poblaciones se realizaron mediante el programa FSTAT versión 2.8 (Goudet, 1999). En cada caso, al nivel de significancia se le aplicó la corrección secuencial de Bonferroni con el fin de disminuir la posibilidad de errores del tipo I (Rice, 1989).

3. III. 4. **Flujo genético y aislamiento por distancia**

El cálculo del flujo genético entre las poblaciones se hizo con base al número de migrantes efectivos por generación y puede ser estimado usando los valores obtenidos del estadístico F_{ST} por pares de poblaciones (Ayre y Hughes, 2004), por lo tanto tenemos que:

$$N_e m = [(1/F_{ST}) - 1] / 4$$

Donde, N_e : tamaño efectivo de la población; m : migrantes por generación.

Con el propósito de conocer si existía un aislamiento por distancia (relación entre la diferenciación genética y distancia geográfica) entre las poblaciones, se realizaron dos pruebas. 1) Entre los valores de F_{ST} por pares de poblaciones (estructura poblacional) y la distancia geográfica, y 2) valores de la distancia genética (Nei, 1978) contra la distancia geográfica. Para ver si existía

tal relación, en los dos casos, se aplicó la prueba de Mantel con 10 000 permutaciones, y así tener la significancia estadística, en el programa GENEPOP 3.4 (Raymond y Rousset, 2003). Los datos de la distancia geográfica entre las poblaciones, tomados de forma lineal, se obtuvieron del programa Google Earth versión 4.2.0181.2634 (beta).

Resultados

4. I. Variabilidad genética

De los 18 sistemas enzimáticos analizados en las poblaciones del coral *Pocillopora damicornis* a lo largo del Pacífico mexicano, que resuelven aproximadamente para 36 loci, solo cuatro presentaron buena actividad enzimática y por lo tanto fueron seleccionados para ser analizados. Cabe señalar que durante la estandarización se evidenció actividad en otros cinco sistemas enzimáticos, sin embargo, la resolución de las bandas fue poco clara. También, es posible que la actividad enzimática en otros sistemas se haya visto alterada por el empleo de la solución de Stoddart (1983) modificada por Weil (1992b), y de la cual se hace referencia en el Anexo III. Seis loci fueron revelados para los cuatro sistemas enzimáticos, cinco de los cuales fueron polimórficos y uno monomórfico (Tabla 4). Los electromorfos y el registro de genotipos de cada sistema enzimático se presentan en el Anexo III.

En la tabla 4 y Figura 4 se puede observar que la población para cada locus, el tipo de alelo y su frecuencia son similares, con la excepción de ME-2 que fue monomórfica para todas las poblaciones. En ME-1 y EST-1, en las poblaciones dentro del Golfo de California (GC; POR y PAV), una de la entrada del GC (EGC; PAV) y en las del sur del Pacífico mexicano (SPM; LDH y LET), se observó un incremento relativo del alelo A de norte a sur (Tabla 4 y Figura 4); en IRD para el caso de ME-1 la frecuencia del alelo ME-1^A no se situó dentro

de estos patrones. No obstante, para EST-1 la frecuencia de ME-1^A disminuyó en relación a PAV.

Para GDH-1, de acuerdo a la variación del alelo GDH-1^A, se observaron dos patrones clinales. La frecuencia entre el grupo de POR y PGA se incrementó de norte a sur, para posteriormente disminuir, en la misma dirección, en el de PAV e IRD; esta disminución también se observa en el grupo LDH y LET (Tabla 4 y Figura 4). La frecuencia del alelo GDH-1^B mostró el patrón inverso de GDH-1^A con los mismos grupos geográficos. Sin embargo, es interesante denotar que sólo para los dos primeros grupos (POR-PGA y PAV-IRD) se presentó el alelo GDH-1^C, pero no fue así en el grupo de LDH-LET (Tabla 4 y Figura 4). En EST-2, el alelo EST-2^A disminuyó de norte a sur en los grupos POR-PGA y LDH-LET, mientras que se incremento de norte a sur en PAV e IRD. El alelo EST-2^B presentó un patrón inverso a EST-2^A en todos los grupos (Tabla 4 y Figura 4). En LGG-1, la frecuencia del alelo LGG-1^A incrementó de norte a sur en el grupo de PGA-POR hacia el de PAV-IRD para después disminuir en la misma dirección entre LDH y LET; el alelo LGG-1^B es el patrón inverso de LGG-1^A (Tabla 4 y Figura 4). El alelo LGG-1^C disminuyó su frecuencia de norte a sur de PGA a PAV y aumentó en IRD, el grupo de LDH y LET presentó este mismo patrón. Cabe señalar que el alelo LGG-1^D se observó sólo en el grupo de LDH-LET, pero no en los dos primeros (Tabla 4 y Figura 4).

Tabla 4. Frecuencias alélicas de cinco loci polimórficos y uno monomórfico en seis poblaciones de *P. damicornis*.

Población		POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
Locus	Alelo						
ME-1	N	43	48	31	19	15	7
	A	0.547	0.594	0.839	0.553	0.833	0.929
	B	0.453	0.406	0.161	0.447	0.167	0.071
ME-2	N	38	14	30	1	5	1
	A	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
GDH-1	N	43	48	31	22	37	16
	A	0.186	0.375	0.258	0.091	0.865	0.500
	B	0.581	0.417	0.677	0.818	0.135	0.500
	C	0.233	0.208	0.065	0.091	—	—
EST-1	N	38	45	29	21	18	11
	A	0.184	0.467	0.379	0.405	0.806	0.909
	B	0.816	0.533	0.621	0.595	0.194	0.091
EST-2	N	32	25	25	7	7	13
	A	0.625	0.540	0.560	0.571	0.929	0.923
	B	0.375	0.460	0.440	0.429	0.071	0.077
LGG-1	N	43	48	30	22	38	15
	A	0.221	0.260	0.400	0.591	0.066	0.033
	B	0.593	0.573	0.567	0.318	0.197	0.533
	C	0.186	0.167	0.033	0.091	0.724	0.400
	D	—	—	—	—	0.013	0.033
Organismos analizados		43	48	31	22	40	16

Abreviaciones: POR: El Portugués, PGA: Punta Gaviotas, PAV: Punta Arena de La Ventana, IRD: La Isla Redonda, LDH: Las Dos Hermanas, LET: La Entrega, N: número de organismos con tinción positiva, —: alelo no observado.

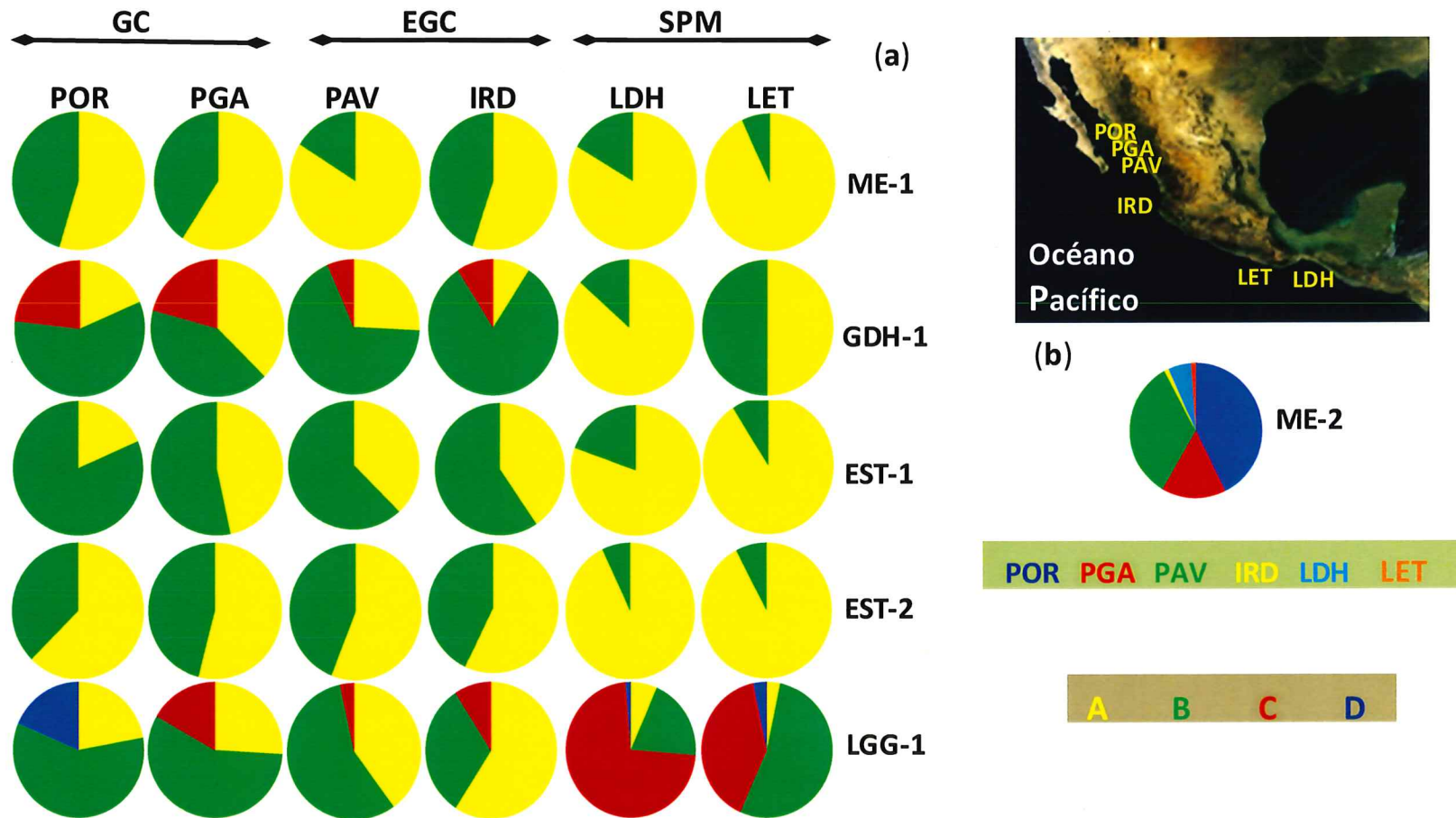


Figura 4. (a) Frecuencias alélicas y (b) número de organismos con tinción positiva para seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. GC: Golfo de California, EGC: Entrada al Golfo de California, SPM: Sur del Pacífico mexicano, POR: El Portugués, PGA: Punta Gaviotas, PAV: Punta Arena de La Ventana, IRD: La Isla Redonda, LDH: Las Dos Hermanas, LET: La Entrega.

Con respecto a las frecuencias genotípicas, se observó que en el locus ME-1, el genotipo más frecuente en casi todas las poblaciones estudiadas, excepto para PGA, fue el ME-1^{AA}; en esta última predominó el genotipo ME-1^{AB} (Tabla 5 y Figura 5). En el locus GDH-1, el genotipo dominante en la mayoría de las poblaciones, fue GDH-1^{BB}; en la población de LDH fue GDH-1^{AA} y para la LET los dos únicos genotipos homocigotos presentaron la misma frecuencia; el genotipo GDH-1^{CC} no se presentó en las poblaciones del SPM (Tabla 5 y Figura 5). En el locus EST-1, el genotipo dominante para PGA fue EST-1^{AB}, en las poblaciones del GC y en la boca del GC EST-1^{BB}, mientras que en las del SPM el genotipo más frecuente fue EST-1^{AA} (Tabla 5 y Figura 5). En EST-2, el genotipo dominante para casi todas las poblaciones fue EST-2^{AA}, excepto en PGA donde EST-2^{AA} y EST-2^{BB} presentan frecuencias iguales; este último genotipo no se presentó en las poblaciones del SPM (Tabla 5 y Figura 5). Para el locus LGG-1, los genotipos dominantes para las poblaciones del GC fueron LGG-1^{AA} y LGG-1^{BB}, en la boca del GC LGG-1^{AA} y LGG-1^{BB}, el genotipo LGG-1^{BB} fue más frecuente en la población de LET y LGG-1^{CC} para las dos poblaciones del SPM (Tabla 5 y Figura 5). Un punto a señalar es que se observaron genotipos exclusivos en las poblaciones de el POR (LGG-1^{AB}), PGA (LGG-1^{AB} y LGG-1^{BC}), LDH (LGG-1^{AC}, LGG-1^{BC} y LGG-1^{CD}) y en LET (LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}). El locus analizado del sistema enzimático GDH, presentó homocigotos en todos los individuos (Tabla 5 y Figura 5).

Tabla 5. Frecuencias genotípicas de cinco loci polimórficos en seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Población		POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
Locus	Alelo						
ME-1	N	43	48	31	19	15	7
	AA	0.465	0.333	0.774	0.526	0.800	0.857
	AB	0.163	0.521	0.129	0.053	0.067	0.143
	BB	0.372	0.146	0.097	0.421	0.133	—
	Ho	0.163	0.521	0.129	0.053	0.067	0.143
	He	0.502	0.488	0.275	0.508	0.287	0.143
	D	-0.675	0.068	-0.531	-0.896	-0.768	0.000
	χ^2	20.090	0.230	9.575	16.134	10.752	0.000
	g.l.	1	1	1	1	1	1
	P	0.000	0.632	0.002	0.000	0.001	1.000
		***	NS	**	***	**	NS
GDH-1	N	43	48	31	22	37	16
	AA	0.186	0.375	0.258	0.091	0.865	0.500
	BB	0.581	0.417	0.677	0.818	0.135	0.500
	CC	0.233	0.208	0.065	0.091	—	—
	Ho	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
	He	0.580	0.649	0.478	0.321	0.237	0.516
	D	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000	-1.000
	χ^2	90.438	99.575	73.444	57.448	40.635	17.067
	g.l.	3	3	3	3	1	1
	P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
		***	***	***	***	***	***
EST-1	N	38	45	29	21	18	11
	AA	0.079	0.244	0.241	0.286	0.722	0.818
	AB	0.211	0.444	0.276	0.238	0.167	0.182
	BB	0.711	0.311	0.483	0.476	0.111	—
	Ho	0.211	0.444	0.276	0.238	0.167	0.182
	He	0.305	0.503	0.479	0.494	0.322	0.173
	D	-0.309	-0.117	-0.424	-0.518	-0.483	0.050
	χ^2	3.861	0.631	5.430	5.931	4.787	0.053
	g.l.	1	1	1	1	1	1
	P	0.049	0.427	0.020	0.015	0.029	0.819
		NS	NS	NS	NS	NS	NS

continuación... Tabla 5.

Población		POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET	
Locus	Alelo							
EST-2	N	32	25	25	7	7	13	
	AA	0.500	0.360	0.440	0.429	0.857	0.846	
	AB	0.250	0.360	0.240	0.286	0.143	0.154	
	BB	0.250	0.280	0.320	0.286	—	—	
	Ho	0.250	0.360	0.240	0.286	0.143	0.154	
	He	0.476	0.507	0.503	0.527	0.143	0.148	
	D	-0.475	-0.290	-0.523	-0.458	0.000	0.042	
	χ^2	7.486	2.189	7.125	1.729	0.000	0.043	
	g.l.	1	1	1	1	1	1	
	P	0.006	0.139	0.008	0.189	1.000	0.835	
		*	NS	*	NS	NS	NS	
	LGG-1	N	43	48	30	22	38	15
		AA	0.209	0.229	0.400	0.591	0.053	—
AB		0.023	0.063	—	—	—	—	
AC		—	—	—	—	0.026	0.067	
BB		0.581	0.479	0.567	0.318	0.158	0.533	
BC		—	0.125	—	—	0.079	—	
CC		0.186	0.104	0.033	0.091	0.658	0.333	
CD		—	—	—	—	0.026	0.067	
Ho		0.023	0.188	0.000	0.000	0.132	0.133	
He		0.572	0.582	0.527	0.554	0.439	0.572	
D		-0.959	-0.678	-1.000	-1.000	-0.700	-0.767	
χ^2		84.351	48.458	90.177	52.181	51.734	16.285	
g.l.		3	3	3	3	6	6	
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.012		
	***	***	***	***	***	*		
Número de organismos	43	48	31	22	40	16		

Abreviaciones: Poblaciones igual que en la Tabla 4, N: número de organismos con tinción positiva, —: genotipos no observados, He: heterocigotos esperados, Ho: heterocigotos observados, D: deficiencia (-) o exceso (+) de heterocigotos, χ^2 : valores prueba ji cuadrada, g. l.: grados de libertad, P: probabilidad. Nivel de significancia después de la corrección secuencial de Bonferroni: *P < 0.05, **P < 0.01, ***P < 0.001, NS: no significativo.

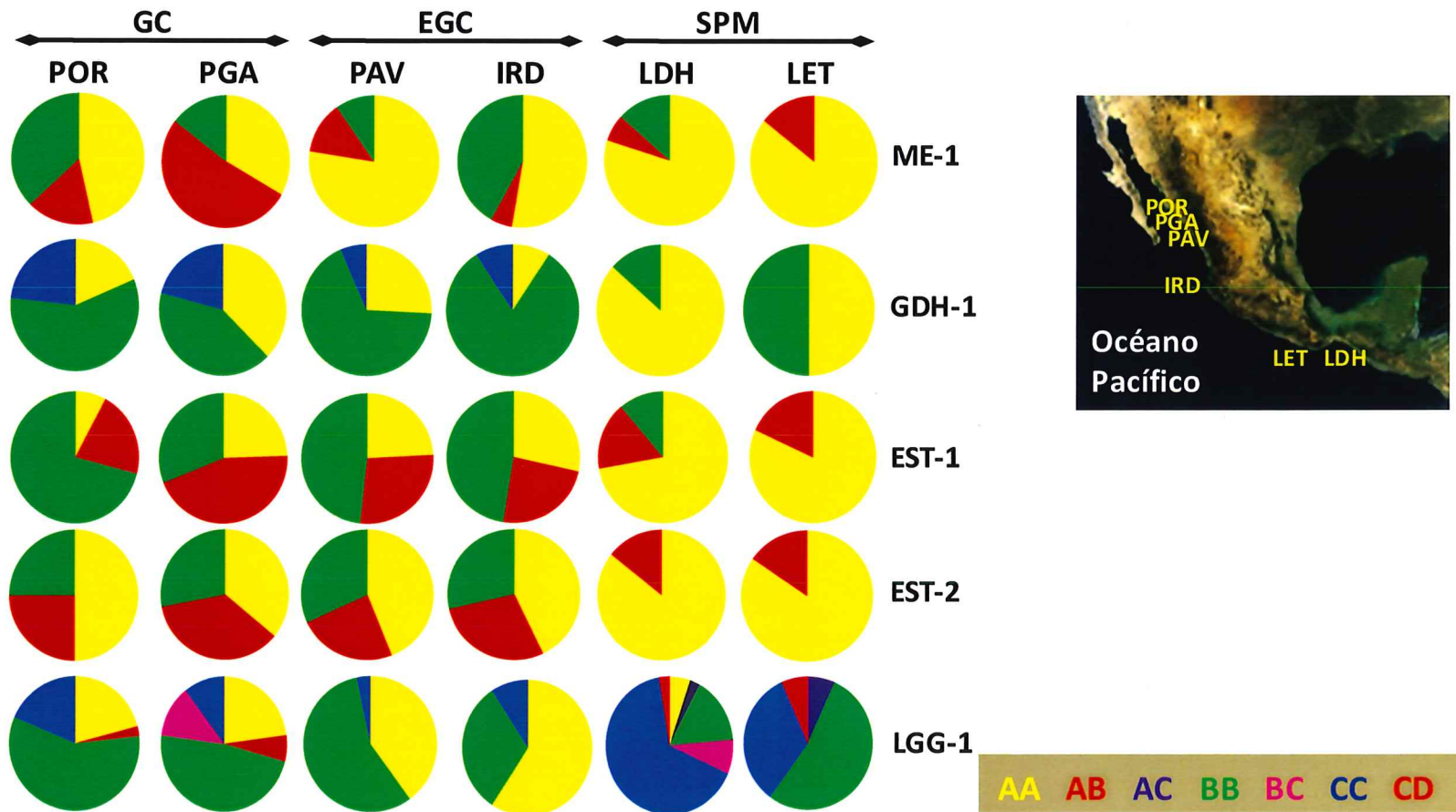


Figura 5. Frecuencias genotípicas en seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. Abreviación de los grupos y poblaciones igual que en la Figura 4.

Referente al grado de heterocigosis en el locus ME-1, la población de PGA presentó un valor de heterocigosis observada mayor a la esperada bajo el equilibrio de HW (Tabla 5) y el del estadístico D indica que esta misma población presentó un exceso de heterocigotos. Sin embargo, en cuatro poblaciones (POR, PAV, IRD y LDH) se observaron valores de heterocigosis observada menores a los esperados y aquellos del estadístico D indicaron una deficiencia de heterocigotos (Tabla 5); la población de LET mostró valores iguales de heterocigosis observada y esperada, lo que implicó un número de heterocigotos esperados bajo el equilibrio de HW (Tabla 5). La prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada no mostró diferencias significativas en las poblaciones de PGA y LET (Tabla 5).

No se encontraron heterocigotos en las poblaciones del locus GDH-1, los valores del estadístico D fueron de -1.000 y el análisis de bondad de ajuste de ji-cuadrada mostro diferencias significativas en todas las poblaciones, bajo el equilibrio de HW (Tabla 5). En el locus EST-1, la población de LET mostró un exceso de heterocigotos, mientras que el resto de las poblaciones (POR, PGA, PAV, IRD y LDH) presentaron deficiencias, pero no hubo diferencias significativas en ninguna de las poblaciones, bajo el modelo de HW (Tabla 5). El locus EST-2 presentó una deficiencia de heterocigotos en la mayoría de las poblaciones (POR, PGA, PAV e IRD; Tabla 5), excepto por LDH en la cual el número de heterocigotos observados fue igual a los esperados y LET con un exceso de heterocigotos, bajo el equilibrio de HW (Tabla 5). Después de la

prueba de bondad de ajuste de ji-cuadrada, las poblaciones de el POR y PAV presentaron diferencias significativas, lo que implicó una deficiencia de heterocigotos (Tabla 5). En el locus LGG-1, todas las poblaciones presentaron valores de heterocigosis observada menores a los esperados bajo el modelo de HW (Tabla 5). Los valores del estadístico D fueron negativos y hubo diferencias significativas, lo que representó una deficiencia de heterocigotos en todas las poblaciones (Tabla 5).

En cuanto a la prueba exacta del equilibrio de HW, es necesario señalar que se realizaron dos análisis diferentes para todas las poblaciones: **a)** consistió en emplear los datos de todos los loci y **b)** se excluyeron los datos de los loci ME-2 (monomórfico) y GDH-1 por no presentar heterocigotos. **a)** El número de alelos por locus (N_a ; 2.2) y polimorfismo (83%) fueron iguales en todas las poblaciones (Tabla 6). La heterocigosidad observada (H_o) presentó una variación de 0.085 a 0.252 (Tabla 6); **b)** El N_a se encontró entre 2.3 y 2.5, las poblaciones del POR, PGA, PAV e IRD presentaron los valores más bajos de N_a (Tabla 6). Todas las poblaciones presentaron un polimorfismo del 100%. La H_o varió de 0.127 a 0.378, mientras que sus valores promedio fueron menores a los esperados para todas las poblaciones (Tabla 6). Cabe señalar que en los dos casos (**a** y **b**), los valores promedio de H_o fueron menores a los esperados en todas las poblaciones (Tabla 6), mientras los más bajos se observaron en la población de LDH (0.085 y 0.127, respectivamente) y los altos en PGA (0.252 y 0.378, para cada uno). Además, se encontraron diferencias significativas

cuando se incluyeron todos los loci (a) bajo el equilibrio de HW, pero no fue así para la población de LET, cuando no se consideraron el locus ME-2 y GDH-1 (b; Tabla 6).

Tabla 6. Variación genética en seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
Todos los loci						
Número de alelos por locus	2.2 (-0.3)	2.2 (-0.3)	2.2 (-0.3)	2.2 (-0.3)	2.2 (-0.4)	2.2 (-0.4)
Ho	0.108* (-0.046)	0.252* (-0.092)	0.107* (-0.052)	0.096* (-0.053)	0.085* (-0.030)	0.102* (-0.033)
He	0.406 (-0.091)	0.455 (-0.094)	0.377 (-0.084)	0.401 (-0.087)	0.238 (-0.062)	0.259 (-0.094)
Sin loci ME-2 y GDH-1						
Número de alelos por locus	2.3 (-0.3)	2.3 (-0.3)	2.3 (-0.3)	2.3 (-0.3)	2.5 (-0.4)	2.5 (-0.4)
Ho	0.162* (-0.049)	0.378* (-0.072)	0.161* (-0.062)	0.144* (-0.070)	0.127* (-0.021)	0.153 ^{NS} (-0.010)
He	0.463 (-0.057)	0.520 (-0.021)	0.446 (-0.058)	0.521 (-0.013)	0.298 (-0.061)	0.259 (-0.105)

Abreviación de las poblaciones igual que en la Tabla 4. P_{95} : Un locus se considero polimórfico cuando la frecuencia de sus alelos fue ≤ 0.95 . Ho: heterocigosis observada por conteo directo, He: heterocigosis esperada sin sesgo de Nei (1978). Error estándar en paréntesis. Nivel de significancia después de la corrección secuencial de Bonferroni: * $P < 0.001$.

4. II. Estrategia reproductiva dominante

El número de colonias clones (N_c) mostró una contribución entre 25% y 56% en las poblaciones (Tabla 7). El número de colonias con multigenotipos únicos (N_g) tuvo una contribución entre 35% y 83% en las poblaciones analizadas (media $N_g = 66.667$; Tabla 7). El índice de número de multigenotipos únicos (N_g) y número de organismos analizados (N) osciló entre 0.350 y 0.837 (media $N_g:N = 0.670$; Tabla 7). El índice de diversidad genotípica observada (G_o) y esperada (G_e) tuvo un rango de 0.331 y 0.823 (media $G_o:G_e = 0.678$; Tabla 7).

4. III. Diferenciación poblacional

Las comparaciones de las frecuencias alélicas entre pares de poblaciones por locus presentaron diferencias significativas en su gran mayoría. En el locus ME-1, todas las comparaciones de las poblaciones del GC (POR y PGA) con PAV, LDH y LET fueron significativamente diferentes, lo mismo ocurrió en el caso de PAV e IRD, y en la comparación entre IRD con las poblaciones del SPM (LDH y LET; Tabla 8a). Sin embargo, la comparación entre las poblaciones del GC (POR y PGA) no mostró diferencias significativas, lo mismo ocurrió cuando se compararon estas poblaciones con IRD, en el caso de PAV con las poblaciones del SPM (LDH y LET) y entre la comparación de estas dos últimas (Tabla 8a).

En GDH-1, se observó una gran diferenciación alélica debido a que casi todas las comparaciones entre pares de poblaciones fueron significativamente diferentes, excepto cuando se comparó PAV con IRD (Tabla 8b). En EST-1, la gran mayoría de las comparaciones presentaron diferencias significativas, excepto en el caso de PGA con PAV e IRD, PAV e IRD y entre LDH-LET (Tabla 8c). En el locus EST-2, las comparaciones entre las poblaciones del GC (POR y PGA) y las del SPM (LDH y LET) fueron diferentes significativamente, lo mismo ocurrió cuando se cotejó PAV con las poblaciones del LDH-LET y entre estas dos últimas (Tabla 8d). En contraste, entre las poblaciones de POR-PGA y entre estas dos con PAV e IRD no hubo diferencias significativas. Esto también ocurrió entre PAV e IRD, IRD con LDH y esta última con LET (Tabla 8d). En LGG-1, se observó una mayor diferenciación alélica ya que casi todas las comparaciones entre pares de poblaciones presentaron diferencias significativas, excepto cuando se cotejaron POR y PGA (Tabla 8e).

Las comparaciones de las frecuencias alélicas en todos los loci mostraron una gran diferenciación alélica debido a que todos los pares poblacionales fueron significativamente diferentes entre sí (Tabla 8f).

Tabla 7. Análisis para determinar la estrategia reproductiva dominante en seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET	Promedio
N	43	48	31	22	40	16	33.333 (11.455)
N_c	11	17	10	9	17	9	12.167 (3.484)
$\%N_c$	25	35	32	40	42	56	38.333 (9.638)
N_g	36	37	24	16	14	9	22.667 (10.734)
$\%N_g$	83	77	77	72	35	56	66.667 (16.459)
$N_g:N$	0.837	0.771	0.774	0.727	0.350	0.563	0.670 (0.167)
G_o	29.349	31.135	19.612	12.737	4.396	6.737	17.330 (10.334)
G_e	35.683	42.534	23.956	18.887	13.285	9.641	23.997 (11.740)
$G_o:G_e$	0.823	0.732	0.819	0.674	0.331	0.699	0.678 (0.166)

Abreviaciones: Poblaciones igual que en la Tabla 4, N : número de organismos analizados, N_c : número de colonias clones, N_g : número de multigenotipos únicos, $N_g:N$: índice de contribución de la reproducción asexual mediante un reclutamiento localizado, G_o : diversidad genotípica observada, G_e : diversidad genotípica esperada. $G_o:G_e$: índice de diversidad genotípica. Desviación estándar en paréntesis.

Tabla 8. Comparaciones de las frecuencias alélicas por locus (**a-e**) y todos los loci (**f**) entre pares de poblaciones mediante el método de cadena de Markov. Valor *P* (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). Abreviación de las poblaciones igual que en la Tabla 4. Nivel de significancia: **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001, NS: no significativo.

a) ME-1

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	***	NS	**	**
PGA	0.548	—	***	NS	*	*
PAV	0.000	0.001	—	**	NS	NS
IRD	1.000	0.697	0.002	—	*	*
LDH	0.008	0.015	1.000	0.019	—	NS
LET	0.007	0.016	0.677	0.019	0.645	—

b) GDH-1

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	*	*	*	***	***
PGA	0.015	—	**	***	***	**
PAV	0.017	0.002	—	NS	***	*
IRD	0.027	0.000	0.085	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	***
LET	0.000	0.008	0.035	0.000	0.000	—

c) EST-1

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	***	*	*	***	***
PGA	0.000	—	NS	NS	***	***
PAV	0.016	0.309	—	NS	***	***
IRD	0.015	0.576	0.838	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	NS
LET	0.000	0.000	0.000	0.000	0.460	—

d) EST-2

Pobla	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	NS	NS	*	**
PGA	0.441	—	NS	NS	*	***
PAV	0.562	1.000	—	NS	*	***
IRD	0.766	1.000	1.000	—	NS	*
LDH	0.029	0.011	0.012	0.075	—	NS
LET	0.004	0.000	0.001	0.013	1.000	—

e) LGG-1

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	**	***	***	**
PGA	0.819	—	*	***	***	***
PAV	0.004	0.015	—	*	***	***
IRD	0.000	0.001	0.026	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	**
LET	0.005	0.001	0.000	0.000	0.002	—

f) Todos los loci

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	***	***	***	***	***
PGA	0.001	—	***	***	***	***
PAV	0.000	0.000	—	**	***	***
IRD	0.000	0.000	0.006	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	***
LET	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	—

En cuanto a las comparaciones de las frecuencias genotípicas por locus, se observó que en ME-1 estas fueron similares a las alélicas, excepto cuando se compararon IRD con LDH y LET, ya que no presentaron diferencias significativas (Tabla 9a). En GDH-1, la comparación entre POR con LDH y LET fueron significativamente diferentes, lo mismo se observó en PGA con IRD y LDH, entre PAV-LDH, IRD con LDH y LET, así como en la comparación de estas dos últimas (Tabla 9b). Caso contrario ocurrió al comparar las poblaciones del GC (POR y PGA) entre si y con PAV, ya que no mostraron diferencias significativas. Se observó lo mismo en la comparación de POR con IRD, entre PGA-LET y en PAV con IRD y LET (Tabla 9b). En EST-1, se presentó una gran diferenciación genotípica que coincide con lo observado en las comparaciones alélicas, ya que la mayoría de las poblaciones entre sí presentaron diferencias significativas (Tabla 9c). Respecto a EST-2, las comparaciones fueron muy similares a las alélicas, excepto entre la población de POR con LDH e IRD-LET, quienes no presentaron diferencias significativas (Tabla 9d). En LGG-1, las comparaciones entre la población de POR con IRD y LDH mostraron diferencias significativas, lo mismo ocurrió al cotejar PGA con las poblaciones del SPM (LDH y LET), PAV e IRD con LDH-LET y en la comparación de estas dos últimas (Tabla 9e).

Las comparaciones de las frecuencias genotípicas en todos los loci fueron ligeramente distintas a las alélicas, aunque se observó una alta diferenciación, debido a que la población de POR con IRD no mostró diferencias significativas, al igual que PAV e IRD y LDH-LET (Tabla 9f).

Tabla 9. Comparaciones de las frecuencias genotípicas por locus (a-e) y todos los loci (f) entre pares de poblaciones mediante el método de cadena de Markov. Valor *P* (debajo de la diagonal) y nivel de significancia (arriba de la diagonal). Abreviaciones de las poblaciones como en la Tabla 4. Nivel de significancia: **P* < 0.05, ***P* < 0.01, ****P* < 0.001, NS: no significativo.

a)	ME-1					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	**	NS	*	*
PGA	0.598	—	**	NS	*	*
PAV	0.003	0.002	—	*	NS	NS
IRD	1.000	0.727	0.022	—	NS	NS
LDH	0.032	0.021	1.000	0.090	—	NS
LET	0.038	0.015	0.553	0.057	0.733	—

b)	GDH-1					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	NS	NS	***	**
PGA	0.130	—	NS	**	***	NS
PAV	0.134	0.052	—	NS	***	NS
IRD	0.156	0.008	0.325	—	***	**
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	*
LET	0.008	0.075	0.213	0.009	0.011	—

c)	EST-1					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	***	*	*	***	***
PGA	0.000	—	NS	NS	**	***
PAV	0.046	0.368	—	NS	***	***
IRD	0.044	0.614	0.865	—	**	**
LDH	0.000	0.002	0.001	0.005	—	NS
LET	0.000	0.000	0.000	0.002	0.541	—

d)	EST-2					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	NS	NS	NS	*
PGA	0.518	—	NS	NS	*	**
PAV	0.637	1.000	—	NS	*	**
IRD	0.808	1.000	1.000	—	NS	NS
LDH	0.077	0.029	0.044	0.168	—	NS
LET	0.019	0.003	0.010	0.079	1.000	—

e)	LGG-					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	NS	NS	*	***	NS
PGA	0.899	—	NS	NS	***	*
PAV	0.059	0.079	—	NS	***	***
IRD	0.021	0.334	0.334	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	*
LET	0.067	0.022	0.000	0.000	0.050	—

f)	Todos los loci					
Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—	*	*	NS	***	***
PGA	0.017	—	**	*	***	***
PAV	0.017	0.006	—	NS	***	***
IRD	0.053	0.044	0.266	—	***	***
LDH	0.000	0.000	0.000	0.000	—	NS
LET	0.000	0.000	0.000	0.000	0.079	—

La distancia genética de Nei (1978) entre las seis poblaciones de *P. damicornis* presentó un rango de 0.026 a 0.337 (Tabla 10). Las distancias más pequeñas se encontraron entre las poblaciones del GC (POR y PGA, 0.026), PAV con las poblaciones dentro GC (0.027-0.039), IRD con PAV y dentro del GC (0.027-0.048), así como entre LET-LDH (0.049; Tabla 10). Las distancias más grandes se presentaron en las poblaciones de LDH y LET con las demás poblaciones, 0.187-0.337 y 0.126-0.229, respectivamente (Tabla 10).

El dendrograma construido con base en la distancia genética de Nei (1978), evidenció tres grupos de proximidad geográfica: I) Las poblaciones ubicadas dentro del GC (POR y PGA), II) dos poblaciones localizadas en la entrada del GC (PAV e IRD), y III) las poblaciones del sur del Pacífico mexicano (LDH y LET; Figura 6).

Tabla 10. Identidad genética (debajo de la diagonal) y distancia genética sin sesgo (arriba de la diagonal) de acuerdo a Nei (1978) entre seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	————	0.026	0.039	0.042	0.314	0.229
PGA	0.975	————	0.027	0.048	0.187	0.126
PAV	0.961	0.973	————	0.027	0.262	0.142
IRD	0.959	0.953	0.974	————	0.337	0.220
LDH	0.731	0.830	0.769	0.714	————	0.049
LET	0.796	0.882	0.868	0.802	0.953	————

Abreviación de las poblaciones como en la Tabla 4.

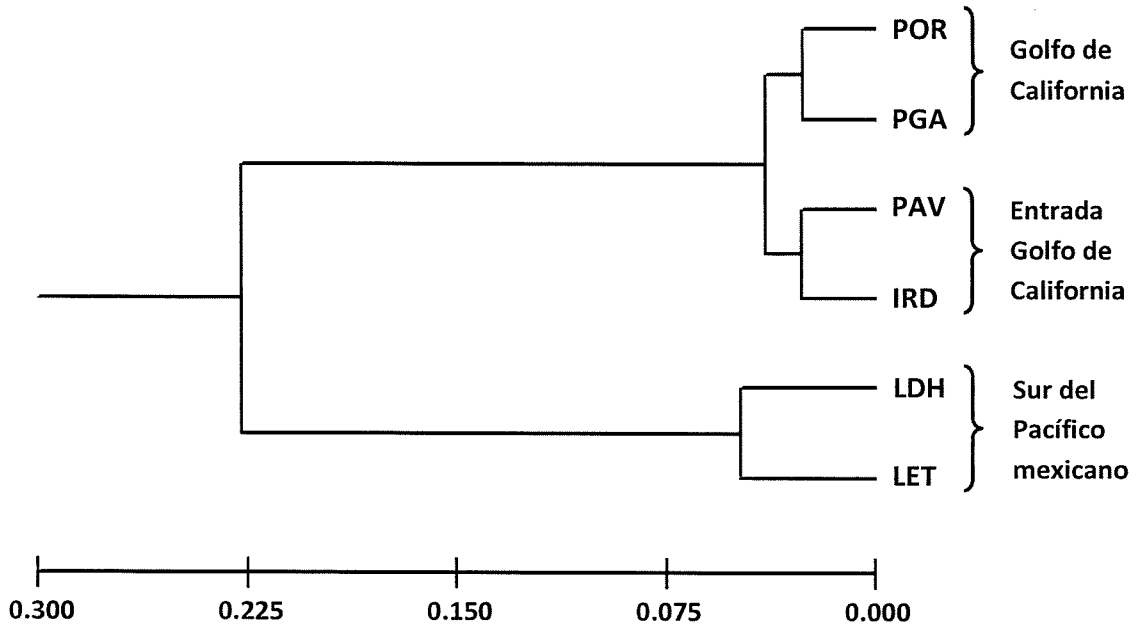


Figura 6. Dendrograma de la distancia genética de Nei (1978) entre seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. POR: El Portugués, PGA: Punta Gaviotas, PAV: Punta Arena de La Ventana, IRD: La Isla Redonda, LDH: Las Dos Hermanas, LET: La Entrega.

El coeficiente de endogamia (F_{IS}) presentó valores diferentes de cero en todos los loci (rango 0.294 a 1.000, $P < 0.01$) y en el total (0.625, $P < 0.01$; Tabla 11).

De la misma manera, en el coeficiente de endogamia total (F_{IT}) se observaron diferencias significativas en todos los loci (rango 0.429 a 1.000, $P < 0.01$) y en el valor total (0.682, $P < 0.01$; Tabla 11).

Los valores del coeficiente F_{ST} para todos los loci presentaron diferencias significativas en la mayoría de los loci (rango 0.062 a 0.213, $P < 0.05$), excepto por EST-2 ($F_{ST} = 0.040$, $P > 0.05$; Tabla 11). El valor total de F_{ST} fue

significativamente diferente de cero ($F_{ST} = 0.153$, $P < 0.05$) e indica una estructura poblacional de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano (Tabla 11).

Tabla 11. Estadísticos F de Wrigth (F_{IS} , F_{IT} y F_{ST}) para seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Locus	F_{IS}	F_{IT}	F_{ST}
ME-1	0.405**	0.447**	0.062*
GDH-1	1.000**	1.000**	0.213*
EST-1	0.294**	0.429**	0.184*
EST-2	0.422**	0.443**	0.040 ^{NS}
LGG-1	0.837**	0.866**	0.187*
Total	0.625**	0.682**	0.153*
Promedio Jacknife (Error Estándar)	0.632 (0.140)	0.691 (0.127)	0.155 (0.030)
Bootstrap intervalo de confianza 95%	0.374-0.862	0.456-0.887	0.096-0.200

Diferencias significativas después de la corrección secuencial de Bonferroni: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, NS: no significativo.

Los valores calculados de F_{ST} por pares de poblaciones presentaron un rango de 0.027 a 0.420 (Tabla 12). Las comparaciones de las poblaciones de LDH y LET con el resto de las poblaciones presentaron diferencias significativas, mientras que las demás comparaciones no fueron significativas (Tabla 12).

Tabla 12. Comparación por pares de poblaciones del estadístico F_{ST} (debajo de la diagonal) y valor P (arriba de la diagonal) entre seis poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano.

Población	POR	PGA	PAV	IRD	LDH	LET
POR	—————	0.039 ^{NS}	0.002 ^{NS}	0.025 ^{NS}	0.000 ^{**}	0.000 ^{**}
PGA	0.027	—————	0.007 ^{NS}	0.004 ^{NS}	0.000 ^{**}	0.000 ^{**}
PAV	0.048	0.034	—————	0.148 ^{NS}	0.000 ^{**}	0.000 ^{**}
IRD	0.057	0.065	0.034	—————	0.000 ^{**}	0.000 ^{**}
LDH	0.361	0.244	0.362	0.420	—————	0.014 ^{NS}
LET	0.232	0.135	0.188	0.265	0.148	—————

Abreviación de las poblaciones como en la Tabla 4. Nivel de significancia después de la corrección secuencial de Bonferroni: ^{**}P < 0.01, NS: no significativo.

4. IV. Flujo genético y aislamiento por distancia

El número de migrantes por generación ($N_e m$) presentó un rango de 0.3 a 9 (Figura 6). El mayor número de migrantes se encontró entre las poblaciones dentro del GC (PGA y POR, $N_e m = 9$), seguido por PAV-PGA e IRD-PAV con 7 cada una. Las poblaciones de PAV-POR presentaron un $N_e m = 5$, mientras que en IRD con las poblaciones dentro del GC fue <3 (Figura 7). Por su parte el menor número de migrantes por generación se observó entre LDH y LET ($N_e m = 1$), y en estas dos con el resto de las poblaciones, < 0.3 y < 0.6, respectivamente (Figura 7).

La prueba de aislamiento por distancia indicó que existe una relación positiva y significativa, en las poblaciones de *P. damicornis*, en la prueba de distancia genética y distancia geográfica, $R^2 = 0.384$, $P = 0.031$ (Figura 9). Mientras que la relación de divergencia (F_{ST}) y distancia geográfica fue positiva, pero no significativa, $R^2 = 0.485$, $P = 0.051$ (Figura 8).

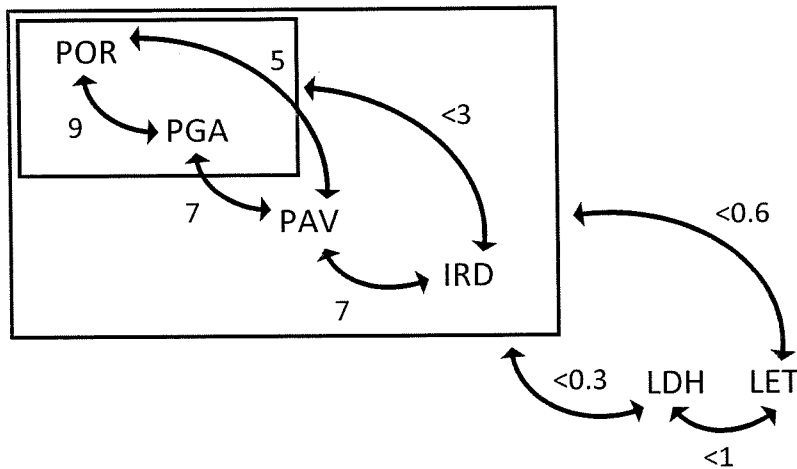


Figura 7. Flujo genético, con base en el número de migrantes por generación (N_m), en seis poblaciones de *P. damicornis* a lo largo del Pacífico mexicano. Abreviación de las poblaciones como en Figura 6.

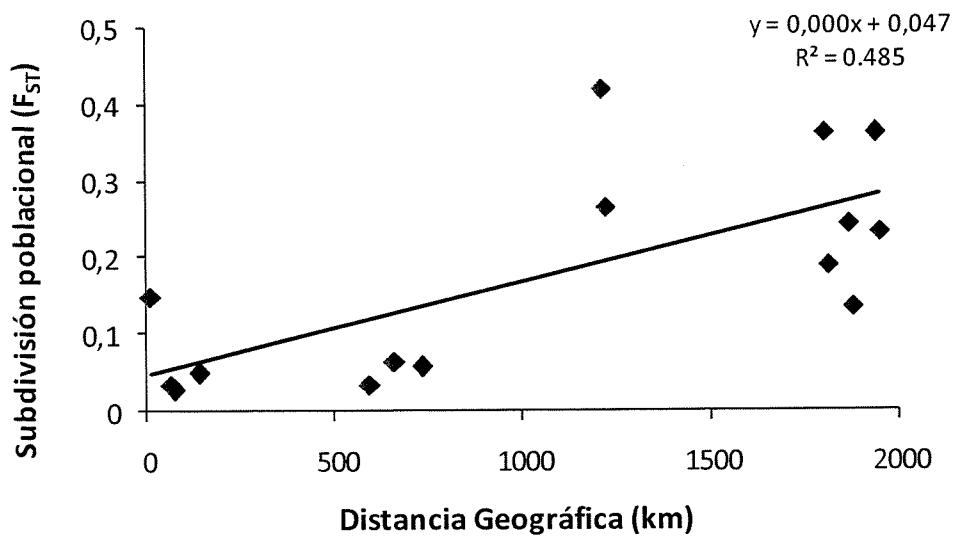


Figura 8. Relación de la divergencia genética (F_{ST}) y distancia geográfica entre las poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. $P = 0.051$.

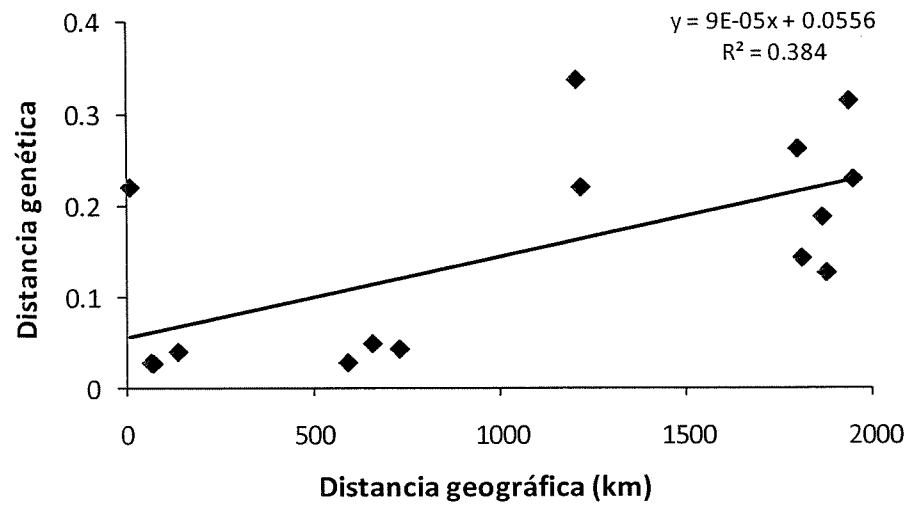


Figura 9. Relación de la distancia genética (F_{ST}) y distancia geográfica entre las poblaciones de *P. damicornis* en el Pacífico mexicano. $P = 0.031$.

5. Discusión

5.1. Variabilidad genética

Las frecuencias alélicas de las poblaciones de *Pocillopora damicornis* en el PM presentaron diferentes patrones de distribución geográfica del alelo más abundante (Tabla 4 y Figura 4). Se observó un aumento o disminución de norte a sur con respecto a la población más próxima (Tabla 4 y Figura 4). Cabe señalar que se evidenciaron dos aparentes patrones clinales en la variación de GDH-1^A, posiblemente originados por variaciones en la temperatura superficial del mar a lo largo del PM (Tabla 4 y Figura 4). Por otra parte, el locus LGG-1 fue el más importante debido a que presentó la mayor variación alélica entre las poblaciones de *P. damicornis* a lo largo del PM (Tabla 4 y Figura 4) y coincide con lo encontrado en *Porites panamensis* para la misma región (Paz-García, 2009). Estudios previos de especies coralinas en el Pacífico Oriental, han señalado que el sistema enzimático LGG puede presentar una alta variación geográfica en relación a otros sistemas, además que ha servido para diferenciar entre especies (Weil, 1992 a, b; Paz-García, 2009). Cabe denotar que en las poblaciones del GC (dentro y fuera) y en las del SPM se presentaron variantes alélicas (GDH-1^C y LGG-1^D, respectivamente) que posiblemente sean exclusivas de estas poblaciones. Lo que podría explicarse con la presencia de barreras que impidan un flujo genético entre estas poblaciones con el resto, como ya se ha indicado en estudios previos de camarones peneídos, peces y corales, en los que se han registrado genotipos o haplotipos exclusivos en ciertas poblaciones a lo largo del PM y que se caracterizan por presentar una

composición genética distinta (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000; Riginos y Nachman, 2001; Licona-Chávez *et al.*, 2007; Saavedra-Sotelo, 2007; Paz-García, 2009; Paz-García, *et al.*, *en prensa* b) lo que sugería al similar en el presente estudio.

Las frecuencias genotípicas (Tabla 5 y Figura 5), mostraron diferentes patrones de distribución geográfica, lo que fue muy similar a lo observado en la composición alélica. La variación genotípica encontrada posiblemente se deba a que las poblaciones del SPM no presentaron los genotipos ME-1^{BB} y EST-1^{BB} (LET), además de GDH-1^{CC} y EST-2^{BB} (LDH y LET), y fue en estas donde se observó una alta frecuencia del genotipo ^{AA} en todos los loci, excepto por el locus LGG-1 (Tabla 5 y Figura 5). Precisamente, LGG-1 se distinguió por su alta contribución en el patrón de la variación genotípica, ya que este locus presentó las mayores variantes en las poblaciones de POR, PGA, LDH y LET.

Así mismo, cabe señalar que los genotipos exclusivos de las poblaciones de POR (LGG-1^{AB}), PGA (LGG-1^{AB} y LGG-1^{BC}), LDH (LGG-1^{AC}, LGG-1^{BC} y LGG-1^{CD}) y LET (LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}), son indicio de una diferenciación interpoblacional, tal como se ha encontrado en la especie de coral *P. panamensis* en el PM (Paz-García, 2009; Paz-García *et al.*, *en prensa* b). Es probable que estos genotipos exclusivos en las poblaciones al norte y sur del PM de *P. damicornis*, puedan deberse a la carencia de una dispersión larval de estas con el resto de las poblaciones, sin embargo, también cabe la posibilidad que estos provengan o se compartan con algunos otros sitios del PM o Pacífico Oriental.

Las poblaciones de *P. damicornis* a lo largo del PM presentaron un exceso y una deficiencia de heterocigotos, aunque esta última fue observada, constantemente, en la gran mayoría de las poblaciones y de forma significativa (Tabla 5). Estas deficiencias son debido a que los valores de heterocigosidad observada fueron menores a los valores esperados bajo el equilibrio de HW. A excepción de dos loci, ME-1 (monomórfico) y GDH-1, todos presentaron heterocigotos en las poblaciones analizadas. En particular, la ausencia de heterocigotos en el sistema enzimático GDH se ha reportado previamente para las poblaciones de *P. panamensis* a lo largo del PM (Paz-García, 2009), el autor mencionó que ninguno de los organismos analizados presentó heterocigotos en dos loci registrados de GDH. Por su parte, Richardson *et al.* (1986), así como Harris y Hopkinson (1978), mencionaron que los heterocigotos en el sistema enzimático GDH y ME, generalmente son atípicos en todos los organismos y que es muy común en enzimas tetraméricas como ME, en los que los heterocigotos pueden estar ausentes en 1 de los 2 locus que puede llegar a presentar. Como Paz-García (2009) refirió, puede ser posible que la deficiencia de heterocigotos no es por un efecto del propio sistema enzimático (en cuanto a GDH), sino más bien es una característica de las poblaciones de la especie, *P. panamensis* en su caso, y en el presente estudio, propia de las poblaciones de *P. damicornis*.

La deficiencia de heterocigotos ha sido comúnmente observada y documentada en algunas especies de invertebrados marinos, entre los que se encuentran anemonas (Ayre *et al.*, 1991), bivalvos (Foltz, 1986; Borsa *et al.*,

1992) y corales escleractinios (Ayre y Willis, 1988; Ayre *et al.*, 1997; Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Ayre y Hughes, 2000; Sherman *et al.*, 2006; Miller y Ayre, 2008b). Estas desviaciones han sido explicadas por diferentes razones (Wallace, 1981; Johnson y Black, 1984; Zouros y Foltz, 1984; Borsa *et al.*, 1991; Hartl y Clark, 1997; Constantini *et al.*, 2007), pero en el presente estudio, a continuación, sólo se hace mención de aquellas que se considera podrían originar tales deficiencias y a la vez influir en la estructura genética de las poblaciones de *P. damicornis* en el PM, como previamente se ha señalado para la especie de coral *P. panamensis* en esta misma región (Paz-García, 2009; Paz-García *et al.*, *en prensa b*).

I) Por una parte, *P. damicornis* es una especie coralina que se distingue por su forma ramificada que puede llegar a construir colonias de gran tamaño en las comunidades arrecifales en las que se localiza; se ha observado que dicha característica la hace susceptible a ser fragmentada, con mayor facilidad, por algún evento natural o antropogénico, y por lo que se le considera la principal estrategia reproductiva (asexual) en la gran mayoría de las poblaciones del PM (Vizcaíno-Ochoa, 2003; Rodríguez-Troncoso, 2004; 2006; López-Pérez *et al.*, 2007). Tal característica es una de las más simples que podría originar y explicar la deficiencia de heterocigotos observada en las poblaciones de *P. damicornis* (Tabla 5 y 6), sin embargo, no es la única. II) En algunas poblaciones del PM se ha clasificado a *P. damicornis* como una especie hermafrodita, pero solo en una de ellas existen evidencias que dicha especie podría expulsar gametos maduros a la columna de agua (Chávez-

Romo y Reyes-Bonilla, 2007; Carpizo-Ituarte *et al.*, 2008). Por lo tanto, es posible que una vez que los gametos son expulsados, estos tengan una capacidad de dispersión limitada, lo que también podría ocurrir con las larvas una vez que estén completamente desarrolladas y ya listas para establecerse. Comúnmente, una dispersión limitada ha sido relacionada a la endogamia, que podría causar una pérdida de heterocigosidad en *P. damicornis* (Tabla 5 y 6), y a una subdivisión poblacional debido a la deriva genética como se ha señalado previamente para otras especies coralinas (Neves *et al.*, 2008; Paz-García, 2009). Así mismo, se ha observado que en especies hermafroditas y desovadoras de gametos, como es el caso de *P. damicornis*, existe la posibilidad de llevarse a cabo la autofecundación (Harrison y Wallace, 1990; Willis *et al.*, 1997). Sin embargo, algunas evidencias han demostrado que los gametos ya liberados, tienen una alta posibilidad de mezclarse con otros individuos, por el tiempo que permanecen libres en la columna de agua y a la cantidad de espermias liberados (Hall y Hughes, 1994; Ayre *et al.*, 1997). Lo anterior sería un indicio de que la autofecundación (endogamia) puede tener algún efecto en la heterocigosidad encontrada en *P. damicornis* (Tabla 5 y 6), pero tan sólo es un factor más que ayudaría a explicar tales deficiencias, ya que podría ocurrir una mezcla con otros individuos, pero esto dependerá del grado de conexión genética entre las poblaciones.

III) Es posible que la deficiencia de heterocigotos observada en el presente estudio pudiera ser el reflejo de un efecto Wahlund, debido a diferentes eventos de reclutamiento de distintas cohortes y por varias

comunidades coralinas (Ayre *et al.*, 1997; Constantini *et al.*, 2007; Paz-García, *en prensa b*). Es decir, una característica de las poblaciones de *P. damicornis* es que estén compuestas de colonias de diferentes edades, que posiblemente comienzan a reproducirse en edades relativamente tempranas (1.0 a 2.5 años de edad; talla entre 5 a 7 cm²; Harrigan, 1972; Stimson, 1978), lo que implicaría un traslape de generaciones, y por lo tanto una deficiencia de heterocigosidad, como se ha sugerido para *P. panamensis* en el PM (Paz-García, 2009).

IV) Un factor que no sólo origina disminuciones en el tamaño poblacional de las comunidades coralinas sino también en la heterocigosis, es la mortalidad originada por diferentes disturbios (Ayre *et al.*, 1997; Gillespie, 1998; Sherman *et al.*, 2006). La excepción no son las comunidades coralinas del PM, ya que estas constantemente se ven afectadas por diversos fenómenos naturales como lo son las tormentas, huracanes y blanqueamientos originados por eventos Niño (Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002; Reyes-Bonilla, 2003; Medina-Rosas *et al.*, 2005), los que en conjunto posiblemente influyen en las deficiencias de heterocigosidad encontradas en *P. damicornis* del presente estudio (Tabla 5 y 6).

Una explicación alternativa para tales deficiencias, podría ser la señalada por Ayre *et al.* (1997), quienes mencionaron que las diferencias en heterocigotos podrían ser el reflejo de 2 o más especies morfológicamente similares. Sin embargo, dichos autores también refieren que esta explicación puede ser discontinúa, debido a que requeriría de la relativa abundancia de cada una de las especies en el mismo sitio. No existen evidencias que soporten

tal suposición, pero si se ha mencionado que *P. damicornis* puede presentar morfotipos en algunos lugares del Pacífico Oriental y Central (Richmond y Jokiel 1984; Tanner, 1996; Flot y Tillier, 2006). Tal vez esto también ocurra en algunos sitios del PM, ya que se han mencionado ciertas diferencias en el grosor de las ramas de una zona a otra (Bahía de Banderas y Bahías de Huatulco; Rodríguez-Troncoso, 2004), lo que sería atribuido a una composición genética distinta y que por lo tanto implicaría diferencias en su diversidad genética, así como en sus niveles de heterocigosidad.

Respecto a la variación genética, se puede observar que en la primer prueba realizada (con todos los loci; Tabla 6) los valores obtenidos fueron similares en todas las poblaciones, lo que es un efecto de los locus ME-1 (monomórfico) y GDH-1, por la ausencia de heterocigotos. Motivo por el cual, a continuación sólo se hace referencia a la variación genética observada en la segunda prueba (sin locus ME-1 y GDH-1; Tabla 6), ya que hubo evidencia de algunas diferencias entre las poblaciones. Al comparar los valores encontrados en el presente estudio (Tabla 6) con los reportados por Adjeround y Tsuchiya (1999) para Japón, número de alelos por locus (N_a rango 3.1 a 3.8) y heterocigosis esperada (H_o , de 0.244 a 0.366), se observa que son más bajos; lo mismo ocurre al compararlos con los reportados por Sherman *et al.* (2006), al sur de la Gran Barrera de Arrecife, Australia, N_a rango 2.5 a 3.34 y H_o rango 0.22 a 0.40; en contraste, al comparar los valores del presente estudio con los de la costa este de Mailand, Australia (Miller y Ayre, 2008b), estos se

encuentran dentro del rango reportado (N_a 3.6 a 1.3), esta variación fue señalada por los autores como un declive conforme incrementa la latitud, que sugiere una alta diferenciación genética entre las poblaciones analizadas. Es evidente que las variaciones genéticas reportadas en dichos estudios presentan un rango más amplio que las encontradas en este estudio (Tabla 6), lo que podría ser interpretado como una baja diferenciación genética entre las poblaciones de *P. damicornis* (Chávez Romo *et al.*, *en prensa*), en comparación a lo reportado por los autores mencionados. La variación genética en las poblaciones ha sido explicada por eventos de mortalidad, por la participación de las diferentes estrategias reproductivas y su derivado reclutamiento después de dichas eventualidades (Adjeround y Tsuchiya; 1999, Miller y Ayre, 2004; 2008b; Sherman *et al.*, 2006). Lo anterior podría ayudar a entender las variaciones genéticas encontradas entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM (Tabla 6). Por ejemplo, existen evidencias que cuando la Oscilación Sureña de El Niño se presenta (el más reciente data de 1997-98), el reclutamiento coralino generalmente se ve afectado y las comunidades del PM no son la excepción (se ha observado un efecto en especies como *P. panamensis* y *Pavona gigantea*; Reyes-Bonilla y Calderón-Aguilera, 1994; Glynn y Leyte-Morales, 1997). Los estudios de reclutamiento en el PM son escasos, sin embargo, existen registros donde se indica que en corales Pocilloporidos, los reclutas están relativamente ausentes (0 a 1; Medina-Rosas *et al.*, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007), aunque existe evidencia de fragmentos que han crecido exitosamente (originados vía reproducción asexual; Medina-Rosas *et al.*, 2005). A pesar de que en esta

región no hay indicios de un reclutamiento sexual exitoso, actualmente existen reportes de que en una población dentro del GC *P. damicornis* se reproduce de forma sexual (Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007), y aunque no se observó la expulsión de gametos, cabe la posibilidad que su derivado reclutamiento se lleve a cabo.

5. II. Estrategia reproductiva dominante

El modo de reproducción en *Pocillopora damicornis* varía grandemente entre las diferentes regiones del Océano Pacífico. Esta especie, al igual que otras, se caracteriza por presentar una mezcla de estrategias reproductivas, asexual y sexual (Ayre *et al.*, 1997; Harrison y Wallace, 1990; Whitaker, 2006). Estudios genéticos de *P. damicornis* (considerado como un incubador vivíparo en el Pacífico Occidental y Central) en el suroeste de Australia y Hawaii han revelado que sus larvas pueden ser genotípicamente idénticas a sus incubadores (padres) y son el resultado de la reproducción asexual, aunque también se ha documentado el desove de gametos (Stoddart, 1983; 1984a, b; 1988). Sin embargo, al noreste de Australia, la especie presentó una mezcla de estrategias reproductivas, hay poblaciones dominadas por reproducción sexual y algunas donde se cree es por medio de larvas incubadas de origen asexual (Whitaker, 2006). En Japón, la evidencia indicó que en las poblaciones de *P. damicornis* domina la reproducción asexual, vía fragmentación (Adjeroud y Tsuchiya, 1999). En contraste, para la Gran Barrera de Arrecife (GBR) y Lord Howe Island (LHI), Australia, las poblaciones de esta misma especie han

mostrado una dominancia de la reproducción sexual (mediante larvas incubadas; Benzie *et al.*, 1995; Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2004; Miller y Ayre, 2004; 2008b). Aunque, estudios recientes mostraron evidencia de una combinación de estrategias reproductivas, al encontrar poblaciones con dominancia sexual y larvas incubadas de origen asexual (Ayre y Miller, 2004; Sherman *et al.*, 2006, no las observa, pero lo sugiere).

En la gran mayoría de los estudios mencionados, la contribución de las diferentes estrategias reproductivas ha sido analizada con ayuda de los índices $N_g:N$ y $G_o:G_e$, los que han servido para conocer la predominancia que tiene cada una de ellas y su relevancia en la composición genética de las poblaciones analizadas. En el presente estudio los valores, encontrados, altos y bajos de los índices $N_g:N$ y $G_o:G_e$ (Tabla 7), indican que la reproducción sexual [dentro (POR, PGA) y entrada del GC (PAV e IRD)] y asexual [SPM (LDH y LET)], respectivamente, son las estrategias reproductivas dominantes en la contribución de la composición genética de las poblaciones de *P. damicornis*. Sin embargo, es necesario señalar que existe cierto grado de contribución de la reproducción asexual dentro-entrada del GC y que en la población de LET no debe descartarse un aporte de la reproducción sexual ($G_o:G_e = 0.699$; Tabla 7), aunque es posible que algunas de las colonias analizadas provengan de algún otro lugar del Pacífico Oriental (p. ej. Centroamérica) y tengan un origen sexual donde esta estrategia reproductiva sea exitosa. Al comparar los valores encontrados en el presente estudio ($N_g:N$ y $G_o:G_e$; Tabla 7) con algunos estudios previos, se observa que estos se encuentran dentro del intervalo

reportado para el oeste de Australia (Whitaker, 2006; $G_o:G_e = 0.073-0.770$), la GBR (Sherman *et al.*, 2006; $N_g:N = 0.55-0.92$ y $G_o:G_e = 0.35-1.01$) y LHI (Miller y Ayre, 2004; $N_g:N = 0.55-0.93$ y $G_o:G_e = 0.55-1.02$), poblaciones en las que *P. damicornis* presenta una mezcla de estrategias reproductivas similar a las de este estudio, pero que difieren, considerablemente, en cuanto al modo de reproducción empleado (Carpizo-Ituarte *et al.*, 2008). Particularmente, los valores bajos del presente estudio (Tabla 7) son similares a los encontrados en Japón (Adjeroud y Tsuchiya, 1999; $N_g:N = 0.47-0.75$ y $G_o:G_e = 0.30-0.64$), y coinciden en cuanto al modo de reproducción empleado y su derivado reclutamiento, al mostrar que la fragmentación contribuye considerablemente en la composición genética de todas las poblaciones analizadas. Aunado a esto, los valores encontrados respecto al N_c (Tabla 7), indican que existe una contribución del 25% al 56% de colonias originadas vía asexual en todas las poblaciones, pero es mayor en IRD y las del SPM (LDH-LET; Tabla 7). Coffroth y Lasker (1998) mencionaron 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, tasas de reclutamiento y a la estrategia reproductiva dominante. Los indicios de reproducción asexual en las poblaciones de *P. damicornis* al SPM (valores bajos índices $N_g:N$, $G_o:G_e$, N_c ; Tabla 7) sugieren que estas son más susceptibles a la fragmentación debido a la constante incidencia de tormentas y huracanes en esas zonas (como ocurre al sur de Japón, con la presencia de tifones; Adjeroud y Tsuchiya, 1999) que originan desprendimientos parciales o totales de las colonias. Bajo condiciones

favorables, los fragmentos pueden sobrevivir, colonizar fácilmente sustratos suaves, fijarse en el fondo, continuar su desarrollo y posiblemente reproducirse (Hunter, 1993; Reyes-Bonilla, 2003; López-Pérez *et al.*, 2007). Las evidencias encontradas en el presente estudio de la combinación de estrategias reproductivas en las poblaciones de *P. damicornis* (Tabla 7), corrobora lo encontrado en estudios previos sobre la biología reproductiva de esta especie en el PM, ya que se evidencian dos modos reproductivos (Carpizo-Ituarte *et al.*, 2008). Esta especie se reproduce de forma asexual (vía fragmentación) en La Isla Redonda y La Entrega, aunque se observaron gametos inmaduros (Vizcaíno-Ochoa, 2004; Rodríguez-Troncoso, 2004; 2006). Mientras que para la población de Punta Gaviotas, Chávez-Romo (2004) y Chávez-Romo y Reyes-Bonilla (2007), encontraron evidencias que *P. damicornis* se reproduce de manera sexual con aparente desove de gametos al medio. Con la información anterior se confirma que en PGA la reproducción sexual es la estrategia reproductiva dominante y que el modo asexual domina en la población de LET, lo mismo se observó en la LDH (Tabla 7) aunque no existen registros previos, al igual que el resto de las poblaciones del GC (POR, PAV e IRD), en las que la reproducción sexual fue dominante; en particular llama la atención IRD, población a la que se le consideraba con un modo de reproducción asexual (Vizcaíno-Ochoa, 2004; Carpizo-Ituarte *et al.*, 2008). Esta última evidencia implicaría un caso similar a la LET, es decir, que las evidencias de reproducción sexual se deban al aporte de propágulos provenientes de alguna otra zona (p. ej. el GC) o que en cierto momento esta población se reprodujo por esta vía y

se reclutaron localmente. Es importante señalar que las evidencias de reproducción sexual en gran parte de las poblaciones (dentro y fuera del GC), no solo fortalecen y corroboran lo encontrado en PGA (Chávez-Romo, 2004; Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007), sino también apoya lo encontrado por Glynn *et al.* (1991), quienes indican que *P. damicornis* se reproduce de manera sexual en el Pacífico Oriental y no se trata de poblaciones sexualmente estériles (Richmond, 1985; 1987; Ayre *et al.*, 1997). Además, con la información obtenida (altos valores de índices $N_g:N$, $G_o:G_e$) se podría considerar que algunas poblaciones del GC (POR, PGA y PAV) presenten un mayor tamaño poblacional y potencial reproductivo, si durante su época reproductiva se lleva a cabo un desove de gametos en gran masa, en comparación al resto de las poblaciones del PM.

Desde hace tiempo, se ha manejado la hipótesis de que especies que presentan modos duales de estrategias reproductivas, pueden ser dominadas por la reproducción asexual (fragmentación u otras vías) en aquellos lugares donde las variaciones ambientales son mínimas, y por lo tanto, las poblaciones están bien adaptadas localmente (hábitats estables; Williams, 1975; Maynard-Smith, 1978; Reyes-Bonilla, 1989; Carvalho, 1994). En contraste, donde las variaciones ambientales son fuertes durante el año, la reproducción es primordialmente sexual (sitios inestables; Williams, 1975; Sebens y Thorne, 1985; Reyes-Bonilla, 1989). La hipótesis mencionada puede ayudar a explicar la mezcla de estrategias reproductivas de las poblaciones de *P. damicornis* en el PM. Por una parte, la evidencia de reproducción sexual en las poblaciones

del GC (dentro y entrada) puede ser atribuida a los fuertes cambios ambientales que se presentan en esta zona, ya que existen variaciones drásticas en la temperatura superficial del agua (3 a 4° C de un mes a otro), ciertas zonas registran niveles de marea muy bajos al grado que las colonias llegan a quedar expuestas (-206 cm), además en algunas otras hay presencia de surgencias (Chávez-Romo, 2004). Mientras que el predominio de la reproducción asexual en las poblaciones del SPM, puede ser explicada por las condiciones ambientales menos variables, en comparación al GC, que ocurren en cierta época del año para esta zona. Dicha información concuerda con la hipótesis antes referida, pero además aporta y refuerza las ideas antes manejadas para las poblaciones dentro y fuera del GC (Reyes-Bonilla, 1989; Chávez-Romo, 2004). Con base en esto, se puede señalar que dicha hipótesis puede llegar a ser de vital importancia para determinar el modo de reproducción que pueda presentar *P. damicornis* en determinada zona (Chávez-Romo, 2004).

5. III. Diferenciación poblacional

A partir de las comparaciones de las frecuencias alélicas y genotípicas (por locus y todos los loci; Tabla 8a-f y 9a-f), y a los valores de la distancia genética (Tabla 10), se puede indicar que entre las poblaciones del GC (dentro y entrada) y SPM presentan una gran diferenciación genética interpoblacional. Las causas de esas diferencias pueden ser debido a que las poblaciones del SPM están más frecuentemente expuestas a diversos fenómenos naturales que las del GC (p. ej. tormentas, huracanes y mortalidad por eventos Niño; Medina-

Rosas *et al.*, 2005; López-Pérez *et al.*, 2007; Paz-García *et al.*, *en prensa b*). Adicionalmente, el dendrograma construido con base en la distancia genética, mostró tres grupos poblacionales (Figura 6) formados por su proximidad geográfica que apoyan una relación genética entre las poblaciones del GC (POR-PGA), las de la entrada del GC (PAV-IRD) y las del SPM (LET-LDH). Este patrón sugiere una subdivisión entre las poblaciones de *P. damicornis* y coincide con lo observado en la especie de coral *Porites panamensis* a lo largo del PM (Paz-García *et al.*, *en prensa b*). Estos resultados confirman que las poblaciones del GC (entrada y dentro) pueden ser un grupo genéticamente más homogéneo, mientras que las del SPM presentan una gran diferenciación genética.

En cuanto a las diferencias significativas encontradas en el coeficiente de endogamia individual (F_{IS}) y el total (F_{IT}) de las poblaciones (Tabla 11), indican que existe una deficiencia de heterocigosis, un posible reclutamiento local y una dispersión limitada de las poblaciones de *P. damicornis* en el PM. Los valores encontrados del índice de fijación (F_{ST}) en muchos de los loci (0.040-0.213, $p < 0.05$; Tabla 11) y el valor total de F_{ST} ($F_{ST} = 0.153$, $p < 0.05$, Tabla 11) presentaron diferencias significativas (excepto locus EST-2), que junto con los pares de poblaciones de F_{ST} (0.000-0.148; Tabla 11), en gran mayoría significativos, indican una estructura genética en las poblaciones de *P. damicornis* en el PM con una separación de 11 a 1950 km. Se puede observar que los valores del índice F_{ST} de las poblaciones dentro-entrada del GC (0.027-

0.065), separadas por una distancia de 66 a 731 km y las del SPM (0.148; Tabla 11) alejadas por 11 km, poseen una ligera estructura genética, esto de acuerdo al criterio establecido por Wright (1978). Por su parte, los valores de las poblaciones del GC (dentro y entrada) y del SPM (0.135-0.420; Tabla 11), con una separación de 1208 a 1950 km, indican una estructura genética moderada a alta. Tales valores son comparables a los encontrados en las poblaciones de *P. damicornis* al sur de Japón separadas por 650 km, que se caracterizan por presentar una estructura genética (0.027-0.092; Adjeroud y Tsuchiya, 1999), para aquellos al este de Australia con una distancia de separación <20 km (media F_{ST} = 0.102; Miller y Ayre, 2004), igual a los del noroeste de Australia, poblaciones separadas por 30 a 800 km (0.023-0.582; Whitaker, 2006). Además, coinciden con los reportados para otras especies de coral como el desovador de gametos *Acropora hyacinthus* en Australia, con una separación entre sus poblaciones de 1200 km (media F_{ST} = 0.050; Ayre y Hughes, 2000), con *A. digitifera* y *A. aspera* al noroeste de Australia, poblaciones distantes por 6.5 a 155 km (media F_{ST} = 0.010 y 0.067, respectivamente; Whitaker, 2004). Con esta información, se puede suponer que especies con mezcla de estrategias reproductivas (asexual y sexual) y aquellas que son dominadas por un modo de reproducción (asexual o sexual), pueden presentar estructura genética poblacional en una escala geográfica (km). La estructuración genética que presenta *P. damicornis* en el PM puede deberse precisamente a la mezcla de estrategias reproductivas encontrada en las poblaciones de esta especie, reproducción sexual al norte (GC; posible desove de gametos al medio;

Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007) y asexual al SPM (vía fragmentación; Carpizo-Iltuarte *et al.*, 2008). Esto explicaría la estrecha relación que existe entre las poblaciones del norte del PM (GC) y en aquellas del SPM. Sin embargo, es necesario reiterar las evidencias previas que existen de una reproducción asexual vía fragmentación en la población de IRD (Carpizo-Iltuarte *et al.*, 2008) y la posibilidad de reproducción sexual en LET ($G_o:G_e = 0.699$; Tabla 7). Además, hay que considerar la posibilidad de una dispersión limitada de gametos o larvas incubadas (origen sexual o sexual) o de aquellas desarrolladas en la columna de agua, el poco desplazamiento de las ramas fragmentadas (~10 m) y un alto reclutamiento local (Stoddart, 1988; Harrison y Wallace, 1990; Ward, 1992; Tanner, 1996; Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Whitaker, 2006).

Estudios previos realizados en el PM, con otras especies de coral, muestran una alta estructura genética en *Porites panamensis* (0.013-0.124 y $F_{ST}=0.104$; Paz-García *et al.*, *en prensa b*) y *Pavona gigantea* (0.104-0.247 y $\Phi_{st} = 0.159$; Saavedra-Sotelo, 2007). Adicionalmente, estudios previos en el GC y PM han encontrado una subdivisión poblacional en diferentes invertebrados marinos (p. ej. camarones peneidos, moluscos bivalvos), y grupos de peces (De la Rosa-Vélez *et al.*, 2000; Riginos y Nachman, 2001; Valles-Jimenez *et al.*, 2005; Licona-Chávez *et al.*, 2007). Estos mismos autores, han mencionado que existen diferentes factores que pueden generar una subdivisión genética poblacional en el PM, y que posiblemente también influyen en la estructura genética encontrada en las poblaciones de *P. damicornis* para

esta misma región, entre los que se encuentran la distancia geográfica, discontinuidad del hábitat, gradientes de temperatura, variaciones de marea y patrones de circulación oceánica. Sin embargo, para poder explicar la subdivisión inter e intrapoblacional encontrada en *P. damicornis*, a continuación se discuten el flujo genético, aislamiento por distancia y algunos patrones de circulación oceánica presentes en el PM.

5. IV. Flujo genético y aislamiento por distancia

Los niveles de flujo genético encontrados en el presente estudio son bajos a moderados y mostraron que existen diferencias en las poblaciones de *P. damicornis* en el PM. El número de migrantes por generación observado entre las poblaciones del GC (dentro y entrada) fue claramente mayor ($N_{em} = 3$ a 9; Figura 10), en comparación al encontrado entre el SPM y el resto de las poblaciones ($N_{em} < 0.3$; Figura 10). El flujo genético observado entre las poblaciones del GC puede ser importante, en un contexto evolutivo (Ayre *et al.*, 1997), debido a la ligera diferenciación que existe entre estas (separadas por 66 a 731 km). De acuerdo a Avise (2004), así como a Hartl y Clark (1997), un migrante por generación entre las poblaciones puede ser suficiente para evitar las diferencias por la deriva génica y la fijación de alelos. Aunque es necesario señalar que las diferencias en las poblaciones de *P. damicornis* igualmente pueden deberse a la combinación de estrategias reproductivas que presenta la especie en el PM, ya que no sólo influye en la estructura genética encontrada sino también en el restringido flujo genético entre las poblaciones (norte con

sur); de igual forma hay que considerar la capacidad de dispersión de la especie (gametos o larvas), en conjunto estas características pueden originar una variación en el intercambio genético entre las poblaciones de *P. damicornis* como se ha observado en otras especies de coral (Ayre *et al.*, 1997; Ayre y Hughes, 2000; Neves *et al.*, 2008; Paz-García, 2009). Sin embargo, estudios previos en corales han señalado que existen otros factores que pueden originar cambios en el flujo genético entre las poblaciones, tales como un traslape de generaciones, sustrato disponible para colonizar, barreras físicas (p. ej. franjas de arena y comunidades de manglar), aislamiento por distancia, condiciones oceanográficas, además de la posibilidad que exista una selección de ciertos genotipos que resistan a un blanqueamiento diferencial y eventos de mortalidad (Stoddart, 1984b; Hellberg, 1996; Palumbi, 1997; Ayre *et al.*, 1997; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002).

En cuanto a la relación entre la distancia genética y distancia geográfica ($R^2 = 0.384$, $P = 0.031$; Figura 9), fue significativa lo que indica y apoya que las poblaciones de *P. damicornis* de dentro-fuera del GC presentan una ligera diferenciación genética, mientras que las del SPM con el resto de las poblaciones presentan mayores diferencias. Sin embargo, la relación entre los F_{ST} pareados y la distancia geográfica no fue significativa ($R^2 = 0.485$, $P = 0.051$; Figura 8), lo que indica que no existe un aislamiento por distancia en las poblaciones de *P. damicornis* en el PM. Se conoce como aislamiento por distancia al flujo genético que se presenta primordialmente entre las

poblaciones cercanas, común en especies incubadoras, debido a una dispersión limitada y disminuye en las poblaciones lejanas (Hellberg, 1994; 1995; 1996). La relación no significativa entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM podría ser explicada por un posible flujo genético continuo, desequilibrio entre este y deriva o barreras que impidan el flujo (Hellberg, 1995; Le Goff-Vitry, 2004). De cierta forma la falta de asociación entre estos parámetros es contradictoria, debido a que el bajo flujo genético que existe entre las poblaciones del SPM y el resto de las poblaciones indica que el reclutamiento es local, con una dominancia de la fragmentación; aunque esto puede deberse al flujo moderado que existe entre las poblaciones del GC (dentro y entrada; Figura 6). Esto reiteraría la posibilidad de que esta especie se reproduce por medio de fecundación externa y por lo tanto tendría una mayor posibilidad de presentar una dispersión amplia.

5. V. Patrón de circulación y posibles rutas de dispersión en el PM

Los patrones de circulación oceánica han ayudado a comprender las relaciones genéticas que existen entre las poblaciones de algunas especies de coral (Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Nishikawa *et al.*, 2003; Nishikawa y Sakai, 2005). En el PM, existen tres posibles rutas de dispersión de propágulos coralinos, con base al patrón de corrientes (Figura 10), que por sus características ayudarían en la comprensión de dichas relaciones genéticas y pueden afirmar o refutar los hallazgos encontrados en el presente estudio.

I) Se ha sugerido la posibilidad que la Corriente Costera de Costa Rica (CCCR; Figura 10), en dirección sur a norte, transporte propágulos coralinos de Centroamérica (Panamá, Costa Rica) hacia Oaxaca, por la semejanza de especies coralinas entre estas áreas (Glynn y Wellington, 1983; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998). La CCCR es paralela a la Costa de Centroamérica y México, con influencia en Bahía de Banderas y el Golfo de California (Wyrski, 1965; Roden, 1971). Debido a estas características, también se ha sugerido la posibilidad que los propágulos viajen de Oaxaca a Bahía de Banderas y de aquí se dispersen hacia el Golfo de California (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Glynn y Ault, 2000; Reyes-Bonilla, 2003), aunque posiblemente no todas las especies de coral puedan realizar esta dispersión, debido a los diferentes frentes oceánicos que se presentan al sur de Bahía de Banderas y sur del Golfo de California (Figura 10; Cano-Pérez, 1991; Reyes-Bonilla, 2003). En el presente estudio, se encontraron genotipos que son exclusivos de las poblaciones de Oaxaca (LDH: LGG-1^{AC}, LGG-1^{BC} y LGG-1^{CD}; LET: LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}, excepto por el genotipo LGG-1^{BC}, observado también en PGA; Tabla y Figura 5), aunque no debe descartarse la posibilidad que estos provengan de poblaciones más sureñas, en las que sean dominantes, como se ha sugerido para *P. panamensis* a lo largo del PM (Paz-García *et al.*, *en prensa b*). A pesar de que no se pudieron analizar poblaciones más al sur de Oaxaca o de las Islas Oceánicas para corroborar esta información, puede ser que mediante la CCCR se lleve a cabo una dispersión de propágulos provenientes de Centroamérica hacia el SPM. Además, los valores del índice F_{ST} por pares de poblaciones

(Tabla 12) y la estimación del flujo genético (Figura 10), indican, respectivamente, que las poblaciones del SPM son diferentes al resto y que existe muy poco intercambio genético entre ellas. De hecho un estudio realizado por López-Pérez (1996) en el que hace un análisis biogeográfico de las comunidades coralinas del Pacífico Oriental, indicó que Oaxaca y Las Islas Revillagigedo son más afines a las de América Central y del Sur.

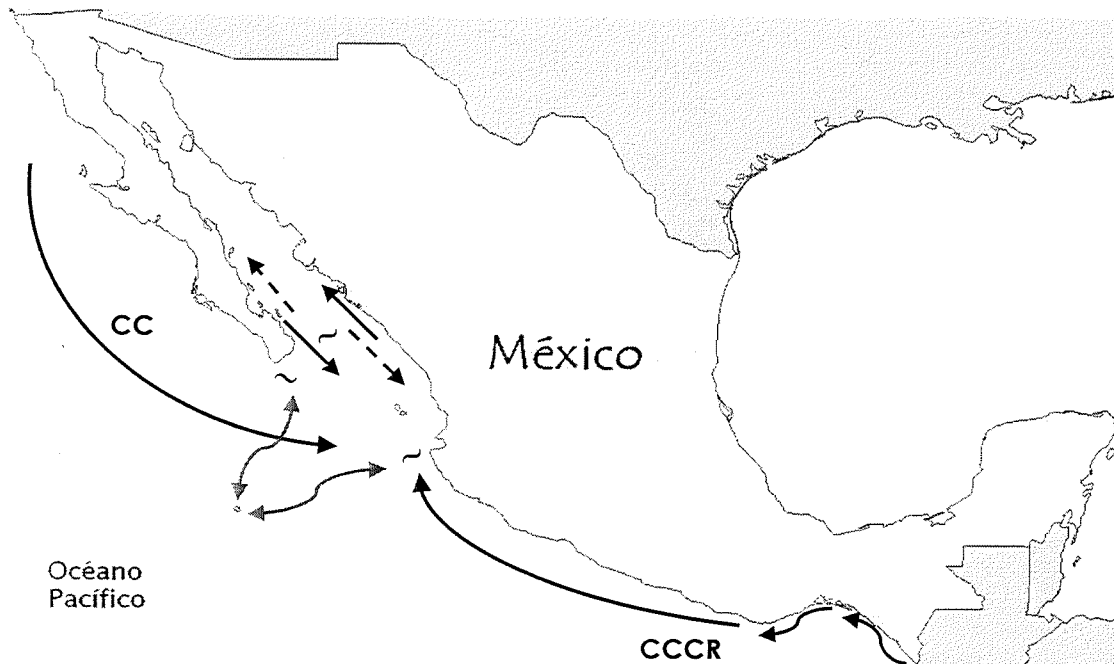


Figura 10. Patrón de corrientes superficiales presentes en el Pacífico mexicano. CC: Corriente de California, CCCR: Corriente Costera de Costa Rica, ~: frentes oceánicos, circulación en invierno (→) y verano (.....→) dentro del Golfo de California, ↺ : posible ruta de dispersión de Islas Revillagigedo con el continente y/o viceversa (Origen: Cano-Pérez, 1991; Álvarez-Borrego, 2002).

II) Otra posible ruta de dispersión de propágulos coralinos, de la que constantemente se ha hecho referencia, es entre las Islas Revillagigedo con el continente, del Golfo de California o Bahía de Banderas hacia dichas Islas (Figura 10; Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Ketchum y Reyes-Bonilla, 2001; Reyes-Bonilla, 2003). A pesar de que en el presente estudio no fue posible recolectar y analizar muestras de las poblaciones de las Islas Revillagigedo que ayudaran a comprobar esta posible ruta de dispersión de propágulos coralinos, estudios moleculares de la especie coralina *Pavona gigantea* evidenciaron haplotipos diferentes entre Isla San Benedicto con poblaciones al sur del Golfo de California y Bahía de Banderas (Saavedra-Sotelo, 2007). Como Paz-García (2009) sugirió, esto implicaría un posible aislamiento de las poblaciones debido a la presencia de frentes oceánicos y a la distancia existente entre estas.

III) La última ruta de dispersión es la que involucra la corriente superficial que va del Golfo de California hacia Bahía de Banderas (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998; Ketchum y Reyes-Bonilla, 2001), dicha corriente fluye hacia el sur por el extremo occidental del golfo durante el invierno y hacia el norte en verano; tal característica junto con los giros ciclónicos y anticiclónicos en la entrada del Golfo de California (Figura 11a y b; Blanco-Betancourt 1996; Collins *et al.*, 1997; Lavín *et al.*, 1997; Álvarez-Borrego, 2002; Makarov y Jiménez-Illesca, 2003), permitirían la dispersión de propágulos en ambas direcciones. La estrecha relación genética encontrada entre las poblaciones dentro y fuera del Golfo de California en *P. damicornis* (presente estudio; Chávez-Romo *et al.*, *en*

prensa), junto con las de *P. panamensis* (Paz-García *et al.*, *en prensa b*) y *P. gigantea* (Saavedra-Sotelo, 2007) aportan elementos que soportarían la ruta de dispersión previamente propuesta. Sin embargo, los genotipos exclusivos en las poblaciones dentro del Golfo de California (POR y PGA LGG-1^{AB}; Tabla y Figura 5), sugieren que estos tal vez no puedan dispersarse hacia el sur del golfo y posiblemente provengan de poblaciones más al norte (Figura 11b). Además, al igual que en *P. panamensis* (Paz-García, 2009), la similitud de las frecuencias alélicas y genotípicas (Tablas 4, 5 y Figuras 4, 5), la cercana identidad genética (Tabla 10), la ligera diferenciación genética (Tabla 12) y el moderado flujo genético (Figura 7) entre las poblaciones de *P. damicornis* en el Golfo de California, podría deberse al patrón de corrientes superficiales que se presentan en el golfo (Figura 11 a y b), así como a la reproducción sexual con desove de gametos al medio que aparentemente realiza la especie (Chávez-Romo y Reyes Bonilla, 2007). Mayor aun es la posibilidad de que la población de PAV exporte propágulos a IRD (o hacia algunas otras) en invierno, debido al giro anticiclónico en la entrada del GC (Figura 11a) y/o en verano la población de IRD envíe propágulos hacia PAV (inclusive a otras poblaciones más al norte), por medio del giro ciclónico en la entrada del GC (Figura 11b) como se ha propuesto para *P. panamensis* (Paz-García, 2009).

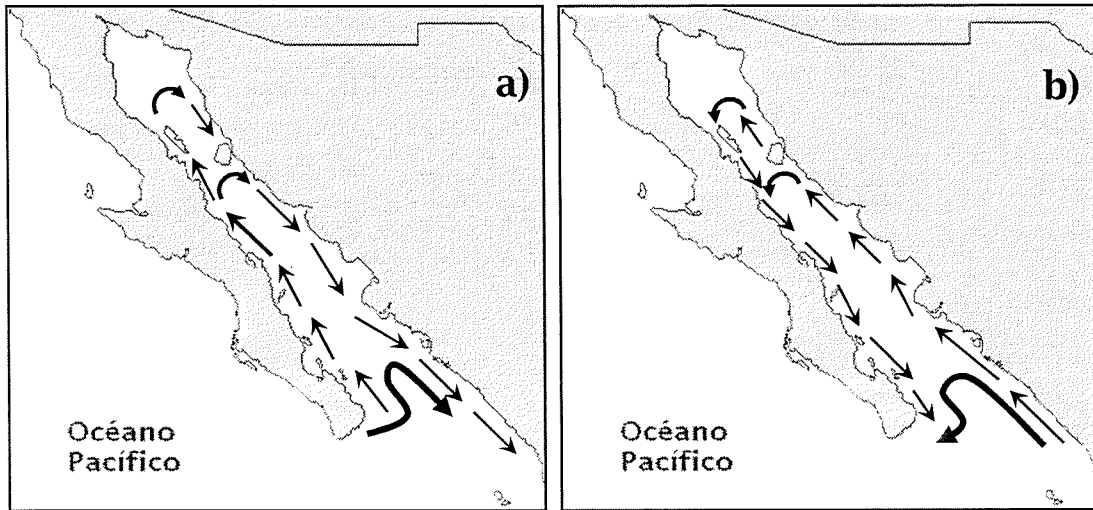


Figura 11. Patrón de corrientes superficiales presentes en el Golfo de California. a) circulación durante el invierno y b) circulación en el verano (Origen: Álvarez-Borrego, 2002; Makarov y Jiménez-Illésca, 2003).

6. Conclusiones

- La composición genética presentó diferentes patrones de acuerdo a la ubicación geográfica de las poblaciones, se observan dos patrones clinales en GDH-1^A y evidencia la presencia de genotipos exclusivos al norte (POR y PGA: LGG-1^{AB}), y al sur del PM (LDH: LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}; LET: LGG-1^{AC} y LGG-1^{CD}), un genotipo fue compartido entre PGA y LDH (LGG-1^{BC}), lo que implica una diferenciación interpoblacional.
- Los valores altos y bajos de los índices $N_g:N$ y $G_o:G_e$ indican, respectivamente, que la estrategia reproductiva dominante al norte del PM es la reproducción sexual, mientras que en las poblaciones del sur predomina el modo asexual vía fragmentación. El número de colonias clones (N_c) apoya la gran contribución de la reproducción asexual ($\geq 25\%$ y $\leq 56\%$) en las poblaciones de *P. damicornis* en el PM.
- Los altos valores de los índices $N_g:N$ y $G_o:G_e$ podrían implicar un mayor tamaño poblacional en el GC (POR, PGA y PAV) y potencial reproductivo, debido a la posibilidad de que exista un gran desove de gametos en el año, en comparación a otras poblaciones del PM (IRD, LDH y LET).
- Se evidenció una conformación de tres grupos en las poblaciones de *P. damicornis*: I) las poblaciones ubicadas dentro del GC (POR y PGA), II) las de la entrada del GC (PAV e IRD) y III) aquellas del SPM (LDH y LET).

Las poblaciones de *P. damicornis* en su gran mayoría presentaron desviaciones significativas (en gran parte por deficiencias de heterocigotos) del equilibrio de Hardy-Weinberg, que fueron evidenciadas tanto por las frecuencias alélicas y genotípicas como por los índices de endogamia dentro y total (F_{IS} y F_{IT} , respectivamente).

- El estadístico F_{ST} evidenció una estructura poblacional entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM, que junto con las comparaciones alélicas y genotípicas, además de las distancias genéticas, evidenciaron una ligera diferenciación genética entre las poblaciones del GC (POR, PGA, PAV e IRD), y una grande entre las SPM (LDH-LET) con el resto de las poblaciones.
- La prueba entre la distancia genética y geográfica corroboró la diferenciación encontrada entre las poblaciones del SPM con las del GC, sin embargo, el análisis de F_{ST} y distancia geográfica no reveló un aislamiento por distancia, lo que implica que *P. damicornis* puede presentar una amplia dispersión, aunque sólo ocurra entre las poblaciones del GC.
- El patrón de circulación oceánica presente en el PM pudo explicar en gran parte la variación y estructura genética encontrada entre las poblaciones de *P. damicornis* como se ha observado en otras especies coralinas.

7. Recomendaciones

- Para futuros estudios, se debe tener precaución al emplear la solución de extracción de Stoddart (1983) y modificada por Weil (1992), ya que esta incluye el cofactor NADP, por lo que se sugiere evitar su uso en la preparación de la solución o en dado caso emplear una solución de extracción alternativa.
- Se requiere hacer un análisis genético de organismos adultos y juveniles con el fin de comprender mejor las relaciones genéticas entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM.
- Es necesario continuar con los estudios de genética poblacional de *P. damicornis* en el resto del GC, PM, las Islas Oceánicas, incluidas las poblaciones de Centroamérica, con la finalidad de corroborar si los genotipos encontrados dentro del GC y sur del PM son realmente exclusivos de estas poblaciones o provienen de otras, del mismo PM y/o Centroamérica.
- De igual forma, es preciso realizar un estudio a gran escala con el fin de determinar el modo de reproducción dominante en aquellas poblaciones en las que se distribuye *P. damicornis*, ya que ayudaría a conocer el grado de dispersión de propágulos entre las poblaciones y su reclutamiento, además que serviría para tener un entendimiento de las relaciones genéticas entre las poblaciones de la especie.

- A la par, se sugiere continuar con los estudios detallados sobre la biología reproductiva de *P. damicornis* a lo largo del PM, con el fin de corroborar lo encontrado en el presente estudio y verificar si la especie tiene un comportamiento similar en aquellas localidades en las que se distribuye, en especial, determinar si *P. damicornis* se reproduce sexualmente con desove de gametos al medio como se ha sugerido en el GC o es por otra vía.
- Un estudio en una escala más amplia también ayudaría a determinar si la estructura genética en las poblaciones de *P. damicornis* permanece similar o varia, además que permitiría conocer el grado de flujo genético entre las poblaciones.
- A su vez, es necesario hacer un estudio en el que se analicen otros factores bióticos y abióticos que posiblemente estén originando la estructura genética entre las poblaciones de *P. damicornis* en el PM.
- Finalmente, se requiere de estudios morfométricos, a la par de los genéticos, con el fin de poder diferenciar si *P. damicornis* presenta morfotipos a lo largo del PM, además que ayudarían a comprender mejor las variaciones y estructura genética, así como la mezcla de estrategias reproductivas que presenta la especie en el PM.

8. 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. **Marine Biology** 134: 753-760.
- Alvarez-Borrego, S.** 2002. Physical oceanography. In: Case, T. J., M. L. Cody y E. Ezcurra, (eds.) **Island Biogeography of the Sea of Cortés.** Oxford University Press. Oxford, 41-59.
- Atherly, A. G., J. R. Girton y J. F. McDonald.** 1999. **The Science of Genetics.** Saunders College Publishing. USA. 704 pp.
- Avise, J. C.** 2004. **Molecular Markers, Natural History and Evolution.** Sinauer Associates, Inc. Publishers. Massachusetts. 684 pp.
- Ayala, F. J. y J. A. Kiger.** 1984. **Genética Moderna.** Fondo Educativo Interamericano. México. 813 pp.
- 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. **Ecology Letters** 7: 273-278.
- Ayre, D. J. y K. J. Miller.** 2004. Where do clonal coral larvae go? Adult genotypic diversity conflicts with reproductive effort in the brooding coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Ecology Progress Series** 277: 95-105.

- Ayre, D. J. y B. L. Willis. 1988. Population structure in the coral *Pavona cactus*: clonal genotypes show little phenotypic plasticity. **Marine Biology** 99: 495-505.
- Ayre, D. J., J. Reid y J. Wishart. 1991. Genetic subdivision within the eastern Australian population of the sea anemone *Actinia tenebrosa*. **Marine Biology** 109: 379-390.
- 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. **Marine Ecology Progress Series** 159: 175-187.
- Benzie, J. A. H., A. Haskell y H. Lehman. 1995. Variation in the genetic composition of coral (*Pocillopora damicornis* and *Acropora palifera*) populations from different reef habitats. **Marine Biology** 121: 731-739.
- Blanco-Betancourt, J. R. 1996. Masas de agua y circulación en la capa superior en la entrada del Golfo de California, durante Octubre-Noviembre de 1994. **Tesis de Maestría**, Universidad Autónoma de Baja California, México. 140 pp.
- Borsa, P., M. Zainury y B. Delay. 1991. Heterozygote deficiency and population structure in the bivalve *Ruditapes decussatus*. **Heredity** 66: 1-8.

- Borsa, P., Y. Josselin y B. Delay.** 1992. Relationship between allozymic heterozygosity, body size and survival to natural anoxic stress in the palourde, *Ruditapes decussatus* L. (Bivalvia: Veneridae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology** 155: 169-181.
- 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. En: De la Lanza-Espino, G., (ed.) **Oceanografía de Mares Mexicanos**. AGT Editor. México, 453-495.
- Carpenter, R. C.** 1997. Invertebrates predators and grazers. In: Birkeland, C. E. (Ed.) **Life and death of coral reefs**. Chapman & Hall, Publishers. U. S. A., 198-229.
- Carpizo-Ituarte, E., H. Reyes-Bonilla, A. Cupul-Magaña, A. López-Pérez, P. Medina-Rosas, H. E. Chávez-Romo, P. Rodríguez-Troncoso, V. Vizcaíno-Ochoa, M. Mora-Pérez, G. Leyte-Morales, L. Calderón-Aguilera, G. Chi-Barragán, O. Tapia Vázquez.** 2008. Sexual Reproduction of Hermatypic Corals Along the Mexican Pacific Coast. **11th International Coral Reef Symposium**. Ft. Lauderdale, Florida, 7-11 July.
- 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. **Bulletin Marine Science** 69(1): 237-249.
- Carvalho, G. R.** 1994. Evolutionary genetics of aquatic clonal invertebrates: concepts, problems and prospects. In: Beaumont, A. R., (ed.) **Genetics and Evolution of Aquatic Organisms**. Chapman & Hall. London, 291-323.
- Chávez-Romo, H. E.** 2004. Biología Reproductiva de *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) (Scleractinia) en Punta Gaviotas, Bahía de La Paz, Baja California Sur, México. **Tesis de Licenciatura**. Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. 79 pp.
- Chávez-Romo, H. E. y H. Reyes-Bonilla.** 2007. Reproducción sexual del coral *Pocillopora damicornis* al sur del Golfo de California, México. **Ciencias Marinas** 33(4): 495-501.
- Chávez-Romo, H. E., F. Correa-Sandoval, D. A. Paz-García, H. Reyes-Bonilla, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M. P. Hernández-Cortés.** 2007. Variación genética de la Leucil aminopeptidasa (EC. 3.4.11.1) en *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) en el Pacífico mexicano. **IV Congreso Mexicano de Arrecifes de Coral**. La Paz, B. C. S., México.

- Chávez-Romo, H. E., F. Correa-Sandoval, D. A. Paz-García, H. Reyes-Bonilla, R. A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M. P. Hernández-Cortés.** En prensa. Genetic structure of the scleractinian coral, *Pocillopora damicornis*, from the Mexican Pacific. **Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium.**
- Chrumbach, A. y D. Rodbard.** 1971. Polyacrilamide gel electrophoresis. **Science** 172: 440-450.
- Coffroth, M. A. y H. R. Lasker.** 1998. Population structure of a clonal gorgonian coral: the interplay between clonal reproduction and disturbance. **Evolution** 52: 379-383.
- Collins, C. A., N. Garfield, A. S. Mascarenhas, M. G. Spearman y T. A. Rago.** 1997. Ocean currents across the entrance to the Gulf of California. **Journal of Geophysical Research** 102(9): 20927-20936.
- Combosch, D. J., H. M. Guzman, H. Schuhmacher y S. T. Vollmer.** 2008. Interspecific hybridization and restricted trans-Pacific gene in the Tropical Eastern Pacific *Pocillopora*. **Molecular Ecology** 17: 1304-1312.
- Connell, J. H., T. P. Hughes y C. D. Wallace.** 1997. A 30-year study of coral abundance, recruitment and disturbance at several scales in space and time. **Ecology Monography** 67(4): 461-488.
- Constantini, F., C. Fauvelot y M. Abbiati.** 2007. Fine-scale genetic structuring in *Corallium rubrum*: evidence of inbreeding and limited effective larval dispersal. **Marine Ecology Progress Series** 340: 109-119.

- Dai, C. F., T. Y. Fan y J. K. Yu.** 2000. Reproductive isolation and genetic differentiation of a scleractinian coral *Mycedium elephantotus*. **Marine Ecology Progress Series** 201: 179-187.
- 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. **Coral Reefs** 23(4): 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. En: De la Rosa-Vélez, J. y F. González-Farías, (eds.) **Temas de Oceanografía Biológica en México**. Ensenada, 255-284.
- 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. **Fishery Bulletin** 98: 674-683.
- Fadlallah, Y. H.** 1983. Sexual Reproduction, Development and Larval Biology in Scleractinian Corals. **Coral Reefs** 2: 129-150.
- Flot, J. F. y S. Tillier.** 2006. Molecular phylogeny and systematic of the scleractinian coral genus *Pocillopora* in Hawaii. **Proceedings of 10th. International Coral Reef Symposium, Okinawa** 24-29.

- Foltz, D. W. 1986. Null alleles as a possible cause of heterozygote deficiency in the oyster *Crassostrea virginica*. **Biochemical Genetic** 24: 941-956.
- Gillespie, J. H. 1998. **Population genetics: a concise guide**. John Hopkins University Press. Baltimore. 174 pp.
- Gilmour, P. J. 2002. Substantial asexual recruitment of mushroom corals contributes little to population genetics of adults in conditions of chronic sedimentation. **Marine Ecology Progress Series** 235: 81-91.
- Glynn, P. W. 1988. El Nino-Southern oscillation 1982-1983: Nearshore population, community, and ecosystem responses. **Annual Review of Ecology and Systematics** 19: 309-345.
- Glynn, P. W. 1997. Bioerosion and coral-reef growth: a dynamic balance. In: Birkeland, C. E., (Ed.) **Life and death of coral reefs**. Chapman & Hall, Publishers. U. S. A., 68-95.
- Glynn, P. W. 2001. Eastern Pacific Coral Reef Ecosystems. In: Seelinger, U. y B. Kjerfve, (Ed.) **Coastal Marine Ecosystems of Latin America**, Ecological Studies, Vol. 44. Springer-Verlag. Berlin, 281-305.
- Glynn, P. W. y G. M. Wellington. 1983. **Corals and coral reefs of the Galápagos Islands**. University of California Press, Berkeley. 330 pp.
- Glynn, P. W., y L. D'Croz. 1990. Experimental evidence for high temperature stress as the cause of El Nino-coincident mortality. **Coral Reefs** 8(4):181-191.
- 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 G. E. **Leyte-Morales**. 1997. Coral reefs of Huatulco, west México: reef development in upwelling Gulf of Tehuantepec. **Revista de Biología Tropical** 45: 1033-1047.
- Glynn, P. W., R. H. **Stewart**, y J. E. **McCosker**. 1972. Pacific Coral Reefs of Panamá: Structure, Distribution and Predators. **Geologische Rundschau** 61(2): 483-519.
- Glynn, P. W., N. J. **Gassman**, C. M. **Eakin**, J. **Cortés**, D. B. **Smith** y H. M. **Guzmán**. 1991. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panamá, and Galápagos Islands (Ecuador) I. Pocilloporidae. **Marine Biology** 109: 355-368.
- Gorman, G. C. y J. J. **Renzi**. 1979. Genetic distance and heterozygosity estimates in electrophoretic studies: effects of sample size. **Copeia** 19: 242-249.
- Goudet, J. 1999. FSTAT. A program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.8). Updated from Goudet (1995).
- Goudet, J., M. **Raymond**, T. **Demeus** y F. **Rousset**. 1996. Testing differentiation in diploid populations. **Genetics** 144: 1933-1940.
- Guzmán, H. M. 1988. Distribución y abundancia de organismos coralívoros en los arrecifes coralinos de la Isla del Caño, Costa Rica. **Revista de Biología Tropical** 36: 191-207.
- Guzmán, H. M. 1991. Restoration of Coral Reefs in Pacific Costa Rica. **Conservation Biology** 5(2): 189-195.

- Guzmán, H. M., J. Cortés, R. H. Richmond y P. W. Glynn.** 1987. Distribución y abundancia de organismos coralívoros en los arrecifes coralinos de la Isla del Caño, Costa Rica. **Revista de Biología Tropical** 36: 191-207.
- Hall, V. y T. P. Hughes.** 1994. Reproductive strategies of modular organisms: comparative studies of reef building corals. **Ecology** 77: 950-963.
- Harrigan, J. F.** 1972. The Planula Larva of *Pocillopora damicornis*: Lunar Periodicity of Swarming and Substratum Selection Behavior. **Ph. D. Dissertation.** University of Hawaii, U. S. A. 319 pp.
- Harris, H. y D. A. Hopkinson.** 1978. **Handbook of enzyme electrophoresis in human genetics.** North Holland Publishing Company. Amsterdam. 670 pp.
- Harrison, P. L. y C. C. Wallace.** 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. In: Dubinsky, Z. (ed.) **Ecosystems of the World: Coral Reefs.** Elsevier. Amsterdam, 133-207.
- Hartl, D. L. y A. G. Clark.** 1997. **Principles of population genetics.** Sinauer Associates, Sunderland. Massachusetts. 524 pp.
- Hellberg, M. E.** 1994. Relationships between inferred levels of gene flow and geographic distance in a philopatric coral, *Balanophyllia elegans*. **Evolution** 48(6): 1829-1854.
- Hellberg, M. E.** 1995. Stepping-stone gene flow in the solitary coral *Balanophyllia elegans*: equilibrium and non-equilibrium at different spatial scales. **Marine Biology** 123: 573-581.

- 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.
- Hellberg, M. E.** y **M. S. Taylor.** 2002. Genetic analysis of sexual reproduction in the dendrophylliid coral *Balanophyllia elegans*. **Marine Biology** 141: 629-637.
- Hughes, T. P., D. Ayre** y **J. H. Connell.** 1992. The evolutionary ecology of corals. **TREE** 7(9): 292-295.
- Hunter, C. L.** 1993. Genotypic variation and clonal structure in coral populations with different disturbance histories. **Evolution** 47: 1213-1228.
- Johnson, M. S.** y **R. Black.** 1984. The Wahlund effect and the geographical scale of variation in the intertidal limpet, *Siphonaria* sp. **Marine Biology** 79: 295-302.
- Ketchum, J. T.** y **H. Reyes-Bonilla.** 2001. Taxonomía y distribución de los corales hermatípicos (Scleractinia) del Archipiélago de Revillagigedo, México. **Revista de Biología Tropical** 49(3-4): 803-848.
- Knowlton, N.** 2001. Coral Reef Biodiversity--Habitat Size Matters. **Science** 292: 1493-1495.
- Kramer, P., P. R. Kramer, J. E. Arias-Gonzalez** y **M. McField.** 2000. Status of coral reefs of Northern Central America: Mexico, Belize, Guatemala, Honduras, Nicaragua, and El Salvador. In: Wilkinson, C., (Ed.) **Status of Coral Reefs of the World: 2000.** Australian Institute of Marine Science. Townsville, Australia., 363.

- Laemmli, U. K.** 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature** 227: 680-685.
- LaJeunesse, T. C., H. Reyes-Bonilla y M. E. Warner.** 2007. Spring "bleaching" among *Pocillopora* in the Sea of Cortez, Eastern Pacific. **Coral Reefs** 26(2): 265-270.
- Lavín, M. F., E. Beier y A. Badan.** 1997. Estructura hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual. En: Lavín, M. F. (ed.) **Monografía No. 3, Unión Geofísica Mexicana.** 141-172.
- Le Goff-Vitry, M. C., O. G. Pybus y A. D. Rogers.** 2004. Genetic structure of the deep-sea coral *Lophelia pertusa* in the northeast Atlantic revealed by microsatellites and internal transcribed spacer sequences. **Molecular Ecology** 13: 537-549.
- Licona-Chávez, F. Correa-Sandoval, J. De la Rosa-Vélez y 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.** 1996. Biogeografía histórica de los corales hermatípicos (Anthozoa: Scleractinia del Pacífico oriental tropical. **Tesis de Licenciatura.** Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. 144 pp.

- 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.
- 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.
- Maynard-Smith, J.** 1978. **The Evolution of Sex.** Cambridge University Press. Cambridge. 222 pp.
- Medina-Rosas, P., J. D. 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.
- 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. <http://marksgeneticsoftware.net>.
- Miller, K. J. y D. J. Ayre.** 2004. The role of sexual and asexual reproduction in structuring high latitude populations of the reef coral *Pocillopora damicornis*. **Heredity** 92: 557-568.
- Miller, K. J. y D. J. Ayre.** 2008a. Population structure is not a simple function of reproductive mode and larval type: insights from tropical corals. **Journal of Animal Ecology** 77: 713-724.

- Miller, K. J. y D. J. Ayre.** 2008b. Protection of Genetic Diversity and Maintenance of Connectivity among Reef Corals within Marine Protected Areas. **Conservation Biology** 22(5): 1245-1254.
- 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. Silveria 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. **Marine Biology** 143: 963-968.
- Nishikawa, A. y K. Sakai.** 2005. Genetic connectivity of the scleractinian coral *Goniastrea aspera* around the Okinawa Islands. **Coral Reefs** 24: 318-323.
- 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. **Marine Ecology Progress Series** 256: 87-97.
- 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.
- Paz-García, D. A.** 2005. Revisión taxonómica del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 (Anthozoa: Scleractinia) en el Golfo de California, México. **Tesis de Licenciatura.** Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. 70 pp.
- Paz-García, D. A.** 2009. Variación genética del coral *Porites panamensis* Verrill, 1866 (Anthozoa: Scleractinia) en el Pacífico mexicano. **Tesis de Maestría.** Universidad Autónoma de Baja California, México. 78 pp.
- Paz-García, D. A., H. Reyes-Bonilla y M. P. Hernández-Cortés.** En prensa a. Genetic variation in two morphotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California. **Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium.**
- Paz-García D. A., F. Correa-Sandoval, H. E. Chávez-Romo, H. Reyes-Bonilla, 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 *Porites panamensis* Verrill, 1866 en el Pacífico mexicano. **IV Congreso Mexicano de Arrecifes de Coral.** La Paz, BCS, México.
- Paz-García D. A., F. Correa-Sandoval, H. E. Chávez-Romo, H. Reyes-Bonilla, A. López-Pérez, P. Medina-Rosas y M. P. Hernández-Cortés.** En prensa b. Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) from the Mexican Pacific. **Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium.**

- Raymond M. y F. Rousset.** 2003. GENEPOP (version 3.4): Population genetics software for exact test and ecumenicism. Actualización de la versión GENEPOP (v. 1.2) descrita en **Journal Heredity** 86: 248-249.
- Reyes-Bonilla, H.** 1989. Geographical patterns in the reproductive biology of the hermatypic coral *Pocillopora* and some evolution consequences. **Abstract of the Fifth International Conference on Coelenterate Biology.** London. University of Southampton. 1-31.
- Reyes-Bonilla, H.** 2001. Effects of the 1997-1998 El Niño-Southern Oscillation on coral communities of the Gulf of California, México. **Bulletin Marine Science** 69: 251-266.
- Reyes-Bonilla, H.** 2003. Coral reefs of the Pacific coast of Mexico. In: Cortés, J., (ed.) **Latin American Coral Reefs.** Elsevier Science. Amsterdam, 331-349.
- Reyes-Bonilla, H. y L. E. Calderón-Aguilera.** 1994. Parámetros poblacionales de *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia), en el arrecife de Cabo Pulmo, México. **Revista de Biología Tropical** 42: 121-128.
- Reyes-Bonilla, H. y A. López-Pérez.** 1998. Biogeografía de los corales pétreos (Scleractinia) del Pacífico de México. **Ciencias Marinas** 24(2): 211-224.
- 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.
- Rice, W. R.** 1989. Analyzing tables of statistical tests. **Evolution** 43(1): 223-225.

- Richardson, B. J., P. R. Baverstock y M. Adams.** 1986. **Allozyme electrophoresis. A handbook for animal systematic and population studies.** Academic Press INC. Australia. 410 pp.
- Richmond, R. H.** 1985. Variations in the population biology of *Pocillopora damicornis* across the Pacific. **Proceedings of the Fifth International Coral Reef Congress, Tahiti** 6: 101-106.
- Richmond, R. H.** 1987. Energetic relationships and biogeographical differences among fecundity, growth, and reproduction in the reef coral, *Pocillopora damicornis*. **Bulletin of Marine Science** 41(2): 594-604.
- Richmond, R. H. y P. L. Jokiel.** 1984. Lunar periodicity in larva release in the reef coral *Pocillopora damicornis* at Enewetak and Hawaii. **Bulletin of Marine Science** 34(2): 280-287.
- Richmond, R. H. y C. L. Hunter.** 1990. Reproduction and recruitment of corals: comparisons among the Caribbean, the Tropical Pacific, and the Red Sea. **Marine Ecology Progress Series** 60: 185-203.
- Ridgway, T.** 2005. Allozyme electrophoresis still represents a powerful technique in the management of coral reefs. **Biodiversity and Conservation** 14(1): 135-149.
- Ridgway, T., O. Hoegh-Guldberg y D. J. Ayre.** 2001. Panmixia in *Pocillopora verrucosa* from South Africa. **Marine Biology** 139: 175-181.

- 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** 10(6): 1439-1453.
- Roden, G. I.** 1971. Thermohaline structure and baroclinic flow across the Gulf of California entrance and in the Revillagigedo islands region. **Journal of Physical Oceanography** 2: 177-183.
- Rodríguez-Troncoso, A. P.** 2004. Caracterización del ciclo reproductivo de *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758), en el arrecife de La Entrega, Oaxaca, México. **Tesis de Licenciatura**. Universidad del Mar, México. 69 pp.
- Rodríguez-Troncoso, A. P.** 2006. Ciclo reproductivo de tres especies de corales formadoras de arrecife en Bahía La Entrega, Oaxaca, México. **Tesis de Maestría**. Universidad Autónoma de Baja California, México. 118 pp.
- Saavedra-Sotelo, N. C.** 2007. Estructura y flujo genético de *Pavona gigantea* (Anthozoa: Scleractinia) en las costas del Pacífico mexicano. **Tesis de Maestría**. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. México. 65 pp.
- Salvat, B.** 1987. **Human impacts on coral reefs: facts and recommendations**. Antennes Museum E. P. H. E. French Polynesia. 253 pp.

- Sebens, K. P. y B. L. Thorpe.** 1985. Coexistence of clones, clonal diversity, and the effects of disturbance. In: Jackson, J. B. C., L. W., Buss y R. E., Cook, (ed.) **Population Biology and Evolution of Clonal Organisms.** Yale University Press. New Haven and London, 357-398.
- Selander, R. K.** 1970. Behavior and genetic variation in natural populations. **American Zoology** 10: 53-66.
- Sherman, C. D. H., D. J. Ayre y K. J. Miller.** 2006. Asexual reproduction does not produce clonal populations of the brooding coral *Pocillopora damicornis* on the Great Barrier Reef, Australia. **Coral Reefs** 25(1): 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.
- Stimson, J. S.** 1978. Mode and Timing of Reproduction in Some Common Hermatypic Corals of Hawaii and Enewetak. **Marine Biology** 48: 173-184.
- Stoddart, J. A.** 1983. Asexual production of planulae in the coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Biology** 76: 279-284.
- Stoddart, J. A.** 1984a. Genetical structure within populations of the coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Biology** 81: 19-30.
- Stoddart, J. A.** 1984b. Genetic Differentiation Amongst Populations of the Coral *Pocillopora damicornis* off Southwestern Australia. **Coral Reefs** 3: 149-156.

- Stoddart, J. A.** 1988. Coral Populations Fringing Islands: Larval Connections. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research** 39: 109-115.
- 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. **Journal Heredity** 72: 281-283.
- Tanner, J. E.** 1996. Seasonality and lunar periodicity in the reproduction of Pocilloporid corals. **Coral Reefs** 15: 59-66.
- 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. **Marine Biotechnology** 6(5): 475-484.
- Veron, J. E. N.** 2000. **Corals of the World.** Australian Institute of Marine Sciences. Townsville. Vols. 1-3.
- Vizcaíno-Ochoa, V.** 2003. Biología reproductiva de tres especies de corales formadores de arrecifes en Bahía de Banderas, México. **Tesis de Maestría.** Universidad Autónoma de Baja California, México. 74 pp.
- Wallace, B.** 1981. **Basic population genetics.** Columbia University Press. New York. 688 pp.
- Ward, S.** 1992. Evidence for broadcast spawning as well as brooding in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. **Marine Biology** 112: 641-646.

- Weil, E.** 1992a. Genetic and Morphological variation in Caribbean and eastern Pacific *Porites* (Anthozoa, Scleractinia). Preliminary Results. **Proceedings of the seventh Internacional Coral Reef Symposium, Guam 2:** 643-656.
- Weil, E.** 1992b. Genetic and morphological variation in *Porites* (Anthozoa: Scleractinia) across the isthmus of Panama. **Tesis Doctoral.** University of Texas. USA. 238 pp.
- Weil, E. y L. A. Weigt.** 1996. Protein starch-gel electrophoresis in Scleractinia corals: a report on techniques and troubleshooting. **Caribbean Marine Research Center Technical Report Series** 96-13.
- Weir, B. S. y C. Cockerham.** 1984. Estimating F-statistics for the analysis of populations structure. **Evolution** 38(6): 1358-1370.
- Whitaker, K.** 2004. Non-random mating and population genetic subdivision of two broadcasting corals at Ningaloo Reef, Western Australia. **Marine Biology** 144: 593-603.
- Whitaker, K.** 2006. Genetic evidence for mixed modes of reproduction in the coral *Pocillopora damicornis* and its effect on population structure. **Marine Ecology Progress Series** 306: 115-124.
- Williams, G. C.** 1975. The Strawberry-Coral Model. In: May, R. M., (ed.) **Sex and Evolution.** Princeton University Press. New Jersey, 26-34.
- Willis, B. L., R. C. Babcock, P. L. Harrison y C. C. Wallace.** 1997. Experimental hybridization and breeding incompatibilities within the

mating systems of mass spawning reef corals. **Coral Reefs** 16, Suppl.: S53-S65.

Wright, S. 1951. The genetical structure of populations. **Annals of Eugenics** 15: 323-354.

Wright, S. 1965. The interpretation of population structure by F-statistics with special regard to systems of mating. **Evolution** 19: 395-420.

Wright, S. 1978. **Evolution and the genetics of populations. Vol. 4. Variability Within and Among Natural Populations.** University of Chicago Press. USA. 580 pp.

Wyrcki, K. 1965. Surface currents of the eastern Pacific Ocean. **Bulletin Inter-american Tropical Tuna Commission** 9: 279-303.

Yu, J.-K., H.-Y. Wang, S.-C. Lee y C.-F. Dai. 1999. Genetic structure of scleractinian coral, *Mycedium elephantotus*, in Taiwan. **Marine Biology** 133: 21-28.

Zouros, E. y D. W. Foltz. 1984. Possible explanations of heterozygote deficiency in bivalve molluscs. **Malacologia** 25(2): 583-591.

9. 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.

■ Solución de Stoddart (1983), modificada por Weil (1992b).

Reactivo	Cantidad
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.

Nota: Es necesario señalar que el empleo de esta solución *no se recomienda cuando se analizan sistemas enzimáticos en los que el NAD es su cofactor*. Debido a que la solución de extracción de Stoddart (1983) y modificada por Weil (1992b) contiene NADP, el cual origina variaciones en las reacciones químicas de aquellos sistemas enzimáticos que emplean NAD como cofactor, generalmente el NADP se usa como un estabilizador de deshidrogenasas (Harris y Hopkins, 1978).

■ Solución Monomera de Acrilamida (30.8 % T, 2.7% C_{bis})

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

Preparación de solución:

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

■ **Amortiguador separador (1.5 M Tris-HCl, pH 8.8)**

Reactivo	Cantidad
Trizma Base (T-1503)	45.41 g

Nota: Ajustar pH con HCl, aforar a 250 ml con agua destilada. Almacenar a 4°C.

■ **Amortiguador concentrador (0.5 M Tris-HCl, pH 6.75)**

Reactivo	Cantidad
Trizma Base (T-1503)	15.13 g

Nota: Ajustar pH con HCl, aforar a 250 ml con agua destilada. Almacenar a 4°C.

■ **Amortiguador para electrodo 5X, pH 8.3 (uso en cámara de electroforesis)**

Reactivo	Cantidad
Trizma Base (T-1503)	6.05 g
Glicina (G-7126)	28.5 g
Agua destilada	1000 ml

Ajustar pH con HCl.

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

■ **Amortiguador de carga**

Reactivo	Cantidad
Glicerol (G-8773)	4 ml
Azul de bromofenol 1%	500 ml
0.5 M Tris-HCl	5 ml

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

■ **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. Preparación de geles discontinuos

■ Gel concentrador (100 x 100 x 0.7 mm espesor; 3.8% T, 0.34% C)

Reactivo	Cantidad
Agua destilada	1.38 ml
Amortiguador concentrador	0.56 ml
Solución de acrilamida	0.29 ml
APS 10%	11 μ l
TEMED	3 μ l
TOTAL	2.25 ml

■ Gel separador (8% T, 0.71% C)

Reactivo	Cantidad
Agua destilada	3.82 ml
Amortiguador separador	2 ml
Solución de acrilamida	2.13 ml
APS 10%	40 μ l
TEMED	5 μ l
TOTAL	8 ml

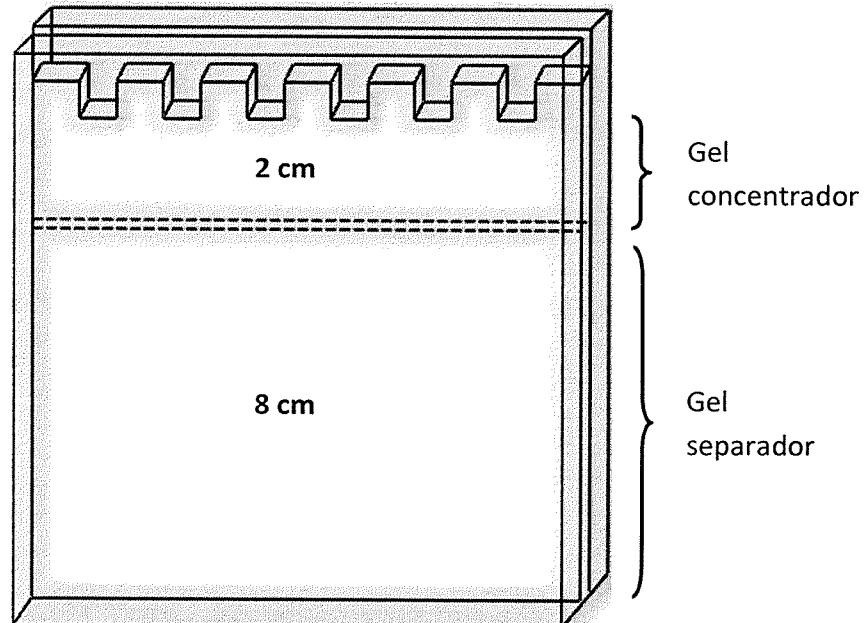


Figura 12. Gel discontinuo de poliacrilamida.

Anexo III. Preparación de soluciones histoquímicas, reacción y actividad enzimática

Colocar e incubar el gel en la solución histoquímica correspondiente a 37 °C, en oscuridad. Una vez que aparezcan las bandas oscuras, lavar el gel con agua destilada y detener la reacción con solución fijadora de alcohol y ácido acético.

E.C. 1.1.1.40 Enzima málica (ME)

Reactivo	Cantidad
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 málico en 45 ml de 0.1 M Tris-HCl, pH 8.0. Ajustar a pH 8.0 con NaOH. La solución sustrato puede ser almacenada a 4°C ya que es estable en refrigeración.

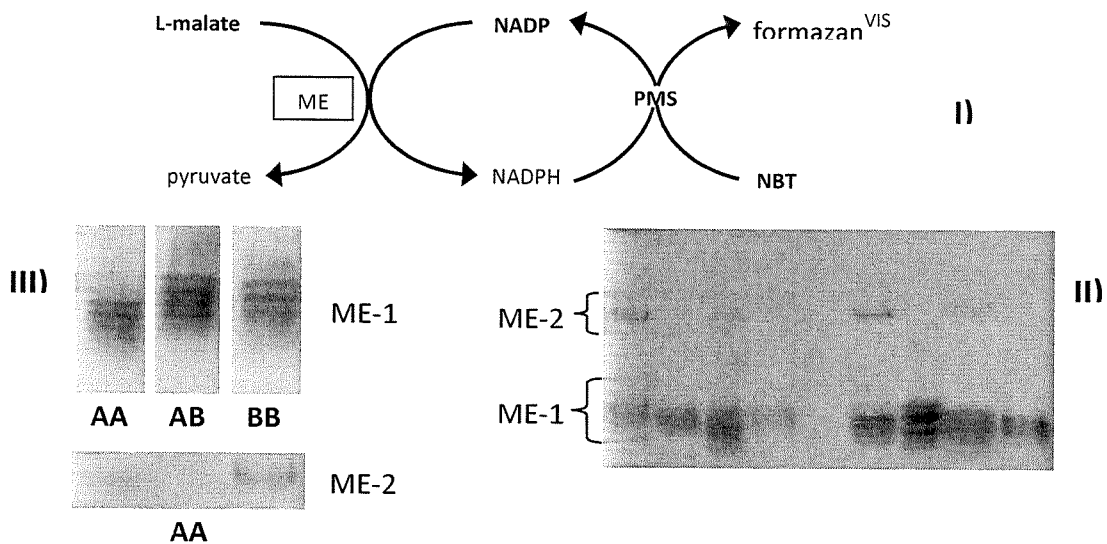


Figura 13. Actividad de enzima málica en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados.

■ E.C. 1.4.1.3 Glutamato deshidrogenasa (GDH)

Reactivo	Cantidad
0.1 M Tris-HCl, pH 8.0	50 ml
Ácido glutámico	200 mg
NADP	20 mg
MTT	10 mg
PMS	10 mg

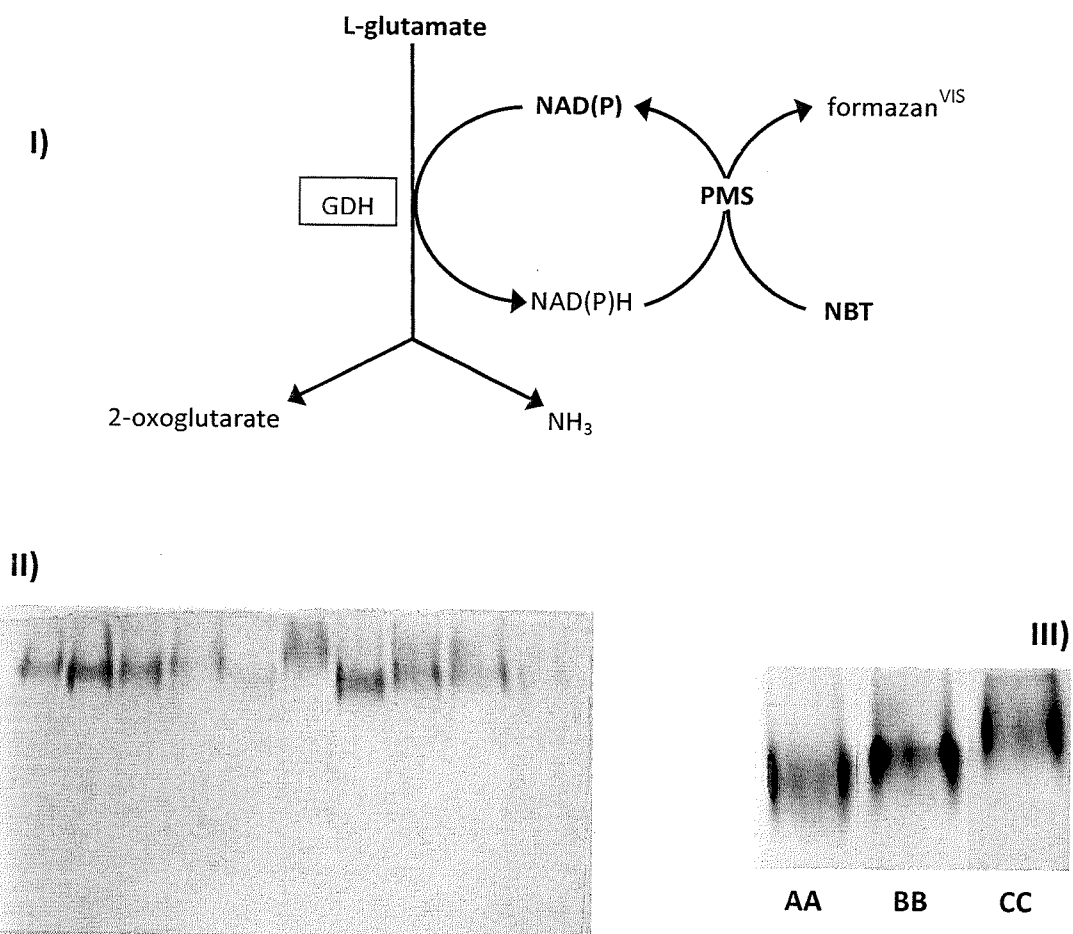


Figura 14. Actividad de glutamato deshidrogenasa en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados.

▪ E.C. 3.1.1.1 Carboxyesterasa (EST)

Reactivo	Cantidad
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 Esterasa:

Disolver 0.1 g de α -naftil acetato y 0.1 g de β -naftil acetato en 5 ml de acetona. Posteriormente, agregar 5 ml de agua destilada. Almacenar la solución durante 4 días en congelación (-20°C).

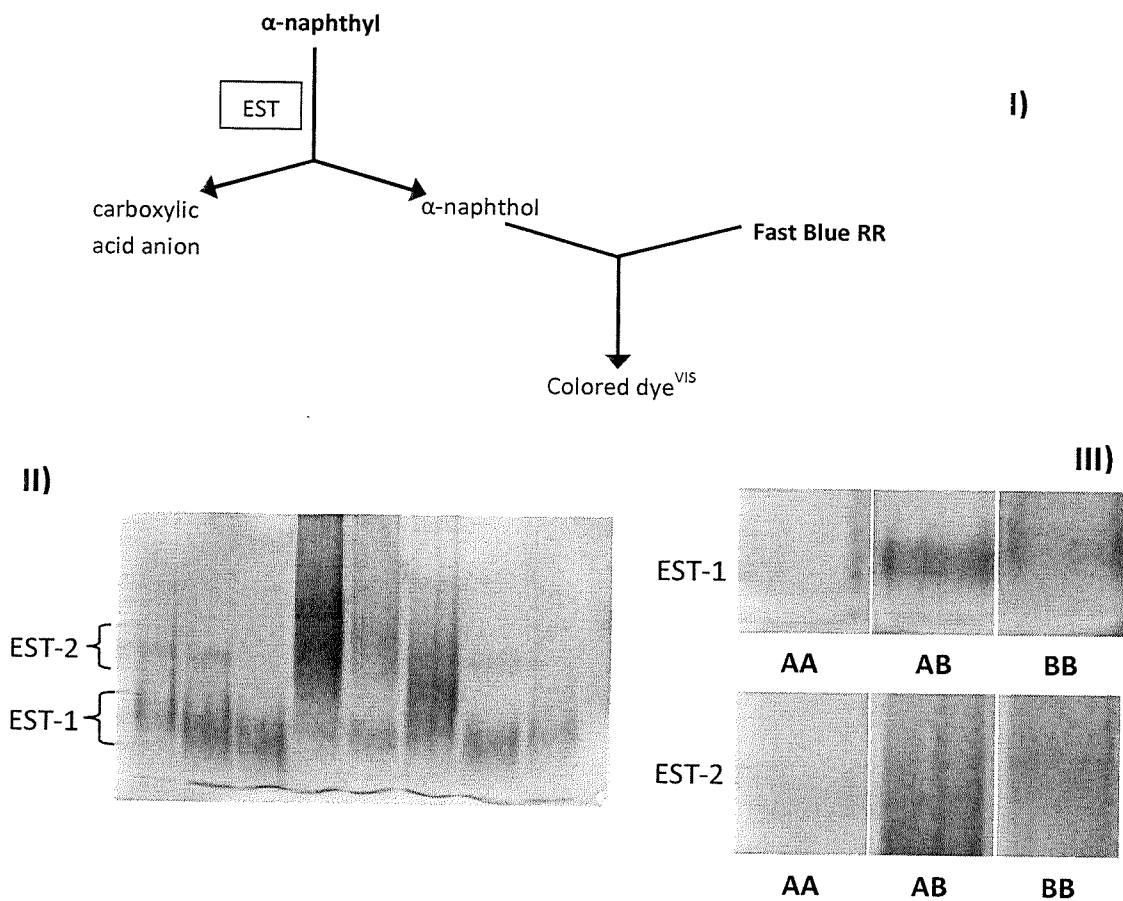


Figura 15. Actividad de esterasa en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados.

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

Reactivo	Cantidad
0.05 M Tris-HCl, pH 8.0	40 ml
L-amino ácido oxidasa	33.3 mg*
LGG	40 mg
NBT	20 mg
PMS	5 mg

*Equivalente a 8 unidades de enzima.

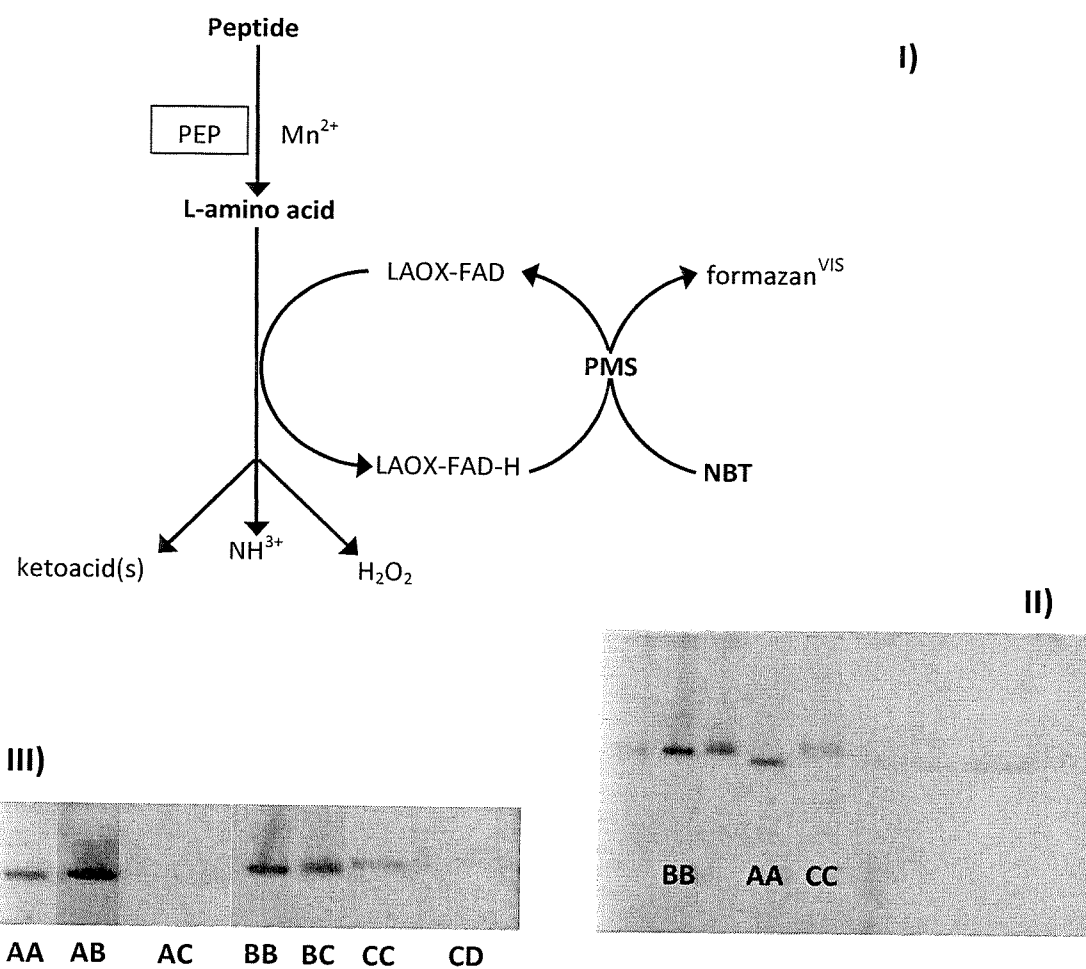


Figura 16. Actividad de leucil glicina glicina en *P. damicornis*. I) esquema de la reacción histoquímica, II) electromorfos y III) genotipos registrados.