

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE EDUCACIÓN
SUPERIOR DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**ESTRUCTURA Y FLUJO GENÉTICO DE *Pavona gigantea* (Anthozoa:
Scleractinia) EN LAS COSTAS DEL PACÍFICO MEXICANO**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el
grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

NANCY CLAUDIA SAAVEDRA SOTELO

Ensenada, Baja California, México, Diciembre del 2007.

RESUMEN de tesis que presenta **Nancy Claudia Saavedra Sotelo** como requisito parcial para la obtención del grado MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada Baja California. Noviembre 2007.

ESTRUCTURA Y FLUJO GENÉTICO DE *Pavona gigantea* (Anthozoa: Scleractinia) EN LAS COSTAS DEL PACÍFICO MEXICANO

Resumen aprobado por:

Dr. Axayácatl Rocha Olivares

Existe poca información sobre la conectividad de sistemas arrecifales, es decir, sobre el grado en que las larvas y gametos son transportados a otras poblaciones o retenidos. La dispersión de corales por medio de estadios meroplanctónicos representa el principal mecanismo de colonización de nuevas áreas y de conexión entre colonias establecidas. Dicha dispersión se encuentra influenciada por varios factores tales como las características locales del océano, la sincronización con la expulsión de propágulos y la capacidad de fases larvarias para alcanzar sitios de asentamiento. Difícilmente se dan en tiempo y espacio todas las condiciones para que se manifiesten altos niveles de conectividad entre poblaciones coralinas, lo que facilita su aislamiento reproductivo y diferenciación genética. Con el objeto de cuantificar el grado de conectividad entre poblaciones del coral hermatípico *Pavona gigantea*, se analizaron dos genes mitocondriales (COX1 e Intron NAD) y uno nuclear (ADNr) encontrando mayor variabilidad genética en el nuclear ($h_{COX1} = 0.33$, $h_{intron\ NAD} = 0.05$ y $h_{ADNr} = 0.95$). La alta variabilidad genética es consistente con la presencia de reproducción sexual. Los análisis de estructura genética nuclear reflejaron una diferenciación ($\Phi_{st} = 0.159^{***}$) altamente significativa entre cinco localidades del Pacífico Mexicano. El flujo genético fue limitado entre la mayoría de las localidades, el más grande fue moderado y unidireccional de Huatulco, Oaxaca, a las Islas Marietas, Nayarit. Si bien frecuentemente la dirección y magnitud del flujo genético entre poblaciones coralinas no siempre concuerda con los patrones de circulación oceánica, en este estudio se encontró una concordancia parcial entre el grado de conectividad y el patrón general de circulación de la región. Estos resultados sugieren la influencia de factores ambientales y biológicos, históricos y contemporáneos en la conectividad demográfica entre poblaciones de *P. gigantea* a lo largo del Pacífico mexicano.

Palabras clave: *Pavona gigantea*, conectividad, estructura genética, flujo genético.

ABSTRACT of the thesis presented by **Nancy Claudia Saavedra Sotelo** as a partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCE degree in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California. November 2007.

GENETIC STRUCTURE AND GENE FLOW OF *Pavona gigantea* (Anthozoa: Scleractinia) OFF THE MEXICAN PACIFIC COAST

There is little information on the levels of connectivity in coral reef populations, which are linked by means of passive transport of their larvae and gametes. Dispersal by means of meroplanktonic stages represents the main mechanism of colonization of new areas and hence drives the level of connectivity between colonies. This dispersal is influenced by several factors, such as the local current regime, the synchronization of spawning events and the capacity of larval phases to reach recruitment sites. The objective of this research is to quantify the levels of connectivity among *Pavona gigantea* populations in the Mexican Pacific, using two mitochondrial (COX1 and Intron NAD) and a nuclear (rDNA: ITS1-5.8S-ITS2) genes. We found the highest levels of genetic variability in the nuclear gene ($h_{COX1} = 0.33$, $h_{intron\ NAD} = 0.05$ and $h_{ADNr} = 0.95$), which is consistent with the existence of sexual reproduction. Tests of genetic structure using the data obtained from nuclear genes indicated significant genetic differentiation ($\Phi_{st} = 0.159^{***}$) among the five localities of the Mexican Pacific. Gene flow was limited among most localities. The largest gene flow was moderate and unidirectional from Huatulco, Oaxaca, to the Marietas Islands, Nayarit. I found partial agreement between the degree of connectivity among localities and the general pattern of circulation of the region. These results suggest the influence of historical and contemporaneous factors in the demographic connectivity between *Pavona gigantea* populations along Mexican Pacific.

Key words: *Pavona gigantea*, connectivity, genetic structure, genetic flow.

"En mi opinión, he sido un niño pequeño que, jugando en la playa, encontraba de tarde a tarde un guijarro más fino o un aconcha más bonita de lo normal. El océano de la verdad se extendía, inexplorado, delante de mí."

Isaac Newton

Con todo mi amor...

A MI PADRE, por su esfuerzo en darme todo para ser feliz, a quien sin darse cuenta me ha dado la mejor herencia que nunca imagino, su fortaleza para enfrentar la vida, es el mejor ejemplo que he tenido. ¡Te amo papá!

A MI MADRE, con nada podré pagarte los sacrificios que por mi has realizado, espero que en tu escultura veas tu esfuerzo y cariño depositado, y sobre todo que sea para siempre. ¡Te amo mami!

A MIS HERMANAS, por su cariño inmenso y por darme la bendición de conocer a esos dos angelitos que alegran la casa. Nadya, a quien admiro por luchar el día a día junto a ese hermoso niño que llena tu vida. Tania, por ser una mujer con arrojo e inteligente para vivir plenamente, felicidades por tener lo que más has deseado. ¡Las quiero mucho, brujitas!

A MIS SOBRINOS, por ser simplemente los niños que más quiero. Diego, quisiera nunca haberme separado de ti, pero desde donde estoy siempre deseo tu plena felicidad, y se que es así. Hayde, gracias por llegar a nuestras vidas, ¡ya quiero conocerte!

A MI TIBURÓN, por enseñarme el verdadero valor de la vida, por ayudarme a ver que valgo más de lo que creo. Pero sobre todo por compartir conmigo aventuras, tristezas, alegrías y preocupaciones a lo largo de estos dos años. ¡Te amo!

AGRADECIMIENTOS

- Al **Dr. Axayácatl Rocha**, sin conocerme me dio la oportunidad de colaborar con él y a pesar de no tener financiamiento para el proyecto acepto con mucho entusiasmo asesorar la propuesta de tesis. Gracias por todos los consejos y sugerencias para realizar investigación de calidad. Pero sobre todo, gracias por la amistad que me brindaste, finalmente lo logramos.
- A **CICESE** por brindarme la oportunidad de realizar parte de mi formación académica.
- A **CONACYT** por otorgarme una beca que me permitió iniciar y concluir un posgrado.
- A todos los miembros del comité por las sugerencias para mejorar esta tesis.
- Al grandioso equipo de coralinólogos del Pacífico por su infinito apoyo en las colectas y por compartir mucha información del tema. Tienen a un integrante mas!
- A **Luis Calderón** por transmitirme el interés y gusto por conocer los hermosos ecosistemas arrecifales, por el apoyo para poder terminar el proyecto, sin ti no hubiera sido posible.
- Al equipo de La Paz (**UABCS**), comandado por **Héctor Reyes** (gracias por tu interés en participar), **David Paz**, **Andrés González** y **Sheila** (por recibirme en su casa y brindarme su amistad).
- A **Pedro Medina (UdeG)**, por ayudarme con la mayoría de las colectas y su enorme interés para concluir el proyecto. Estuvieron súper chidas las buceadas!!
- A **Andrés López (UMar)**, a pesar de que no conocías nada de mi, más que mi correo electrónico, accediste a ayudarme con las muestras de Oaxaca.
- Al Molecular Genetics Laboratory del **SWFSC-NOAA**, en especial **John Hyde** por la ayuda en el proceso de secuenciación.
- A la **Dra. Raquel Muñoz (UABC)** por su valiosa ayuda en el aprendizaje de todos los programas computacionales para análisis de datos moleculares, me ahorraste semanas de pruebas para poder utilizarlos. ¡¡¡Mil gracias Raquel!!!
- Al **laboratorio de Ecología Molecular** del CICESE por los largos días compartidos en las mesas de extracción y PCR, platicas, risas, silencios, pero sobre todo por el gran equipo de apoyo que hemos formado.
- A la **Dra. Sharon Herzka** por su grandiosa labor en la formación académica de recursos humanos, en toda la extensión de la oración.

- A mis amigos de generación, su amistad fue clave en mi feliz estancia por Ensenada. **Mariana** por tu extrovertida forma de demostrar tu cariño; **Julio** por ser la persona mas dulce que he conocido (básicamente!!); **Gemma** por convertirte en mi nueva comadre, gracias por confiar en mi; **Tiago** por tu disposición para ayudar en cualquier momento; **Ismael** por esas charlas académicas y personales que disfrute mucho; **Melba, Lucero y Carina**, aunque hemos compartido poco tiempo las tengo en mucho aprecio; y por supuesto a **Erick** por ser mi mejor amigo.
- A la **Sra. Joaquina** por apoyarme en mi llegada a Ensenada, fue como mi segunda mamá.
- A **mi familia** por el apoyo inmenso, especialmente a **mis abuelos** que nunca han dejado de pensar en mi, soy afortunada de tener a los cuatro, los quiero mucho.
- A todos mis amigos que se encuentran en algún punto del país y resto del mundo, se que donde estén han deseado lo mejor para mi, gracias.
- Finalmente, al majestuoso e inmenso océano, por guardar tantos misterios que nos impulsan a investigar y disfrutar.

INDICE

	Página
I.	Introducción 1
I.1.	Arrecifes coralinos..... 1
I.2.	Conectividad demográfica entre poblaciones coralinas..... 2
I.3.	Amenazas a las que están sujetos los corales hermatípicos.... 4
I.4.	Ecología molecular de corales hermatípicos 6
II.	Antecedentes..... 8
II.1.	Genética poblacional en corales hermatípicos..... 8
II.2.	<i>Pavona gigantea</i> 13
III.	Justificación 16
IV.	Hipótesis 18
V.	Objetivos 18
V.1.	General 18
V.2.	Particulares..... 18
VI.	Metodología..... 19
VI.1.	Área de estudio 19
VI.2.	Trabajo en campo..... 19
VI.3.	Trabajo de laboratorio 21
VI.3.1.	Extracción de ADN 21
VI.3.2.	Amplificación de loci mitocondriales y nuclear..... 21
VI.3.3.	Purificación de ADN y secuenciación 23
VI.4.	Análisis de datos 24
VI.4.1.	Edición y alineamiento de secuencias..... 24
VI.4.2.	Diversidad genética 24
VI.5.	Estructura genética..... 25
VI.5.1.	Flujo genético..... 26
VI.5.2.	Aislamiento por distancia 27
VI.5.3.	Relaciones filogenéticas entre haplotipos 27
VII.	Resultados 29
VII.1.	Muestreo..... 29
VII.2.	Extracción y amplificación de ADN 30
VII.3.	Edición y alineamiento de secuencias..... 31
VII.4.	Identificación y distribución de haplotipos..... 31
VII.5.	Diversidad genética 36
VII.6.	Estructura genética..... 37
VII.7.	Flujo genético..... 39
VII.8.	Aislamiento por distancia 42
VII.9.	Relaciones filogenéticas entre haplotipos 42
VIII.	Discusión..... 46
VIII.1.	Diversidad genética 46
VIII.2.	Estructura y flujo genético 49
VIII.3.	Factores que determinan la conexión demográfica de poblaciones coralinas 52

INDICE (Continuación)

VIII.3.1.	Reproducción.....	52
VIII.3.2.	Transporte larvario.....	53
IX.	Conclusiones	56
X.	Literatura citada	57
XI.	APENDICE	62

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Modelos de diferenciación genética basados en la combinación de flujo genético y tamaño efectivo poblacional (N_e). Tomado de Hellberg *et al.*, 2002. 7
- Figura 2. Mapa de Taiwán muestra las localidades muestreadas por Yu *et al.*, 1999. El flujo genético entre las islas Penghu y norte de Taiwán fue mayor que el norte y sur de Taiwán..... 10
- Figura 3. Mapa de Isla Mauricio mostrando las localidades muestreadas (TAB: Trou aux Biches y BV: Bambous Virieux) de *P. cactus* y *P. decussata*. Las graficas circulares muestran los distintos haplotipos encontrados para cada especie y su frecuencia relativa. Los recuadros inferiores muestran el total y nombre de los haplotipos para cada especie (Moothien Pillay *et al.*, 2006). 13
- Figura 4. *Pavona gigantea* coral hermatípico de forma masiva. A y B colonias de la localidad Carrizales en Colima, C y D colonias de Islas Marietas en Nayarit (fotos: Pedro Medina).. 14
- Figura 5. Mapa de México indicando las localidades de muestreo de *Pavona gigantea* (círculos negros) en (1) La Paz (Baja California Sur), (2) Isla María Madre (Nayarit), (3) Islas Marietas (Nayarit), (4) Carrizales (Colima), (5) Bahías de Huatulco (Oaxaca) e (6) Isla San Benedicto (Islas Revillagigedo). Las líneas indican los patrones generales de circulación para la costa del Pacífico Mexicano. CC: Corriente de California, CEM: Corriente del Este de México, CCR: Corriente de Costa Rica y CT: Corriente o giro de Tehuantepec (Tomado Kessler 2006). 20
- Figura 6. Diagramas circulares de la frecuencia de haplotipos ITS1-5.8S-ITS2 para cada localidad. Cada haplotipo se encuentra representado por una fracción del diagrama, en color blanco son haplotipos privados y en colores compartidos. 34

LISTA DE FIGURAS (Continuación)

- Figura 7. Flujo genético (Nm) entre pares de localidades estimados a partir de Φ_{st} (debajo de la diagonal), resultados cualitativos obtenidos de las simulaciones MCMC con el programa Migrate (encima de la diagonal) y tamaños poblacionales efectivos promedios (en la diagonal). Vectores representan la magnitud relativa y dirección del flujo genético (de i a j (\rightarrow) y de j a i (\leftarrow)). C = resultado consistente entre las 10 simulaciones y NC = resultado no consistente entre las 10 simulaciones..... 40
- Figura 8. Mapas del área de estudio representando la magnitud relativa y dirección del flujo genético entre localidades (por medio de vectores) obtenido a partir de 10 simulaciones con el programa Migrate. Localidades incluidas en el análisis: (1) La Paz, (2) Islas Marietas (4) Carrizales y (5) Bahías de Huatulco. Mapa A) Niveles bajos de flujo genético y mapa B) el mayor nivel de flujo genético para *P. gigantea*.. 41
- Figura 9. Correlación entre la distancia genética (Φ_{st}) y la distancia geográfica (Diekmann *et al.*) entre pares de localidades. r es el coeficiente de correlación y ns $p > .05$ 42
- Figura 10. Árbol filogenético Neighbor Joining de los haplotipos del locus COX1 en *Pavona gigantea* del Pacífico mexicano enraizado con *Pavona clavus* como grupo externo..... 43
- Figura 11. Árbol filogenético Neighbor-Joining de haplotipos del locus ADNr (ITS1-5.8S-ITS2) de *Pavona gigantea* para el Pacífico mexicano, enraizado con *P. cactus* como grupo externo. Las barras de color en cada haplotipo representan las localidades de ocurrencia. Las gráficas circulares representan el porcentaje de haplotipos de cada clado (A, B, C, D, GB) en cada localidad. GB, grupo basal..... 44

LISTA DE TABLAS

Tabla I.	Tamaño de muestra (n = número de colonias) y detalles de las localidades visitadas.	29
Tabla II.	Número de individuos genotipificados para cada locus por localidad.	30
Tabla III.	Loci amplificados para cada colonia de <i>Pavona gigantea</i> con número de sitios variables, conservados e informativos para parsimonia a lo largo de la secuencia de cada gen.	31
Tabla IV.	Frecuencias relativas (%) de los haplotipos COX1 por localidad.	32
Tabla V.	Frecuencias relativas (%) de los haplotipos intrón NAD por localidad.	33
Tabla VI.	Frecuencias relativas (%) de los haplotipos del ADNr por localidad.	35
Tabla VII.	Número de haplotipos (A), índice de diversidad haplotípica (h) y nucleotídica en % (π) para los loci COX1, intrón NAD y ADNr de <i>Pavona gigantea</i> en el Pacífico mexicano.	37
Tabla VIII.	Resultados del AMOVA mostrando los porcentajes de variación de los componentes de variancia, así como el índice de fijación (Φ_{st}) y su nivel de significancia.	38
Tabla IX.	Valores de Φ_{st} pareados para el gen ITS (bajo la diagonal) y sus niveles de significancia (sobre la diagonal).	38
Tabla X.	Diversidades haplotípicas de genes nucleares (ADNn) y mitocondriales (ADNmt) de algunas especies de corales hermatípicos (n =número de colonias, n_h =número de haplotipos, h =diversidad haplotípica y π =diversidad nucleotídica).	48

I. Introducción

I.1. Arrecifes coralinos

Los corales hermatípicos son cnidarios formadores de arrecifes que poseen algas endosimbióticas. Esta asociación es indispensable para la calcificación de sus esqueletos que son la base para la formación de arrecifes (Iglesias-Prieto *et al.*, 2004). Los ecosistemas arrecifales son el soporte de una gran diversidad de especies, las cuales interactúan de una manera armónica haciéndolos altamente productivos.

Los corales hermatípicos se distribuyen en la mayor parte de los océanos, principalmente en las costas intertropicales del Atlántico, Indo Pacífico y Pacífico Oriental (Knowlton, 2001; Veron, 2000). Su distribución se encuentra principalmente limitada por la luz y la temperatura. Los límites de distribución latitudinal son los 30° Norte y Sur y su intervalo de temperatura es reducido, existen corales que crecen en aguas con temperaturas estivales de 36°C (Golfo de Arabia) hasta 24°C (Isla Lord Howe). Por lo tanto, cambios considerables en alguno de estos factores vuelven vulnerables a algunas especies coralinas (Coles y Fadlallah, 1991; Hughes *et al.*, 2003).

Los arrecifes coralinos y rocosos son ecosistemas con alta diversidad biológica, que albergan una gran cantidad de especies, algunas de ellas utilizadas como recursos pesqueros. Esto ha generado la necesidad de implementar estrategias de manejo y conservación de dichos ecosistemas. Dichas estrategias deben estar basadas en el conocimiento de su dinámica

como son, por ejemplo, los patrones de conectividad demográfica, con la finalidad de preservar sus funciones y evitar el colapso de sus poblaciones.

I.2. Conectividad demográfica entre poblaciones coralinas

Los corales hermatípicos presentan una amplia gama de modos reproductivos, los cuales influyen en la presencia o ausencia de estructura poblacional y en la conexión entre poblaciones. La reproducción sexual se lleva a cabo a través de la producción de gametos (óvulos y espermatozoides) que se fertilizan de diferentes modos. Existen especies gonocóricas (sexos separados), algunas de las cuales tienen fertilización externa, mientras que otras retienen los óvulos que son fertilizados internamente por el esperma liberado al agua por los machos. Existen especies hermafroditas (ambos sexos en un individuo) que pueden tanto retener sus gametos y autofertilizarse como expulsarlos llevándose a cabo la fertilización en el mar (Carlson, 1999). Varios días después de la fecundación se forma una larva conocida como plánula, ésta se dispersa con las corrientes para luego fijarse en el suelo marino y formar una colonia. Algunas especies presentan reproducción asexual de larvas, de igual manera éstas pueden dispersarse en el agua y colonizar otras áreas. La fragmentación de corales se presenta en algunas especies coralinas, un mecanismo de reproducción asexual que da lugar a nuevas colonias (Fautin, 2002).

La dispersión de corales por medio de larvas planctónicas es el principal mecanismo responsable de establecer nuevas colonias y de conectar poblaciones (Palumbi, 1997). Sin embargo, este fenómeno no es al azar y está influenciado por varios aspectos como son las características locales del océano, la sincronización con la expulsión de gametos o larvas y la capacidad de fases larvarias para alcanzar sitios de asentamiento (Gay y Andrews, 1994; Yu *et al.*, 1999). Si las condiciones del ambiente son favorables para la dispersión de fases planctónicas, las colonias de una región se mezclarán genéticamente y formarán una sola población. En contraparte, si las condiciones ambientales causan estrés o muerte de organismos, impidiendo la dispersión, formarán barreras que generarán las condiciones apropiadas para el aislamiento reproductivo entre poblaciones y por lo tanto diferenciación genética (Dai *et al.*, 2000; Palumbi, 1997).

Por lo tanto, el tipo de reproducción, la capacidad de larvas y gametos de sobrevivir antes de reclutarse, y las características ambientales, son determinantes para la conexión entre poblaciones. La reproducción sexual permite la dispersión a gran distancia y alto flujo genético, mientras que la reproducción asexual da lugar al reclutamiento local (Adjeroud y Tsuchiya, 1999). Sin embargo, el tipo de reproducción en las especies coralinas es de carácter plástico y pueden cambiarlo en respuesta a cambios temporales en su ambiente. Algunos estudios han observado que las especies

coralinas distribuidas en los márgenes latitudinales presentan fragmentación como forma de reproducción, esto puede deberse a la presencia constante de huracanes. Algunas especies coralinas se han adaptado a ambientes heterogéneos en espacio y tiempo, mostrando una combinación de formas de reproducción (p.e., *Pocillopora damicornis* en el archipiélago Ryukyu y *Acropora palifera* en la Gran Barrera Arrecifal Australiana) para dispersarse y mantenerse en el tiempo (Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Ayre y Miller, 2006).

I.3.Amenazas a las que están sujetos los corales hermatípicos

Los arrecifes coralinos son alterados frecuentemente por disturbios naturales, como huracanes y ciclones. Los efectos son la destrucción masiva de un gran número de especies abundantes y cambios en el ambiente local, lo que influye en el reclutamiento post-disturbio. Las actividades antropogénicas también tienen efectos en los ecosistemas arrecifales. La deforestación de selvas y bosques ha llevado a la erosión de suelos cuyos sedimentos son llevados al mar por ríos que desembocan cerca de zonas arrecifales. La sedimentación en arrecifes provoca la disminución de especies coralinas, debido a la disminución en la intensidad de luz (Hughes y Connell, 1999).

Los corales hermatípicos se encuentran con frecuencia expuestos a temperaturas elevadas, muchas especies se han aclimatado y los genotipos

resistentes han sido seleccionados en ciertas zonas. Algunos experimentos han demostrado que en zonas del océano con temperaturas más templadas se desarrollan corales menos tolerantes a un estrés térmico (Brown *et al.*, 2002; D’Croz y Maté, 2004).

El cambio climático global, que actualmente experimenta el planeta, está provocado un aumento en la temperatura superficial del océano en zonas ecuatoriales donde habitan dichas poblaciones. En estas zonas, la temperatura es el factor de mayor importancia para la distribución y abundancia de especies coralinas (Glynn, 1991; Lesser, 2004). El aumento de temperatura ha provocado el fenómeno conocido como blanqueamiento, dicho fenómeno es la pérdida de zooxantelas en los pólipos de coral como una respuesta al estrés ambiental, y en algunos casos pérdida de poblaciones.

El blanqueamiento de corales se ha registrado a gran escala desde 1979 en varios ecosistemas arrecifales del mundo, lo que ha llevado a distintas organizaciones a establecer estrategias de conservación y manejo de poblaciones coralinas (Glynn, 1991). En México, uno de los registros más alarmantes de blanqueamiento de corales fue en 1997-1998. El fenómeno de El Niño Oscilación del Sur (ENSO, por sus siglas en inglés) 97-98 en la costa del Pacífico mexicano, causó blanqueamientos sincronizados en distintas localidades de especies coralinas (Reyes-Bonilla *et al.*, 2002).

I.4. Ecología molecular de corales hermatípicos

Para conocer procesos y patrones ecológicos de algunas especies se han utilizado un gran número de herramientas. Actualmente, la genética poblacional permite conocer aspectos relevantes de la dinámica poblacional en un gran número de especies. Por medio del muestreo dirigido de genes se pueden evaluar aspectos tales como la estructura poblacional, el flujo genético, la filogeografía y la filopatría, entre otros. Las variaciones genéticas son potencialmente afectadas por múltiples factores tales como la selección natural, la endogamia, la deriva génica, el flujo genético y la mutación. Las diferencias genéticas entre poblaciones pueden ser cuantificadas para inferir procesos ecológicos relacionados con la conectividad entre ellas (Hedrick, 2000).

Los modelos de variación geográfica y genética pueden ser utilizados para saber si las poblaciones son cerradas o abiertas. Dichos modelos se basan en el flujo genético y el tamaño efectivo poblacional (N_e) (Figura 1). Las poblaciones pueden ser cerradas (genéticamente diferenciadas) cuando el flujo genético es pequeño (reclutamiento es local) o abiertas (genéticamente homogéneas) cuando el flujo genético es grande (reclutamiento de otras poblaciones). Entre estos dos modelos extremos de dispersión, las poblaciones pueden mostrar similitudes genéticas graduales, modelo de Aislamiento por distancia (Hellberg *et al.*, 2002).

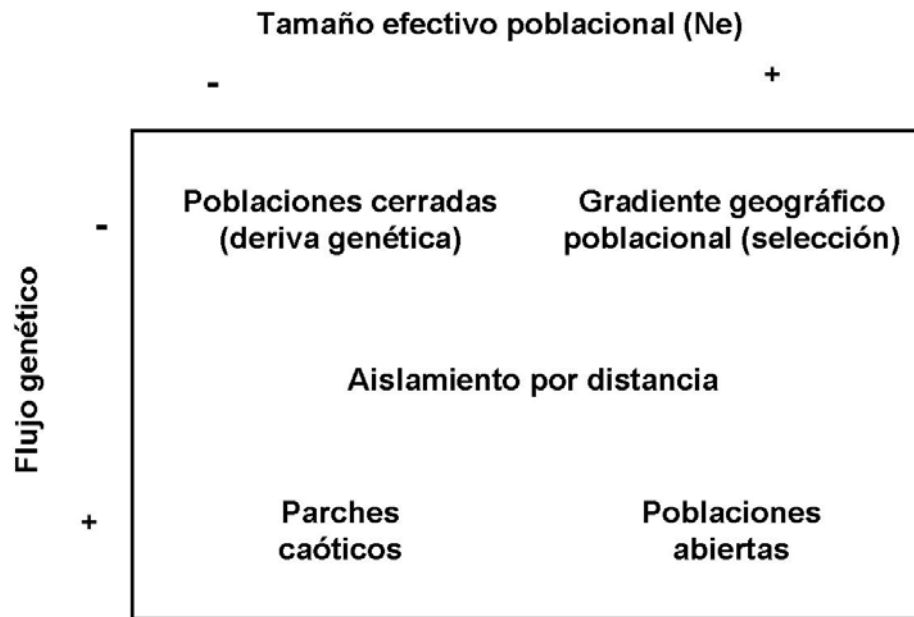


Figura 1. Modelos de diferenciación genética basados en la combinación de flujo genético y tamaño efectivo poblacional (N_e). Tomado de Hellberg *et al.*, 2002.

Los niveles de diversidad genética podrían indicar si las poblaciones cuentan con suficiente diversidad para enfrentar amenazas como el cambio climático. El flujo larvario entre poblaciones provee de intercambio genético que ayuda a mantener la diversidad genética en dichas poblaciones. Poblaciones aisladas con baja diversidad podrían ser más vulnerables a cambios ambientales (Ayre y Hughes, 2004).

Existe un número limitado de marcadores de ADN que se han utilizado en poblaciones de corales hermatípicos, esto limita el conocimiento acerca de la dinámica poblacional de dichas especies. Una solución es utilizar marcadores universales de grupos filéticos. El gen

mitocondrial Citocromo c Oxidasa subunidad 1 (COX1) y la región ITS1-5.8S-ITS2 del ADN ribosomal (ADNr) han sido utilizados como marcadores moleculares para responder preguntas acerca de la variación intraespecífica de corales hermatípicos (Ridgway, 2002). Existen algunas regiones del genoma que no son codificadoras, éstas en muchas ocasiones cuentan con una alta tasa de mutación, ideal para hacer inferencias sobre cambios recientes en las poblaciones. El gen mitocondrial NAD5 está flanqueado por dos regiones no codificadoras que podrían contener la suficiente variación nucleotídica para estudios de filogeografía (Concepcion *et al.*, 2006).

II. Antecedentes

II.1. Genética poblacional en corales hermatípicos

Diversos estudios acerca de la genética poblacional en corales demuestran que en algunas zonas del océano existe estructura poblacional. Esto es consecuencia del efecto de factores ambientales y del tipo de reproducción de los corales, que influye fuertemente en la diferenciación y flujo genético entre poblaciones (Ayre y Willis, 1988; Benzie, 1999; Palumbi, 1997; Ridgway, 2005; Yu *et al.*, 1999). Paradójicamente, en algunos casos el flujo genético inferido a través de la dinámica oceanográfica no coincide con el patrón de diferenciación genética observado (Palumbi, 1995).

Las barreras que limitan la dispersión entre poblaciones de corales pueden ser las corrientes oceánicas que dispersan los propágulos (gametos o plánulas) a otras áreas. Este posible aislamiento puede producir diferencias en las poblaciones de coral en distintas áreas del mundo. Por otro lado, las corrientes que favorecen la dispersión pueden conectar poblaciones convirtiéndose en vehículos de flujo genético. La reproducción sexual es muy importante en los corales ya que es el mecanismo que permite la dispersión de material genético de una población a otra a través de estadios larvarios meroplanctónicos (organismos que pasan parte de su vida en el plancton) (Benzie, 1999; Palumbi, 1997).

Ridgway y colaboradores (2002) analizaron muestras de *Pocillopora verrucosa* al sur de África, encontrando altos niveles de reclutamiento de organismos generados por reproducción sexual, lo que ocasiona una homogeneidad genética entre localidades. Las colonias muestreadas estaban separadas entre sí de 2 a 5 km, no presentaron diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas entre localidades. En este caso, la dispersión de propágulos por medio de corrientes oceánicas mezcla las localidades evitando una estructura poblacional.

En 1999, Yu y colaboradores encontraron diferencias genéticas entre localidades de *Mycedium elephantotus*, coral hermatípico que habita las costas de Taiwán. Dicha estructura está dada por la presencia de corrientes oceánicas con distintas direcciones. De las 3 localidades

muestreadas se observó que la mayor diferenciación fue entre el sur de Taiwán y las islas Penghu. Mientras que el norte de Taiwán y las islas presentan menos diferenciación entre si y, por el contrario, mantienen un alto flujo genético debido a la advección ocasionada por la corriente del Sur de China. Las muestras fueron tomadas en localidades separadas por 100 km, aproximadamente, y en cada localidad se tomaron muestras de dos a tres arrecifes distintos separados por 5 km entre si. Los niveles de diversidad genotípica fueron altos en las tres localidades, siendo una especie con un alto potencial de dispersión debido a su reproducción sexual preponderante.

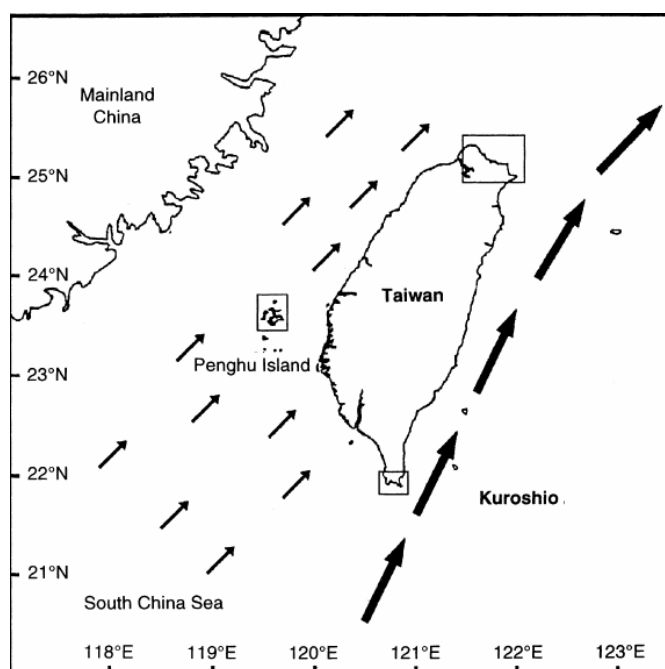


Figura 2. Mapa de Taiwán muestra las localidades muestreadas por Yu *et al.*, 1999. El flujo genético entre las islas Penghu y norte de Taiwán fue mayor que el norte y sur de Taiwán.

En la Gran Barrera Arrecifal Australiana se conoce que existe una alta conectividad entre poblaciones de corales. En la parte oriental de la Gran Barrera, Ayre y Hughes (2004) encontraron que en las localidades más aisladas las colonias de cinco especies de corales hermatípicos se encuentran genéticamente diferenciadas del resto. Las localidades más cercanas entre si cuentan con altas tasas de flujo genético en un área de 1200 km. De las cuatro localidades muestreadas, la más aislada se encontró a 700 km de distancia con baja diversidad genética y flujo genético limitado con las localidades restantes. Entre muchas otras se estudiaron las especies *Acropora cuneata*, *A. valida*, *Pocillopora damicornis*, *Seriatopota hystrix* y *Styllophora pistillata*, similares en sus historias de vida.

Ayre y Willis (1988) mencionan la existencia de estructura poblacional en *Pavona cactus* en seis sitios de la Gran Barrera Arrecifal Australiana. Los sitios se agrupan en dos regiones, centro y norte de la barrera, dichas regiones se encuentran separadas por 500 m de distancia aproximadamente. No se encontró relación entre las diferencias genéticas y la distancia geográfica, lo que podría reflejar tanto la estructura genética de poblaciones como la reproducción asexual debido a la baja diversidad genotípica observada.

En la Isla Mauricio, ubicada al oriente de Madagascar, se encontró que dos especies de *Pavona* (*P. cactus* y *P. decussata*) comparten

haplotipos en dos localidades muestreadas (Figura 3). Estas localidades se encuentran separadas por 57 km de línea de costa. Las poblaciones de ambas especies en esta zona se encuentran genéticamente conectadas. Cuatro de 13 tipos de secuencias estuvieron compartidas entre poblaciones de *P. cactus*, y siete de 25 secuencias estuvieron compartidas entre poblaciones de *P. decussata*. Los autores mencionan que los resultados pueden deberse a la cercanía entre ellas (Moothien Pillay *et al.*, 2006).

Una investigación reciente en *Acropora cervicornis* en arrecifes del Caribe reporta estructura poblacional y un flujo genético restringido. El muestreo abarcó nueve regiones del Caribe, Florida y Bahamas mostrando niveles de estructura genética de moderados a altos en regiones separadas por más de 500 km. Un análisis a menor escala (2 km) demostró que también existe estructura genética, argumentando que se debe a la introgresión de alelos de *A. palmata*, una especie hermana, siendo una fuente más de variación genética de las poblaciones de *A. cervicornis*. Por lo que diferencias regionales en *A. cervicornis* indican que las poblaciones separadas en un promedio de 500 km requieren sus propios planes de manejo y conservación (Vollmer y Palumbi, 2007).

Como se ha observado, la hidrodinámica y las historias de vida de las especies influyen en la presencia o ausencia de estructura en una población. Los patrones de diversidad genética entre localidades permiten

cuantificar el grado de diferenciación en las mismas, así como el grado de conectividad entre las localidades y posibles patrones de flujo genético.

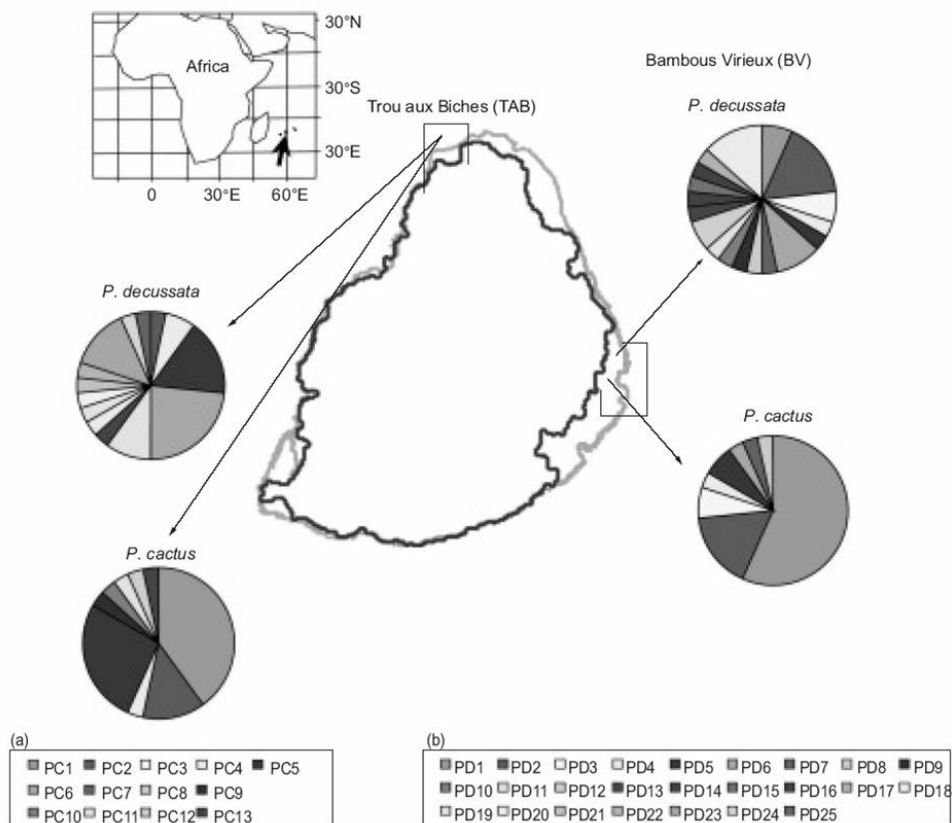


Figura 3. Mapa de Isla Mauricio mostrando las localidades muestreadas (TAB: Trou aux Biches y BV: Bambous Virieux) de *P. cactus* y *P. decussata*. Las graficas circulares muestran los distintos haplotipos encontrados para cada especie y su frecuencia relativa. Los recuadros inferiores muestran el total y nombre de los haplotipos para cada especie (Moothien Pillay *et al.*, 2006).

II.2. *Pavona gigantea*

Pavona gigantea es una especie que habita la provincia biogeográfica norte del Pacífico oriental, zonación propuesta por Glynn y Ault en 2000. Se encuentra restringida para la costa Este del Pacífico en una

profundidad mínima de 4 m y una máxima de 18 m. Es un coral hermatípico y una de las especies más abundantes a lo largo del Pacífico Mexicano. El morfotipo de esta especie es masivo, por encima de la colonia se encuentran los coralites, estructuras en donde se alojan los pólipos con paredes gruesas y bien definidas (Figura 4). Sus tentáculos se extienden durante el día dando a la colonia apariencia de tener vellosidades (Reyes-Bonilla *et al.*, 2005; Veron, 2000).

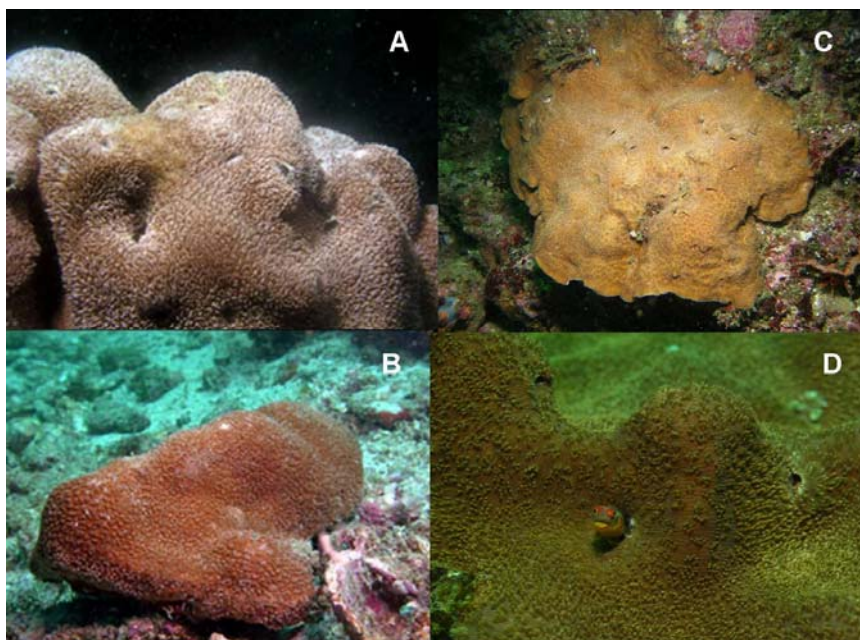


Figura 4. *Pavona gigantea* coral hermatípico de forma masiva. A y B colonias de la localidad Carrizales en Colima, C y D colonias de Islas Marietas en Nayarit (fotos: Pedro Medina).

Se ha reportado que *P. gigantea* es una especie gonocórica (sexos separados) y en algunas localidades pueden observarse colonias

hemafroditas (Glynn *et al.*, 1996; Rodríguez-Troncoso, 2006; Steiner y Cortés, 1996). La edad reproductiva para *P. gigantea* se ha calculado en un promedio de 11 años, con reclutamiento sexual principalmente (Glynn *et al.*, 1996).

De los corales más abundantes en el Pacífico Nororiental, *P. gigantea* es una de las especies menos afectada por cambios en su ambiente. Un ejemplo claro es en zonas del Golfo de California en la costa de Baja California sur en donde se ha observado que habita en zonas con altas corrientes y turbidez, y con menos episodios de blanqueamiento (Calderón-Aguilera y Reyes-Bonilla, 2006; Reyes-Bonilla *et al.*, 2002).

Su clasificación taxonómica es:

Phylum: *Cnidaria*

Clase: *Anthozoa*

Orden: *Scleractinia*

Familia: *Agariciidae*

Genero: *Pavona* (Verrill 1864)

Especie: *gigantea* (Verrill 1869)

Nombre científico: *Pavona gigantea*

En la costa del Pacífico mexicano se encuentra con mayor abundancia en localidades como (Reyes-Bonilla *et al.*, 2005):

- Cabo Pulmo, B. C. S. (23° 26' 32" N y 109° 25' 25" O)
- La Paz, B. C. S. (24° 08' 59" N y 110° 19' 35" O)

- Bahía Concepción (26° 39' 42" N y 111° 47' 35" O)
- Islas Marietas, Nayarit (20° 41' 01" N y 105° 36' 41" O)
- Carrilleros, Nayarit (20° 47' 11" N y 105° 30' 56" O)
- Bahía de Banderas, Jalisco (20° 38' 21" N y 105° 20' 26" O)
- Los Arcos, Jalisco (20° 32' 30" N y 105° 17' 45" N)
- Carrizales, Colima (19° 07' 02.4" N y 104° 29' 01.6" O)
- La Boquita, Colima (19° 06' 53.9" N y 104° 23' 44.7" O)
- Islas Revillagigedo, Colima (18° 43' 22" N y 110° 57' 05" O).
- El Carrizalillo, Michoacán (18° 03' 18.6" N y 102° 42' 01.2" O)
- Isla Roqueta, Guerrero (16° 49' 19.9" N y 99° 54' 51" O)
- Puerto Escondido, Oaxaca (15° 51' 32" N y 97° 3' 55" O)

III. Justificación

Los estudios genéticos pueden revelar las conexiones demográficas actuales e históricas entre poblaciones de corales arrecifales. La historia de vida de las especies, su aislamiento geográfico y los cambios ambientales locales permiten identificar poblaciones evolutivamente distintas (Hellberg, 2007). Actualmente, poco se sabe de la conectividad demográfica en sistemas arrecifales en muchas regiones del mundo, lo que ha limitado conocer la forma en que las poblaciones coralinas responden a cambios en su ambiente. La probabilidad de que estas poblaciones se

mantengan en el tiempo dependerá de su habilidad para responder favorablemente a cambios ambientales (Hughes *et al.*, 2003).

Los arrecifes coralinos son ecosistemas con alta productividad y biodiversidad, comparables con las selvas tropicales terrestres (Knowlton, 2001). Dichos arrecifes albergan un gran número de especies que son la base para la formación y permanencia de estos ecosistemas. Los corales proveen recursos vitales a otros organismos pertenecientes a distintos niveles tróficos. Muchos organismos arrecifales son de importancia pesquera, de tal manera que proveen recursos alimenticios al hombre. Por tal motivo, entender la conectividad en estos sistemas ayudará a establecer estrategias de manejo adecuadas a cada sitio.

Trabajos recientes indican que la abundancia de poblaciones coralinas ha disminuido más del 37% en los últimos 20 años (Lesser, 2004). Esto se debe a que han estado sujetos a fragmentación de hábitat por procesos naturales y antropogénicos. Conocer la diversidad genética en algunas poblaciones de corales puede ser de utilidad para observar cambios genéticos debidos a las presiones ambientales a las que se encuentran sujetas actualmente.

Pavona gigantea es una especie que sólo habita la costa este del océano Pacífico (Veron, 2000), y es uno de los corales más abundantes en las costas del Pacífico Mexicano. Por tal motivo, conocer el grado de diferenciación genética y de flujo genético entre sus localidades ayudará

entender mejor los patrones de conectividad en invertebrados sésiles de esta región geográfica.

IV. Hipótesis

Ho: No existe diferenciación genética en *Pavona gigantea* a lo largo del Pacífico Mexicano, es una población panmíctica.

Ha: *Pavona gigantea* forma diferentes subpoblaciones genéticamente diferenciadas a lo largo del Pacífico Mexicano.

V. Objetivos

V.1. General

Evaluar el grado de diferenciación genética y niveles de flujo genético entre colonias de *Pavona gigantea* a lo largo del Pacífico Mexicano.

V.2. Particulares

- Evaluar la diversidad genética de cada localidad muestreada.
- Evaluar el grado de diferenciación genética mitocondrial y nuclear entre las localidades muestreadas.
- Evaluar la magnitud y dirección del flujo genético.

VI. Metodología

VI.1. Área de estudio

La costa del Pacífico Mexicano comprende desde el estado de Baja California al norte hasta el estado de Chiapas al Sureste. La hidrodinámica de algunas zonas del Pacífico oriental es controvertida, ya que se han descrito distintas corrientes poco conocidas. La zona del océano Pacífico mexicano presenta corrientes principales como: la Corriente de California que proviene de Alaska y termina al final de la península de Baja California; la corriente del este de México es una corriente débil que va de el norte de Oaxaca hasta la boca del Golfo de California; el giro anticiclónico o cuenca de Tehuantepec (19° N y 109° O); la corriente de Costa Rica que proviene del domo de Costa Rica, pasando por el Golfo de Tehuantepec; y la zona donde convergen la corriente de California, la del este de México y el giro de Tehuantepec (Figura 2) (Kessler, 2006).

VI.2. Trabajo en campo

Se realizaron colectas subacuáticas de tejido de coral con un tamaño de muestra promedio de 30 colonias por localidad con ayuda de Buceo SCUBA. Con un cincel se cortó un pequeño fragmento de cada colonia de coral (25 cm^2 aproximadamente) que se introdujo en un bolsa de plástico debidamente etiquetada, teniendo en cuenta que cada colonia estuviera separada de 2 a 3 metros de distancia una de otra. Fuera del agua, los

tejidos se preservaron a temperatura ambiente en frascos individuales con solución salina (DMSO 20%, NaCl saturado y EDTA 250 mM pH 8) para su traslado al laboratorio.

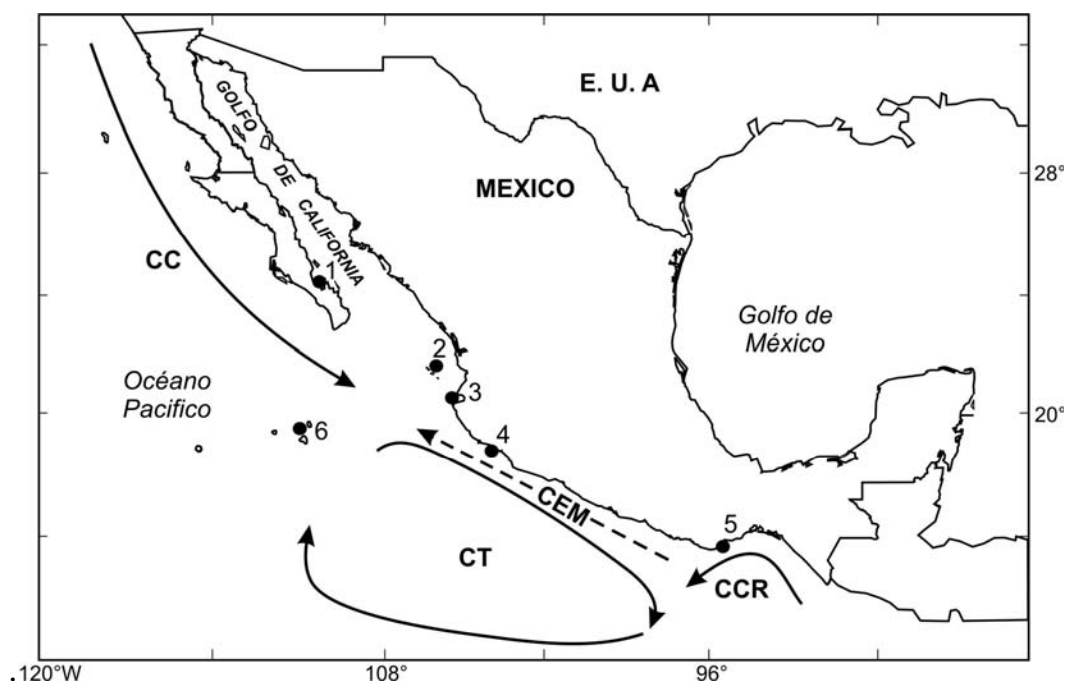


Figura 5. Mapa de México indicando las localidades de muestreo de *Pavona gigantea* (círculos negros) en (1) La Paz (Baja California Sur), (2) Isla María Madre (Nayarit), (3) Islas Marietas (Nayarit), (4) Carrizales (Colima), (5) Bahías de Huatulco (Oaxaca) e (6) Isla San Benedicto (Islas Revillagigedo). Las líneas indican los patrones generales de circulación para la costa del Pacífico Mexicano. CC: Corriente de California, CEM: Corriente del Este de México, CCR: Corriente de Costa Rica y CT: Corriente o giro de Tehuantepec (Tomado Kessler 2006).

VI.3. Trabajo de laboratorio

VI.3.1. Extracción de ADN

La extracción y purificación de ADN se llevó a cabo con los protocolos de extracción de Cloruro de Litio (LiCl) (Aijanabi y Martínez, 1997) o CTAB (Doyle y Doyle, 1987). Se raspó el tejido del carbonato de calcio (coral) y se suspendió en el buffer de extracción para proceder con la purificación de ADN. Posteriormente se verificó la presencia de ADN en geles de agarosa al 1.5%. El ADN extraído se mantuvo en congelación (-20°) para evitar su degradación.

VI.3.2. Amplificación de loci mitocondriales y nuclear

Por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) se amplificaron los siguientes genes: 1) el que codifica la subunidad 1 de la enzima Citocromo c Oxidasa (COX1) del ADN mitocondrial (ADNmt); con los cebadores LCO1490 (5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G- 3') y HCO2198 (5'-TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA- 3') (Folmer *et al.*, 1994). 2) La región no codificadora que se encuentra entre los genes NAD3 y NAD5 del ADNmt fue amplificada con los cebadores degenerados NAD3_118F (5' -TCK GCW TAT GAR TGT GGD TT- 3') y NAD5_215R (5' -ACA RGC MAC MAC CAT ATA YC- 3') (Concepcion *et al.*, 2006). 3) Finalmente, también se amplificó la región que

comprende a los genes ITS1-5.8S-ITS2 del ADNr nuclear con los cebadores ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') e ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3') (White *et al.*, 1990).

Se hicieron reacciones de 25µl que incluyeron 0.18 mM dNTPs, 1X PCR buffer (Tris HCL 10 mM, KCl 50 mM y MgCl₂ 1.5 mM), 0.4 µM de cada primer, 1 U de Taq DNAPol y 2 µl de ADN genómico. Estas reacciones fueron sometidas al siguiente perfil de temperaturas. Para el gen COX1: un periodo inicial de desnaturalización de 2 min a 94 °C, seguido de 40 ciclos de 15 s a 95 °C, 30 s a 40 °C y 60 s a 72 °C; y una extensión final de 5 min a 72°C. Para el intrón del ADNmt fue un periodo inicial de 2 min a 95 °C, seguido de 35 ciclos de 30 s a 95 °C, 45 s a 55 °C y 60 s a 72 °C; y una extensión final de 10 min a 72 °C. Para el ADNr fue un periodo inicial de desnaturalización de 1 min a 94 °C, seguido de 35 ciclos de 1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C y 2 min a 72 °C, y un ciclo de 1 min a 94 °C, 1 min a 55 °C y 10 min a 72 °C. La calidad y cantidad de los productos de PCR fueron verificadas por electroforesis, en un gel de agarosa 1.5%, cargando 3 µl de producto de PCR y 1 µl de buffer de carga (loading dye) corridos a 100 volts por 30-40 min. El gel fue teñido con Bromuro de etidio (0.5 µg/ml) durante 7 min y visto bajo luz UV. Para corroborar el tamaño se incluyó en el gel una escalera de alto y bajo peso molecular.

VI.3.3. Purificación de ADN y secuenciación

Los productos de PCR se limpiaron enzimáticamente para su secuenciación siguiendo el protocolo de exoSAP-IT®. Dicho protocolo contiene dos enzimas hidrolíticas, exonucleasa y fosfatasa alcalina de camarón, la primera rompe los enlaces fosfodiéster del ADN de una sola hebra (cebadores) y la segunda elimina los grupos fosfato de los dNTP's. La proporción de exoSAP-IT: producto PCR fue 1:2.5, y se incubó durante 15 min a 37 °C, y posteriormente durante 15 min a 80° C para desactivar las enzimas.

Una vez limpio el producto de PCR, las dos hebras fueron secuenciadas realizando reacciones de secuenciación de 12µl (4µl de producto purificado, 3µl de cebador 1 µM, 1.5µl de BigDye™ v1.1 y 3.5 µl de agua destilada y esterilizada), las cuales se sometieron al siguiente perfil de termociclado: un periodo de desnaturalización inicial de 1 min a 94 °C; seguido de 25 ciclos de 10s a 94 °C, 10s a 50 °C y 4 min a 60 °C. Los fragmentos secuenciados se limpiaron mediante precipitación etanólica y fueron detectados en un secuenciador automático Gene Analyzer ABI 3100 (Applied Biosystems, California).

VI.4. Análisis de datos

VI.4.1. Edición y alineamiento de secuencias

Se verificó la complementariedad de las secuencias nucleotídicas de cada hebra de ADN con los programas Sequencher v3.0 y Codon Code Aligner v1.6.3. Una vez verificadas, se alinearon las secuencias individuales con el programa Clustal W (Higgins *et al.*, 1994) y se identificaron los sitios variables entre secuencias con el programa MEGA v3.1 (Kumar *et al.*, 2004).

VI.4.2. Diversidad genética

Con ayuda del programa Dna SP v4.0 se obtuvo la lista de haplotipos totales y por localidad (Rozas *et al.*, 2003). Se estimaron, para cada localidad, el índice de diversidad haplotípica (h), que representa la probabilidad de que dos haplotipos elegidos al azar sean diferentes.

$$h = \frac{n}{n-1} \left(1 - \sum_{i=1}^k p_i^2\right) \quad (1)$$

Donde n es el tamaño de muestra, k es el número de haplotipos encontrados y p_i es la frecuencia del i -ésimo haplotipo de la muestra (Nei, 1987).

El índice de diversidad nucleotídica (π), estima la probabilidad de que dos nucleótidos homólogos tomados al azar sean diferentes (Nei, 1987), definido por la formula

$$\pi = \frac{\sum_{i=1}^k \sum_{j<i} p_i p_j \hat{d}_{ij}}{L} \quad (2)$$

donde p es la frecuencia de cada uno de los nucleótidos i y j que son comparados, d es la distancia genética entre nucleótidos y L es el número de nucleótidos (longitud de la secuencia). Para obtener estos datos se empleo el programa Arlequín v3.1 (Excoffier *et al.*, 2006).

VI.5. Estructura genética

Con el objeto de estimar el nivel de estructura genética en el total de las localidades y entre pares de localidades, se probó la hipótesis nula de panmixia (ausencia de estructura genética) en su conjunto y entre pares de muestras con el índice de fijación (F_{st}) (Wright, 1951). Este emplea las frecuencias haplotípicas para cuantificar la pérdida de diversidad debida a la ausencia de apareamiento al azar en la población en su conjunto. Sus valores van de 0 (frecuencias alélicas idénticas entre muestras) a 1 (cada muestra se ha fijado a una variante alélica distinta).

Se realizó un Análisis de Variancia Molecular (AMOVA) entre localidades, para el cual se estimó Φ_{st} , análogo al F_{st} , que además de las

frecuencias alélicas, incorpora también las distancias genéticas inter-haplotípicas como componente de la varianza. Por medio del método no paramétrico de permutaciones se calculó la significancia de estos valores. Los cálculos se realizaron con el programa Arlequín v3.1 (Excoffier *et al.*, 2006).

VI.5.1. Flujo genético

Se calculó el flujo genético (o número de migrantes efectivos por generación, Nm) entre las poblaciones de acuerdo a la formula descrita por Nei (1987).

$$Nm = \left(\frac{1 - F_{ST}}{2F_{ST}} \right) \quad (3)$$

Donde Nm es el número efectivo de migrantes entre poblaciones por generación. Para esto se utilizaron los valores de Φ_{st} en lugar de F_{st} . También se estimaron los valores de Nm y N_e (tamaño poblacional efectivo) utilizando verosimilitud máxima mediante simulaciones Markov Chain Monte Carlo (MCMC) utilizando el programa Migrate v2.1.3 (Beerli, 2004). Este método utiliza la teoría de la coalescencia para estimar tasas de migración asimétrica entre poblaciones, considerando las mutaciones históricas, genealogía y los distintos tamaños de las subpoblaciones. A pesar de que los números absolutos de migrantes estimados entre poblaciones no deben de interpretarse literalmente, son útiles para realizar

comparaciones generales en cuanto a su magnitud relativa y su dirección. Para realizar las simulaciones de Nm en dicho programa se utilizaron las secuencias de ADNr de cada localidad. La localidad Isla San Benedicto no se incluyó debido a su pequeño tamaño de muestra. La estrategia de análisis de MCMC empleó una serie de 10 cadenas cortas (5,000 árboles calculados) y tres cadenas largas (50,000 árboles calculados), los primeros 10,000 árboles fueron ignorados (burn in). Se realizaron 10 simulaciones para evaluar la consistencia de los resultados.

VI.5.2. Aislamiento por distancia

Para determinar si la distancia geográfica juega un papel determinante en el aislamiento reproductivo entre poblaciones, como en el modelo de aislamiento por distancia, se calcularon valores pareados del índice de fijación (F_{st}) entre localidades y se correlacionaron con las distancias geográficas entre las localidades con ayuda del programa Isolation by Distance IBD 1.52 (Bohonak, 2002).

VI.5.3. Relaciones filogenéticas entre haplotipos

Se construyeron árboles filogenéticos Neighbor joining para determinar las relaciones filogenéticas entre haplotipos del locus COX1 y del ADNr, con ayuda del programa MEGA v3.1. Se implementaron 1000 replicas de bootstrapping no paramétrico para la topología (Kumar *et al.*, 2004). El modelo evolutivo para cada locus se calculó utilizando el grupo

de secuencias y mediante el programa Modeltest versión 3.7 (Posada y Crandall, 1998). Este programa ajusta mediante verosimilitud máxima el mejor de un total de 56 modelos de evolución molecular. Se calculó la matriz de distancias con ayuda del programa PAUP 4b10 (Swofford, 1998) utilizada para la reconstrucción filogenética. Finalmente, se utilizaron secuencias de especies congénicas en la reconstrucción filogenético para enraizar el árbol.

VII. Resultados

VII.1. Muestreo

Se obtuvieron un total de 156 colonias de seis localidades (Tabla I). En las localidades de Isla San Benedicto e Islas Mariás el número de muestras fue menor o igual a 10 colonias, esto se debió principalmente al limitado esfuerzo de colecta y a que son localidades con baja densidad de organismos, de acuerdo a registros históricos (Reyes-Bonilla *et al.*, 2005).

Tabla I. Tamaño de muestra (n = número de colonias) y detalles de las localidades visitadas.

Localidad	Coordenadas	n	Fecha de colecta	Observaciones
La Paz, B.C.S.	24°08'59"N 110°19'35"O	32	Agosto 2006	La colecta en esta localidad se realizó en tres sitios (Isla Gaviota, Punta Gaviota y Punta Diablo) separados por 1 km aproximadamente
Isla María Madre, Nayarit	21°40'25"N 106°26'05"O	10	Julio 2007	Las colectas se realizaron al sur de esta Isla
Islas Marietas, Nayarit	20°41'01"N 105°36'41"O	34	Septiembre 2006	Las colonias colectadas fueron de 2 sitios separados por 1 km aproximadamente
Carrizales, Col.	19°07'02.4"N 104°29'01.6"O	40	Junio 2005	Las colonias provienen de dos localidades, Carrizales y La Herrada.
Isla San Benedicto, Revillagigedo	18°43'22"N 110°57'05"O	5	Abril 2007	La colecta se realizó al sur de la Isla. Esta localidad tiene pocos registros históricos (Reyes-Bonilla <i>et al.</i> , 2005).
Bahías de Huatulco, Oaxaca	15°41'54"N 96°13'28"O	35	Junio 2007	Las colonias colectadas fueron obtenidas de 4 sitios (Isla Montosa, San Agustín, Jicaral-Chachacual y La Entrega) separados de 3 a 6 km aprox.

VII.2. Extracción y amplificación de ADN

Se logró realizar la extracción de ADN de 116 de las 156 (75%) colonias de *Pavona gigantea*. La falta de éxito en el 25% restante pudo deberse a que el material colectado no se encontraba en condiciones de preservación óptimas para la extracción de ADN o a que no se contó con suficiente tejido para resolver los problemas encontrados en la extracción. El número de colonias genotipificadas para cada locus fue variable (Tabla II).

Tabla II. Número de individuos genotipificados para cada locus por localidad.

Localidades	Loci		
	COX1	Intrón NAD	ADNr
La Paz	4	15	25
Isla María Madre	5	-	-
Islas Marietas	21	26	19
Isla San Benedicto	2	5	4
Carrizales	26	25	29
Bahías de Huatulco	15	19	20
Total	73	90	97

El locus COX1 fue el que se genotipificó en el menor número de colonias, mientras que el locus más exitoso fue el ADNr (ITS1-5.8S-ITS2). La localidad Isla María Madre no se logró amplificar para el intrón NAD y el ADNr.

VII.3. Edición y alineamiento de secuencias

Las secuencias complementarias individuales fueron verificadas base por base. Una vez limpias, las secuencias consenso individuales de cada colonia fueron alineadas entre sí. Después de eliminar las bases de los extremos incompletos se obtuvieron alineamientos múltiples con las siguientes longitudes para cada locus: 577 (COX1), 113 (intrón NAD3-5) y 565 bases (ADNr) (Tabla III).

Tabla III. Loci amplificados para cada colonia de *Pavona gigantea* con número de sitios variables, conservados e informativos para parsimonia a lo largo de la secuencia de cada gen.

Loci	Longitud de la secuencia	Sitios conservados	Sitios variables	Sitios informativos
COX1	577	572	5	0
Intrón NAD	113	111	2	1
ADNr	565	530	27	18

De los tres loci analizados se observó que el intrón NAD fue el menos variable con sólo dos sitios polimórficos, mientras que el gen más variable fue el ADNr con 29.

VII.4. Identificación y distribución de haplotipos

Los loci mitocondriales fueron muy poco variables comparados con el nuclear. Se obtuvieron un total de 5 haplotipos para el gen COX1, 3 para el intrón NAD y 51 para el ADNr.

Para el locus COX1 se observó un haplotipo (COI-1) predominante y dos localidades estuvieron fijadas para dicho haplotipo (Tabla IV). En la Isla San Benedicto se obtuvieron dos haplotipos, de los cuales uno fue nativo (COI-2). En Carrizales se encontraron dos haplotipos, uno de los cuales fue nativo y con baja frecuencia. Isla María Madre contó con un haplotipo nativo (COI-3).

Tabla IV. Frecuencias relativas (%) de los haplotipos COX1 por localidad.

Haplotipo	La Paz (n=4)	Isla Maria Madre (n=5)	Islas Marietas (n=21)	Isla San Benedicto (n=2)	Carrizales (n=26)	Bahías de Huatulco (n=15)
COI-1	75	80	100	50	96	100
COI-2	0	0	0	50	0	0
COI-3	0	20	0	0	0	0
COI-4	25	0	0	0	0	0
COI-5	0	0	0	0	4	0

De los tres haplotipos encontrados para el intrón NAD, uno fue el que mostró la mayor frecuencia y tres localidades estuvieron fijadas para dicho haplotipo (NAD-1). Las localidades polimórficas fueron Islas Marietas (NAD-1, 2 y 3) y Bahías de Huatulco (NAD-1 y 2) (Tabla V).

Tabla V. Frecuencias relativas (%) de los haplotipos intrón NAD por localidad.

Haplotipos	La Paz (n=15)	Islas Marietas (n=26)	Isla San Benedicto (n=4)	Carrizales (n=25)	Bahías de Huatulco (n=19)
NAD-1	100	92	100	100	95
NAD-2	0	4	0	0	5
NAD-3	0	4	0	0	0

Por otro lado, para el locus ADNr se encontró un total de 51 haplotipos en todas las localidades, más del 80% fueron haplotipos nativos (Tabla VI). Carrizales fue la localidad con el mayor número de haplotipos, tres de los cuales fueron abundantes (ITS-14 10%, ITS-25 14% e ITS-40 17%). Islas Marietas contó con 17 haplotipos, los cuales presentaron frecuencias relativas casi uniformes del 5 a 11%. Para el caso de Bahías de Huatulco, los haplotipos totales fueron 14 de los cuales ITS-11 e ITS-14 obtuvieron un porcentaje mayor (15% cada uno). La Paz contó con 14 haplotipos totales, el haplotipo ITS-18 fue el de mayor frecuencia con 36%. En el caso particular de la Isla San Benedicto, cada uno de los cuatro organismos presentó un haplotipo distinto y exclusivo para la localidad. Se observó que algunos haplotipos ocurrieron en más de una localidad (Tabla VI)

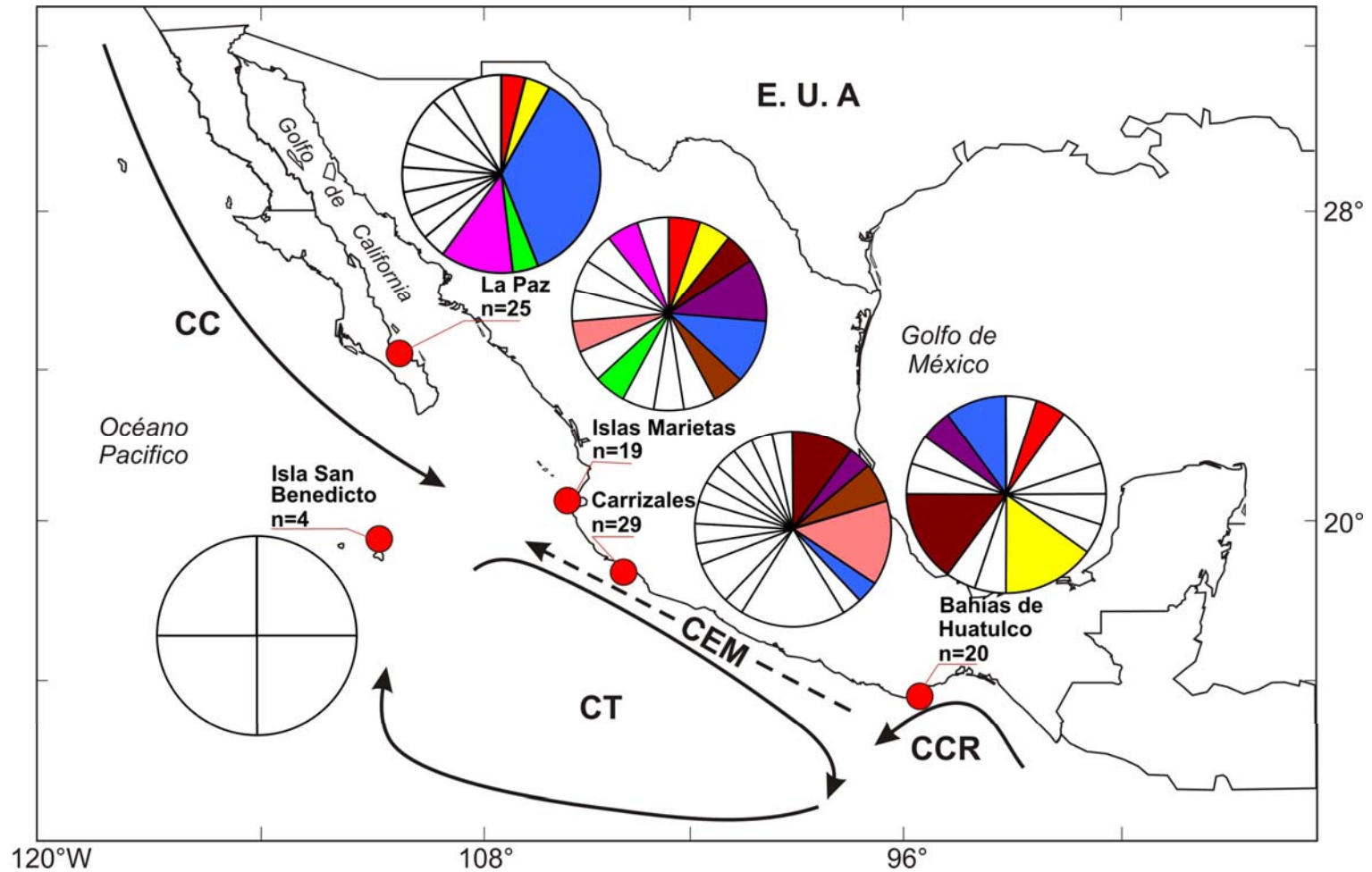


Figura 6. Diagramas circulares de la frecuencia de haplotipos ITS1-5.8S-ITS2 para cada localidad. Cada haplotipo se encuentra representado por una fracción del diagrama, en color blanco son haplotipos privados y en colores compartidos.

Tabla VI. Frecuencias relativas (%) de los haplotipos del ADNr por localidad.

Haplotipos	La Paz (n=15)	Islas Marietas (n=26)	Isla San Benedicto (n=4)	Carrizales (n=25)	Bahías de Huatulco (n=19)
ITS-1			25		
ITS-2			25		
ITS-3			25		
ITS-4			25		
ITS-5					5
ITS-6	4	5.2			5
ITS-7					10
ITS-8					5
ITS-9					5
ITS-10					5
ITS-11	4	5.2			15
ITS-12					5
ITS-13					5
ITS-14		5.2		10.3	15
ITS-15					5
ITS-16					5
ITS-17		10.5		3.5	5
ITS-18	36	10.5			10
ITS-19		5.2		7	
ITS-20		5.3			
ITS-21		5.3			
ITS-22		5.3			
ITS-23	4	5.3			
ITS-24		5.3			
ITS-25		5.3		14	
ITS-26		5.3			
ITS-27		5.3			
ITS-28		5.3			
ITS-29	12	5.3			
ITS-30		5.3			
ITS-31	4				
ITS-32	4				
ITS-33	4				
ITS-34	4				
ITS-35	4				
ITS-36	8			3.5	
ITS-37	4				
ITS-38	8				
ITS-39				3.5	
ITS-40				17.2	
ITS-41				3.4	
ITS-42				7	
ITS-43				3.4	
ITS-44				3.4	
ITS-45				3.4	
ITS-46				3.4	
ITS-47				3.4	
ITS-48				3.4	
ITS-49				3.4	
ITS-50				3.4	
ITS-51				3.4	
% haplotipos nativos	28	42	100	45	45

VII.5. Diversidad genética

Los valores de diversidad haplotípica (h) fueron bajos a nulos para los loci mitocondriales, mientras que para el locus nuclear los valores fueron altos (Tabla VII). Para el caso de COX1 el valor más alto de diversidad haplotípica fue en Isla San Benedicto ($h=1$) puesto que se encontraron dos haplotipos distintos en las dos muestras secuenciadas de esa localidad. El intrón NAD mostró los valores más bajos de diversidad haplotípica para Islas Marietas y Huatulco ($h= 0.15$ y 0.11), el resto de las localidades fueron monomórficas.

El locus ADNr en general mostró altos valores de diversidad haplotípica, en el caso particular de San Benedicto es necesario aclarar que el valor de de diversidad tan alto se debe al bajo número de colonias genotipificadas, las cuales resultaron poseer distintos haplotipos. En el resto de las localidades, en donde se contó con un tamaño de muestra mayor, también se obtuvieron diversidades muy altas siendo las Islas Marietas ($h= 0.99$) la de mayor diversidad y La Paz ($h= 0.86$) la de menor.

Tabla VII. Número de haplotipos (*A*), índice de diversidad haplotípica (*h*) y nucleotídica en % (π) para los loci COX1, intrón NAD y ADNr de *Pavona gigantea* en el Pacífico mexicano.

Localidad	COX1			Intrón NAD			ADNr		
	<i>A</i>	<i>h</i>	π	<i>A</i>	<i>h</i>	π	<i>A</i>	<i>h</i>	π
La Paz	2	0.50 ± 0.27	0.09 ± 0.10	1	0	0	13	0.86 ± 0.06	0.90 ± 0.50
I. María Madre	2	0.40 ± 0.24	0.07 ± 0.08	-	-	-	-	-	-
Islas Marietas	1	0	0	3	0.15 ± 0.09	0.10 ± 0.20	17	0.99 ± 0.02	1.30 ± 0.70
San Benedicto	2	1.00 ± 0.50	0.20 ± 0.20	1	0	0	4	1.00 ± 0.18	1.60 ± 1.10
Carrizales	2	0.08 ± 0.07	0.03 ± 0.04	1	0	0	18	0.95 ± 0.02	0.50 ± 0.30
Huatulco	1	0	0	2	0.11 ± 0.09	0.09 ± 0.20	14	0.96 ± 0.03	1.30 ± 0.70
Total y promedios	5	0.33	0.06	3	0.05	0.04	51	0.95	0.90

En cuanto a la diversidad nucleotídica (π) observamos el mismo patrón, ya que los loci mitocondriales obtuvieron bajos niveles, de 0 a 0.2. Por su parte, el locus nuclear mostró diversidades nucleotídicas mayores. Isla San Benedicto mostró mayor diversidad nucleotídica (1.60) a pesar de contar con sólo 4 haplotipos.

VII.6. Estructura genética

Debido a que los loci mitocondriales fueron muy poco variables, no se utilizaron para estimar la estructura poblacional. El valor de Φ_{st} calculado con los datos del ADNr indicó un alto grado de estructura genética, en la que el 15.9% de la variancia molecular ocurrió entre localidades ($\Phi_{st} = 0.159$, $p < .0001$, Tabla VIII).

Tabla VIII. Resultados del AMOVA mostrando los porcentajes de variación de los componentes de variancia, así como el índice de fijación (Φ_{st}) y su nivel de significancia.

Fuente de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Componentes de la variancia	Porcentaje de variación
Entre poblaciones	4	51.8	0.54	15.9
Dentro de poblaciones	92	265.4	2.88	84.1
Total	96	317.2	3.42	
Índice de fijación Φ_{st} =			0.159 ($p < 0.001$)	

Con el fin de determinar cuáles localidades se encontraban diferenciadas se calcularon índices de fijación pareados. El análisis de diferenciación entre pares de localidades mostró a dos localidades, La Paz y Carrizales, como las más diferenciadas genéticamente (Tabla IX).

Tabla IX. Valores de Φ_{st} pareados para el gen ITS (bajo la diagonal) y sus niveles de significancia (sobre la diagonal).

	1	2	3	4	5
1) Isla San Benedicto		ns	ns	*	*
2) Bahías de Huatulco	0.127		ns	*	*
3) Islas Marietas	0.074	0.009		ns	*
4) La Paz	0.247	0.143	0.104		*
5) Carrizales	0.231	0.137	0.090	0.344	

* $p < 0.05$ y ns $p > 0.05$ después de la corrección de Bonferroni

VII.7. Flujo genético

Obtuvimos el número de migrantes efectivos por generación (Nm) entre pares de localidades a partir los valores de Φ_{st} pareados (Figura 7). La mayor conectividad se encontró entre las Islas Marietas y Huatulco ($Nm = 58$) mientras que el flujo más reducido ocurrió entre La Paz y Carrlizales ($Nm < 1$). En cuanto a los resultados obtenidos con el programa Migrate 2.1.3, observamos que el flujo genético de Huatulco a Islas Marietas fue el de mayor magnitud, siendo consistente en las 10 simulaciones. El resto de las localidades obtuvieron niveles bajos de flujo genético, algunos escenarios no fueron consistentes (Figuras 7 y 8).

Los valores de N_e obtenidos de las 10 simulaciones del programa Migrate fueron promediados para cada localidad. Dichos valores están representados por $\theta = Ne.\mu$ (producto del tamaño poblacional efectivo y de la tasa mutacional) para cada localidad (Figura 7).

		<i>j</i>			
		1	2	3	4
<i>i</i>	1) Bahías de Huatulco	$\bar{\theta}_1 = 1.80E^{-2}$	C ← →	NC ← →	C ← →
	2) Islas Marietas	57.70	$\bar{\theta}_2 = 5.26E^{+9}$	C ← →	C ← →
	3) La Paz	2.99	4.28	$\bar{\theta}_3 = 3.00E^{-3}$	NC ← →
	4) Carrizales	3.15	5.06	0.95	$\bar{\theta}_4 = 1.20E^{-2}$

Figura 7. Flujo genético (Nm) entre pares de localidades estimados a partir de Φ_{st} (debajo de la diagonal), resultados cualitativos obtenidos de las simulaciones MCMC con el programa Migrate (encima de la diagonal) y tamaños poblacionales efectivos promedios (en la diagonal). Vectores representan la magnitud relativa y dirección del flujo genético (de i a j (\rightarrow) y de j a i (\leftarrow)). C = resultado consistente entre las 10 simulaciones y NC = resultado no consistente entre las 10 simulaciones.

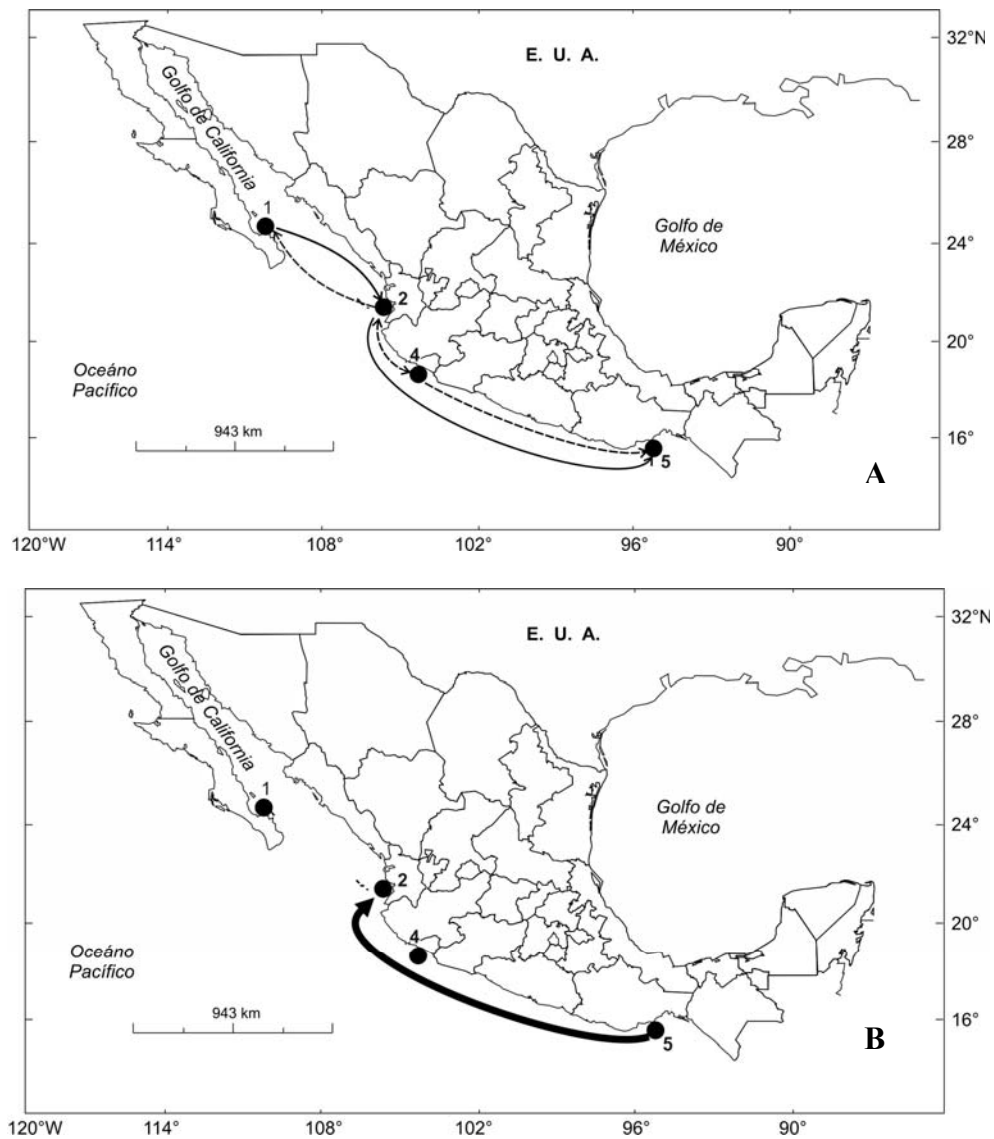


Figura 8. Mapas del área de estudio representando la magnitud relativa y dirección del flujo genético entre localidades (por medio de vectores) obtenido a partir de 10 simulaciones con el programa Migrate. Localidades incluidas en el análisis: (1) La Paz, (2) Islas Marietas (4) Carrizales y (5) Bahías de Huatulco. Mapa A) Niveles bajos de flujo genético y mapa B) el mayor nivel de flujo genético para *P. gigantea*.

VII.8. Aislamiento por distancia

El análisis de aislamiento por distancia, consistente en la correlación entre las distancias genéticas (Φ_{st}) y la distancia geográfica entre localidades, resultó no significativo (Figura 9).

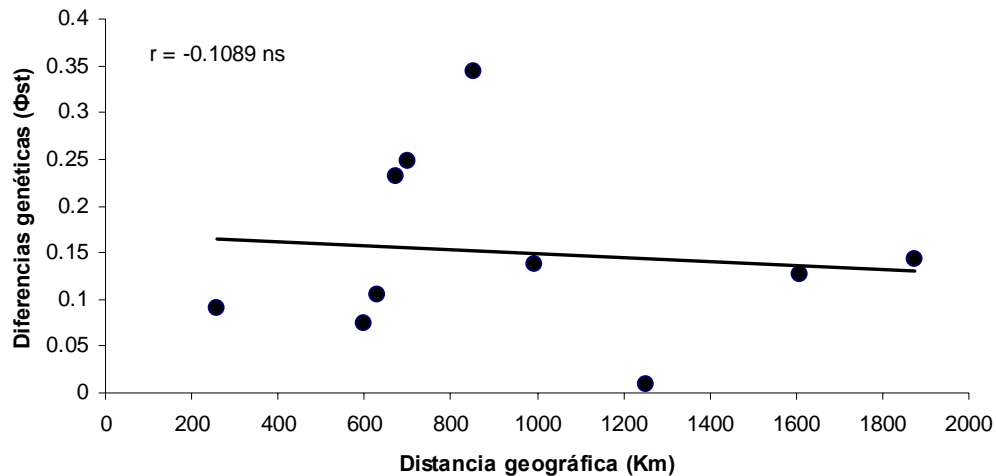


Figura 9. Correlación entre la distancia genética (Φ_{st}) y la distancia geográfica (Diekmann *et al.*) entre pares de localidades. r es el coeficiente de correlación y ns $p > .05$.

VII.9. Relaciones filogenéticas entre haplotipos

El árbol Neighbor-Joining de los haplotipos de COX1, enraizado con una secuencia homóloga de *P. clavus*, reveló dos haplotipos hermanos más divergentes, el haplotipo COI-2 privado en Isla San Benedicto y el COI-5 privado en Carrizales. El haplotipo más abundante (COI-1) se ubicó cerca de la base del clado de *P. gigantea* en medio del agrupamiento. Sin

embargo el polimorfismo fue insuficiente para detectar algún patrón filogeográfico (Figura 10). Dado que el intrón NAD sólo presentó tres haplotipos, no se realizó ningún análisis filogenético.

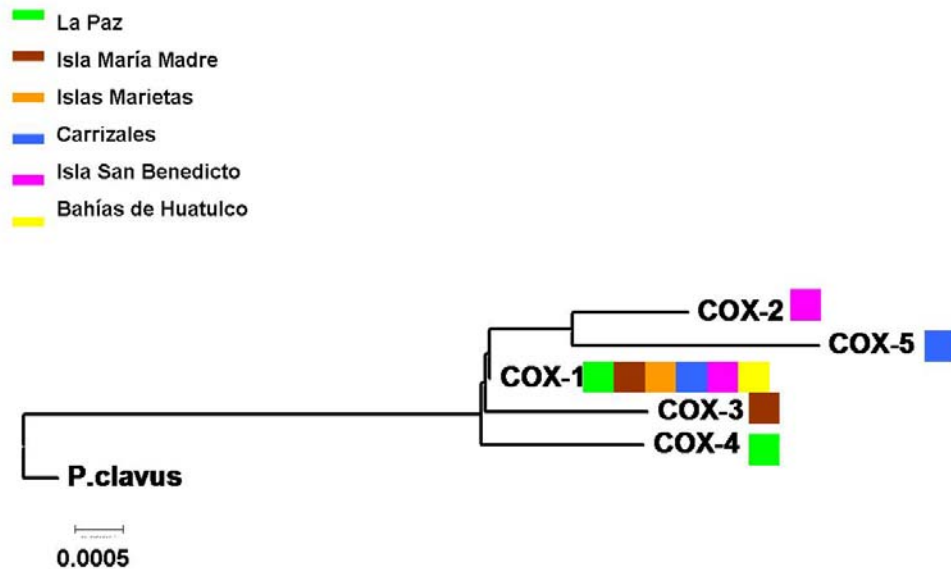


Figura 10. Árbol filogenético Neighbor Joining de los haplotipos del locus COX1 en *Pavona gigantea* del Pacífico mexicano enraizado con *Pavona clavus* como grupo externo

El árbol Neighbor-Joining realizado para el ADNr (ITS1-5.8S-ITS2) mostró una topología compleja con varios grupos pequeños (Figura 11).

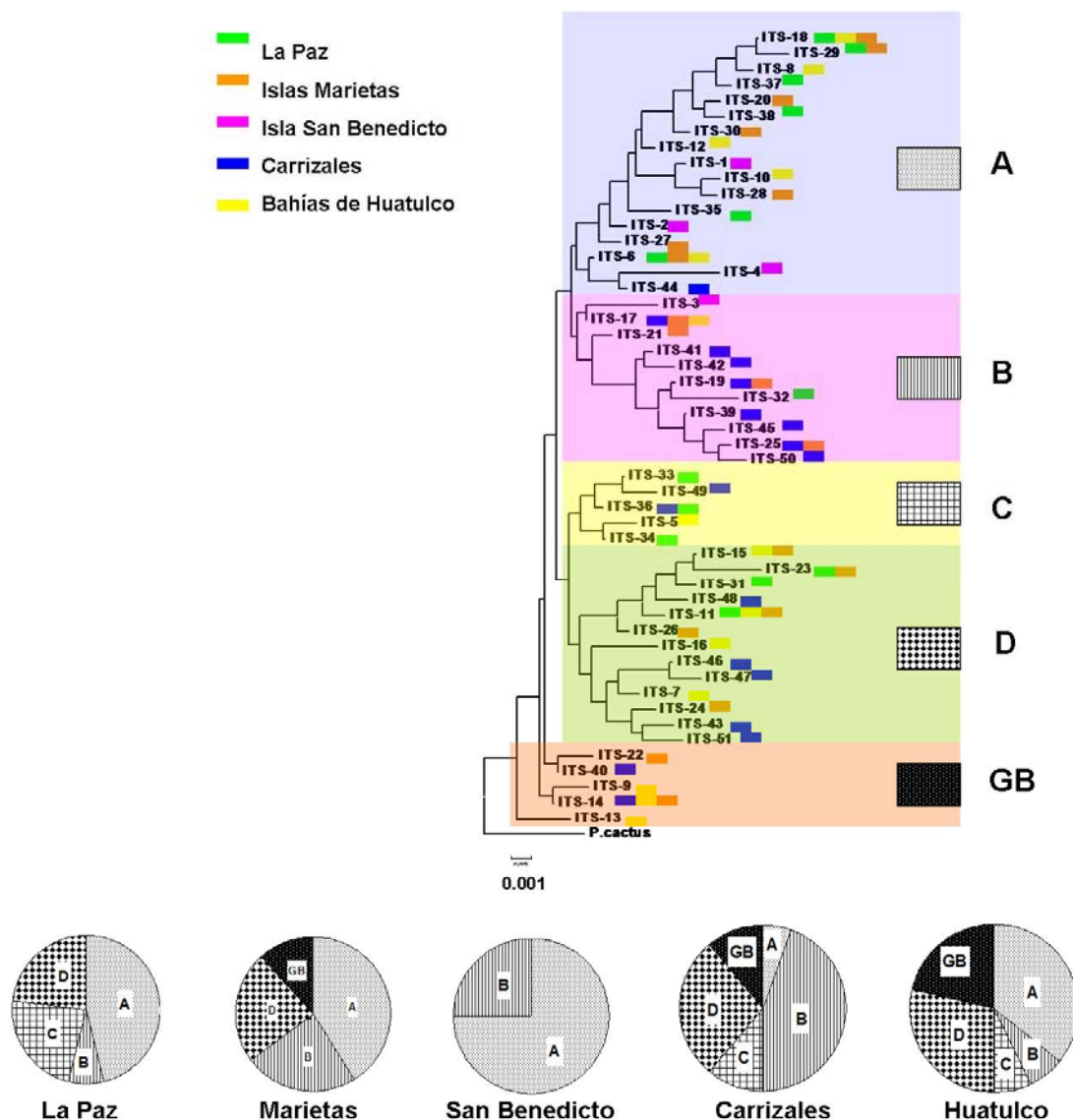


Figura 11. Árbol filogenético Neighbor-Joining de haplotipos del locus ADNr (ITS1-5.8S-ITS2) de *Pavona gigantea* para el Pacífico mexicano, enraizado con *P. cactus* como grupo externo. Las barras de color en cada haplotipo representan las localidades de ocurrencia. Las gráficas circulares representan el porcentaje de haplotipos de cada clado (A, B, C, D, GB) en cada localidad. GB, grupo basal.

Se observó que en las localidades más norteñas, La Paz, Islas Marietas y San Benedicto, los haplotipos del clado A representaron el mayor porcentaje (Figura 6). Esto contrasta con el caso de Carrizales, en donde la mayor frecuencia corresponde a los haplotipos del clado B, que se encuentra pobremente representado en el resto de las localidades. Por su parte, en la muestra más sureña de Huatulco, los haplotipos de los clados A y D fueron los más abundantes y ocurrieron en proporciones similares. Los haplotipos de los grupos basales (Clado GB) no se encontraron en la localidad más norteña (La Paz) ni en la más alejada del continente (Isla San Benedicto de las Revillagigedo), aunque de ésta última sólo se obtuvieron cuatro secuencias.

VIII. Discusión

VIII.1. Diversidad genética

Es conocido que el ADNmt posee altas tasas de mutación en muchos vertebrados e invertebrados, sin embargo en escleractinios presenta poca variabilidad en la mayoría de las especies (Shearer *et al.*, 2002). La baja tasa de mutación mitocondrial podría estar relacionada a la importancia funcional de las mitocondrias en los corales. La calcificación de los corales depende estrechamente de la simbiosis con las algas zooxantelas, relación que demanda una gran cantidad de energía provista por las mitocondrias (Iglesias-Prieto, 2007). De tal suerte, una tasa mutacional elevada en el ADNmt podría producir cambios fenotípicos desfavorables para la viabilidad de la relación endosimbiótica, teniendo como consecuencia una selección negativa. Por consiguiente, el ADNmt de los corales podría estar sujeto a una mayor restricción evolutiva que el de otros metazoarios carentes de algas endosimbióticas.

Sin embargo, se han realizado estudios poblacionales en algunos corales con genes mitocondriales con alta variabilidad (Concepcion *et al.*, 2006; Ridgway, 2002). El estudio realizado por Vollmer y Palumbi (2007) utilizando ADNmt de *Acropora cervicornis*, muestra altos valores de diversidad haplotípica ($h=0.847$) en la región control del ADNmt (D-loop).

En el caso de *P. gigantea* encontramos poca variabilidad tanto en la secuencia de un gen estructural (COX1) como en la de una región no codificadora (intrón NAD) del ADNmt, lo que resultó en poca información filogeográfica e insuficiente variabilidad para estimar los niveles de estructura genética. Sin embargo, se observaron algunas localidades con haplotipos nativos para ambos loci (Tablas 4 y 5), por lo que la distribución geográfica de esa poca variabilidad es consistente con el alto nivel de estructuración poblacional encontrado con el ADN nuclear.

Por otro lado, los altos valores de diversidad haplotípica encontrados en el ADNr fueron similares a los reportados en especies del mismo género para la misma región. Se encontró un mayor número de haplotipos y en consecuencia una mayor h en *P. gigantea* del Pacífico mexicano, que en *P. cactus* y *P. decussata* en Isla Mauricio (Isla ubicada frente a Madagascar en África del Sur) para el mismo locus. Aunado a esto, el valor promedio de diversidad nucleotídica fue también mayor para las secuencias de *P. gigantea* ($\pi = 0.90$) comparadas con *P. cactus* (Tabla X). Esta diferencia en los niveles de diversidad entre especies de *Pavona* podría estar asociada a la diferencia en escalas geográficas de las poblaciones estudiadas, puesto que en este trabajo se analizaron organismos de localidades separadas por miles de kilómetros.

Por otro lado, Vollmer y Palumbi (2007) encontraron para tres genes nucleares estructurales (MiniColageno, Calmodulina y PaxC) poca

variabilidad en la especie *A. cervicornis*, que resultó en insuficiente resolución para un análisis filogeográfico. Estos resultados no concuerdan con la alta variabilidad encontrada en el ADNr de *P. gigantea* que a pesar de ser un gen nuclear no es estructural y contiene las regiones no codificantes ITS1 e ITS2 que fueron las que presentaron la variabilidad encontrada.

Tabla X. Diversidades haplotípicas de genes nucleares (ADNn) y mitocondriales (ADNmt) de algunas especies de corales hermatípicos (n=número de colonias, n_h =número de haplotipos, h =diversidad haplotípica y π =diversidad nucleotídica).

Especie	Locus	n	n_h	h	π (%)	Referencia
<i>P. gigantea</i>	ITS ADNr	97	51	0.94	0.90	Este estudio
<i>P. cactus</i>	ITS ADNr	60	13	0.73	0.74	Moothien Pillay <i>et al</i> , 2006
<i>P. decussata</i>	ITS ADNr	60	25	0.93	1.00	Moothien Pillay <i>et al</i> , 2006
<i>A. cervicornis</i>	Región control ADNmt	158	27	0.85	0.57	Vollmer y Palumbi 2007
<i>A. cervicornis</i>	MiniColágeno ADNn	208	3	0.37	0.10	Vollmer y Palumbi 2007
<i>A. cervicornis</i>	Calmodulina ADNn	286	3	0.42	0.75	Vollmer y Palumbi 2007
<i>A. cervicornis</i>	<i>PaxC</i> ADNn	286	4	0.39	0.16	Vollmer y Palumbi 2007

En cuanto al número de haplotipos encontrados en cada localidad, se observó que Carrizales obtuvo el mayor número de haplotipos nativos. Lo que concuerda con la predominancia del clado B en esa localidad mencionado anteriormente (Tabla VI, Figura 11). Por el contrario, Huatulco

e Islas Marietas compartieron un mayor número de haplotipos, de los cuales la mayoría se agruparon en el clado A.

VIII.2. Estructura y flujo genético

Los corales hermatípicos muestran diferencias fenotípicas a lo largo de su distribución (D’Croz y Maté, 2004). Al parecer tienen una plasticidad fenotípica que les permite adaptarse a su ambiente, particularmente en respuesta a las condiciones de luz y energía a las que están expuestas, lo que tiene como resultado una variedad de formas coralinas a lo largo del gradiente espacial. *Pavona gigantea* posee generalmente una forma masiva a lo largo del Pacífico Mexicano, y en algunos puntos se pueden observar formas alternas (por ejemplo forma de plato).

Se sabe que el género *Pavona* en el Pacífico oriental se reproduce sobre todo sexualmente (Steiner y Cortés, 1996), lo que resultaría en la dispersión de estadios planctónicos como el principal mecanismo de colonización y conexión de poblaciones establecidas. Dicho mecanismo llevaría a que las poblaciones se mezclen, compartiendo un mismo acervo genético (Ayre *et al.*, 1997). Sin embargo, los análisis moleculares realizados en *Pavona gigantea* mostraron una marcada estructura genética en el Pacífico mexicano ($\Phi_{st} = 0.159^{***}$) que contradice dicha expectativa de alta conectividad esperada por el modo de reproducción. Este alto nivel de estructuración poblacional refleja niveles bajos de conectividad y, por lo

tanto, pocos eventos de transporte de propágulos. Además, podría ser que los tamaños efectivos poblacionales de las localidades sean distintos y en algunos casos pequeños (Figura 7), lo que daría como resultado poblaciones sujetas a mayor deriva favoreciendo la diferenciación genética. Esto concuerda con el valor de θ más pequeño encontrado en La Paz, que es una de las localidades más diferenciadas genéticamente (Tabla IX). A este escenario podría sumarse la presencia de condiciones ecológicas diferenciales a lo largo de la distribución de la especie, las cuales podrían determinar la selección natural de diferentes genotipos y así reforzar el grado de diferenciación. Sin embargo, la variación de las regiones no codificantes ITS1 e ITS2 podría considerarse neutral, es decir no sujeta a selección, por lo que la influencia de la selección natural no podría encontrarse en esos genes, a diferencia de lo que podría estar pasando con el ADNmt.

Los niveles de flujo genético encontrados para *P. gigantea* fueron bajos en la mayoría de las conexiones entre localidades (Tabla X), como consecuencia de la importante estructura genética observada. Estos resultados son el reflejo de una conectividad muy limitada entre las poblaciones estudiadas de *P. gigantea*, con excepción del flujo genético entre Islas Marietas y Huatulco que fue moderado. Los patrones de flujo genético de este estudio son difíciles de explicar exclusivamente en términos del transporte pasivo de estadios larvarios por corrientes

oceánicas. Esto es congruente con algunos trabajos realizados a escalas geográficas similares (Benzie, 1999; Takabayashi *et al.*, 2003; Yu *et al.*, 1999), coincidiendo en que la dirección del flujo genético frecuentemente no concuerda con los patrones oceanográficos locales. Si bien en algunos estudios se ha reportado que sí existe concordancia entre los patrones de diferenciación genética y la circulación oceanográfica, dicha concordancia es debida a efectos oceánicos micro-geográficos por lo que es poco relevante a escalas mayores (Calderón-Aguilera y Reyes-Bonilla, 2006; Ridgway *et al.*, 2001; Yu *et al.*, 1999). Palumbi (1997) y Benzie (1999) han sugerido que la evolución del aislamiento poblacional de varias especies de invertebrados en diferentes partes del Pacífico se ha dado en presencia de eventos ocasionales de dispersión a gran distancia. De tal suerte, la estructura genética de estas especies se encuentra influenciada por conexiones históricas, como puede ser el caso de *P. gigantea* entre las localidades de La Paz, Islas Marietas y Carrizales cuyos niveles de conectividad son pequeños (Figura 8). Sin embargo, el flujo genético presentado de Huatulco hacia las Islas Marietas concuerda en sentido y dirección con la corriente del Este de México que lleva la misma dirección. De tal manera, la mayor magnitud de conectividad podría estar favorecida por dicha corriente oceánica (Figura 5).

VIII.3. Factores que determinan la conexión demográfica de poblaciones coralinas

VIII.3.1. Reproducción

La sincronización en la expulsión de gametos y larvas, la capacidad de los estadios planctónicos para alcanzar sitios de reclutamiento y los patrones de corrientes oceanográficas determinan la conexión entre poblaciones coralinas. En algunas especies de corales, difícilmente se dan en tiempo y espacio todas las condiciones para que se manifiesten altos niveles de conectividad inter-poblacional, por lo que se facilita el aislamiento reproductivo y la diferenciación genética (Hellberg *et al.*, 2002; Mora y Sale, 2002; Palumbi, 1997).

Análisis en tejidos gonádicos de *P. gigantea* en algunas localidades del Pacífico Mexicano apoyan la existencia de reproducción sexual, encontrando colonias con gametos en diferentes estadios (Rodríguez-Troncoso, 2006 y Vizcaíno-Ochoa, 2003). Nuestros resultados de alta variabilidad genética en ADNr coinciden con la existencia de reproducción sexual, ya que una reproducción predominantemente clonal no generaría tanta diversidad. En efecto, la reproducción sexual representa un mecanismo para mezcla de nuevas combinaciones genéticas y favorece la creación de diversidad a través de la herencia de nuevas mutaciones, llevando a las poblaciones a acumular una mayor variabilidad genética. Si nuestros resultados, por el contrario, hubieran mostrado baja variabilidad genética en todos los genes, hubiera sido evidencia de la predominancia de

reproducción asexual, la que ocasionaría que la mayoría de los individuos tuvieran una alta probabilidad de contar con la misma información genética (Whitaker, 2006). Sin embargo, a la fecha no se ha logrado observar la expulsión de gametos en colonias de *P. gigantea* en el Pacífico mexicano

A pesar de las evidencias que indican la posible reproducción sexual en *P. gigantea*, los resultados del presente estudio revelan poca conexión en las localidades norteñas. Lo que nos lleva a pensar en la posibilidad de una combinación de estrategias reproductivas según las condiciones ambientales (Adjeroud y Tsuchiya, 1999; Ayre y Miller, 2006; Carlon, 1999; Whitaker, 2006). La existencia de reproducción asexual (larvas producidas asexualmente o fragmentación) puede ser una forma de mantener a las poblaciones localmente, debido al posible estrés ambiental que impide el desove de gametos y la fertilización (Andréfouët *et al.*, 2002; Ayre y Hughes, 2000; Ayre y Miller, 2006; Ayre y Willis, 1988; Miller y Ayre, 2004).

VIII.3.2. Transporte larvario

Por otra parte, los patrones de corrientes oceánicas son determinantes para el transporte pasivo de propágulos. La zona del Pacífico mexicano es hidrodinámicamente compleja, ya que se conjuntan masas de agua cálidas y templadas provenientes de distintas zonas. Esto

ha resultado en zonas contrastantes, como las costas de Jalisco y Nayarit con velocidades de corrientes menores comparadas a las de las costas de Oaxaca (Kessler, 2006; Lavín *et al.*, 2006; Lavín *et al.*, 2006b). Esta variabilidad hidrográfica podría estar reflejándose en la estructura y flujo genético poblacional de *P. gigantea*. La zona de Cabo Corrientes y la boca del Golfo de California al parecer son zonas con hidrodinámica superficial débil y variable (Kessler, 2006), lo que podría provocar una mayor retención de masas de agua influyendo en una dispersión limitada de larvas de coral a zonas alejadas. Por lo tanto, la estructura y flujo genéticos observados en *P. gigantea* en La Paz, Islas Marietas y Carrizales son congruentes con la variabilidad hidrodinámica local de esta zona. En comparación, la costa de Oaxaca constituye una zona de hidrodinámica superficial más energética, cuya circulación aumenta en algunas épocas del año (Kessler, 2006). Posiblemente esta dinámica oceánica favorezca la dispersión de propágulos a grandes distancias, lo que concuerda con el nivel de flujo genético inferido proveniente de las Bahías de Huatulco hacia el norte en el Pacífico Mexicano.

La capacidad de estadios meroplanctónicos para alcanzar sitios de reclutamiento es esencial para la conectividad demográfica. Algunos estudios apuntan a una correlación entre el tamaño larval y la capacidad de reclutamiento, ya que larvas con mayor tamaño cuentan con mayor cantidad de nutrientes para sobrevivir. Sin embargo, investigaciones

recientes indican que en muchos corales no existe dicha relación (Ayre y Hughes, 2004; Richmond, 1987). No existen estudios acerca de los estadios planctónicos de *P. gigantea*, sin embargo se han observado diferencias en el tamaño de los ovocitos y espermias en tejidos de pólipos en algunas localidades, por ejemplo los ovocitos de los corales de Huatulco son mayores que los de Bahía de Banderas (Rodríguez-Troncoso, 2006; Vizcaino-Ochoa, 2003). Esto sugiere que, en presencia de reproducción sexual, las larvas del sur del Pacífico Mexicano podrían ser mayores y por lo tanto poseer mayor capacidad de dispersión. Dicha predicción concuerda con el mayor flujo genético cuantificado entre Huatulco e Islas Marietas y en menor grado con el resto de las localidades. En última instancia, el patrón de dispersión pasiva de las larvas de invertebrados sésiles, como los corales hermatípicos, va a depender del campo advectivo que exista durante las contadas semanas o días en las que permanecen en la columna de agua. Por consiguiente, es necesario conocer con mayor detalle tanto la biología reproductiva de la especie, para estimar la frecuencia e incidencia de propágulos en el medio pelágico, como los patrones de variación de las corrientes en el área de estudio, para poder predecir y modelar la advección durante el periodo en el que se producen las larvas meroplanctónicas, ya que dicha variabilidad ambiental en tiempo y espacio podría ser mucho más valiosa para explicar los patrones

de conectividad demográfica, a veces incongruentes con las corrientes oceánicas promedio.

IX. Conclusiones

Las localidades de *Pavona gigantea* en el Pacífico mexicano muestran una clara estructura genética debida a bajos niveles de conectividad demográfica. Los niveles de flujo genético encontrados entre las localidades están influenciados por la hidrodinámica variable del Pacífico tropical y nororiental, lo que hace poco evidente la relación entre la estructura genética y los patrones oceánicos

El tipo de reproducción y la importancia de estadios planctónicos como vectores de conectividad y colonización requieren ser esclarecidos en *P. gigantea*. El comprender mejor los mecanismos reproductivos de los corales y los patrones de circulación oceánica permitirá construir modelos más poderosos para entender los patrones de conectividad demográfica entre las poblaciones de especies coralinas.

X. Literatura citada

- Adjeroud, M. y Tsuchiya, M. 1999. Genetic variation and clonal structure in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis* in the Ryukyu Archipelago, southern Japan. *Marine Biology* 134(4):753-760.
- Aijanabi, S.M. y Martínez, I. 1997. Universal and rapid SALT-extraction of high quality genomic DNA for PCR-based techniques. *Nucleic Acids Research* 22:4692-4693.
- Andréfouët, S., Mumby, P.J., McField, M., Hu, C. y Muller-Karger, F.E. 2002. Revisiting coral reef connectivity. *Coral Reefs*(21):43-48.
- Ayre, D.J. y Hughes, T.P. 2000. Genotypic diversity and gene flow in brooding and spawning along The Great Barrier Reef, Australia. *Evolution* 54(5):1590-1605.
- Ayre, D.J. y Hughes, T.P. 2004. Climate change, genotypic diversity and gene flow in reef-building corals. *Ecology Letters [Ecol Lett]* 7(4):273-278.
- Ayre, D.J., Hughes, T.P. y Standdish, R.J. 1997. Genetic differentiation, reproductive mode, and gene flow in the brooding coral *Pocillopora damicornis* along the Great Barrier Reef, Australia. *Mar Ecol Prog Ser* 159:175-187.
- Ayre, D.J. y Miller, K. 2006. Random mating in the brooding coral *Acropora palifera*. *Mar Ecol Prog Ser* 307:155-160.
- Ayre, D.J. y Willis, B.L. 1988. Population structure in the coral *Pavona cactus*: clonal genotypes show little phenotypic plasticity. *Marine Biology* 99:495-505.
- Beerli, P. 2004. Migrate documentation Editores. Florida State Universidad. Florida.
- Benzie, J.A.H. 1999. Genetic structure of coral reef organisms: Ghosts of dispersal past. *American Zoologist* 39(1):131-145.
- Bohonak, A.J. 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity* 93:153-154.
- Brown, B.E., Dunne, R.P., Goodson, M.S. y Douglas, A.E. 2002. Experience shapes the susceptibility of a reef coral to bleaching. *Coral Reefs* 21:119-126.
- Calderón-Aguilera, L.E. y Reyes-Bonilla, H. 2006. Can local oceanographic conditions in the Mexican Pacific buffer the El Niño-Southern Oscillation effects on coral reefs? Suzuki, Y., editor. En: Proceedings of the 10th International Coral Reef Symposium. Okinawa. p 1138-1143.
- Carlson, D.V. 1999. The evolution of mating systems in tropical reef corals. *TREE* 12:459-495.

- Coles, S.L. y Fadlallah, Y.H. 1991. Reef coral survival and mortality at low temperatures in the Arabian Gulf: new species-specific lower temperature limits. *Coral Reefs* 9:231-237.
- Concepcion, G.T., Médina, M. y Toonen, R.J. 2006. Noncoding mitochondrial loci for corals. *Molecular Ecology Notes* 6(4):1208-1211.
- D’Croz, L. y Maté, J.L. 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):473–483.
- Dai, C.-D., Fan, T.-Y. y Yu, J.-K. 2000. Reproductive isolation and genetic differentiation of a scleractinian coral *Mycedium elephantotus*. *Mar Ecol Prog Ser* 201:179–187.
- Diekmann, O.E., Olsen, J.L., Stam, W.T. y Bak, R.P.M. 2003. Genetic variation within *Symbiodinium* clade B from the coral genus *Madracis* in the Caribbean (Netherlands Antilles). *Coral Reefs*(22):29–33.
- Doyle, J.J. y Doyle, J.L. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemistry Bulletin* 19:11-15.
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2006. Arlequin: An integrated software package for population genetic data analysis. Version 3.1. Computational and Molecular Population Genetic Lab (CMPG). Berna, Suiza
- Fautin, D.G. 2002. Reproduction of Cnidaria. *Can J Zool* 80:1735-1754.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. y Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit 1 from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3:294-299.
- Gay, S.L. y Andrews, J.C. 1994. The effects of recruitment strategies on coral larvae settlement distributions at Helix Reef. Sammarco, P. W. y Heron, M. L. Editores. En: Coastal and estuarine studies The Bio-Physics of marine larval dispersal. American geophysical Union. USA. p 352.
- Glynn, P.W. 1991. Coral reef bleaching in the 1980’s and possible connections with global warming. *TREE* 6:175-179.
- Glynn, P.W., Colley, S.B., Gassman, N.J., Black, K., Cortés, J. y Maté, J.L. 1996. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama y Galapagos Islans (Ecuador). *Marine Biology* 125(3):579-601.
- Hedrick, P.W. 2000. Genetics of Populations Editores. Jones and Bartlett Publishers. Boston. 545 p.
- Hellberg, M.E. 2007. Footprints on water: the genetic wake of dispersal among reefs. *Coral Reefs* 26:463–473.

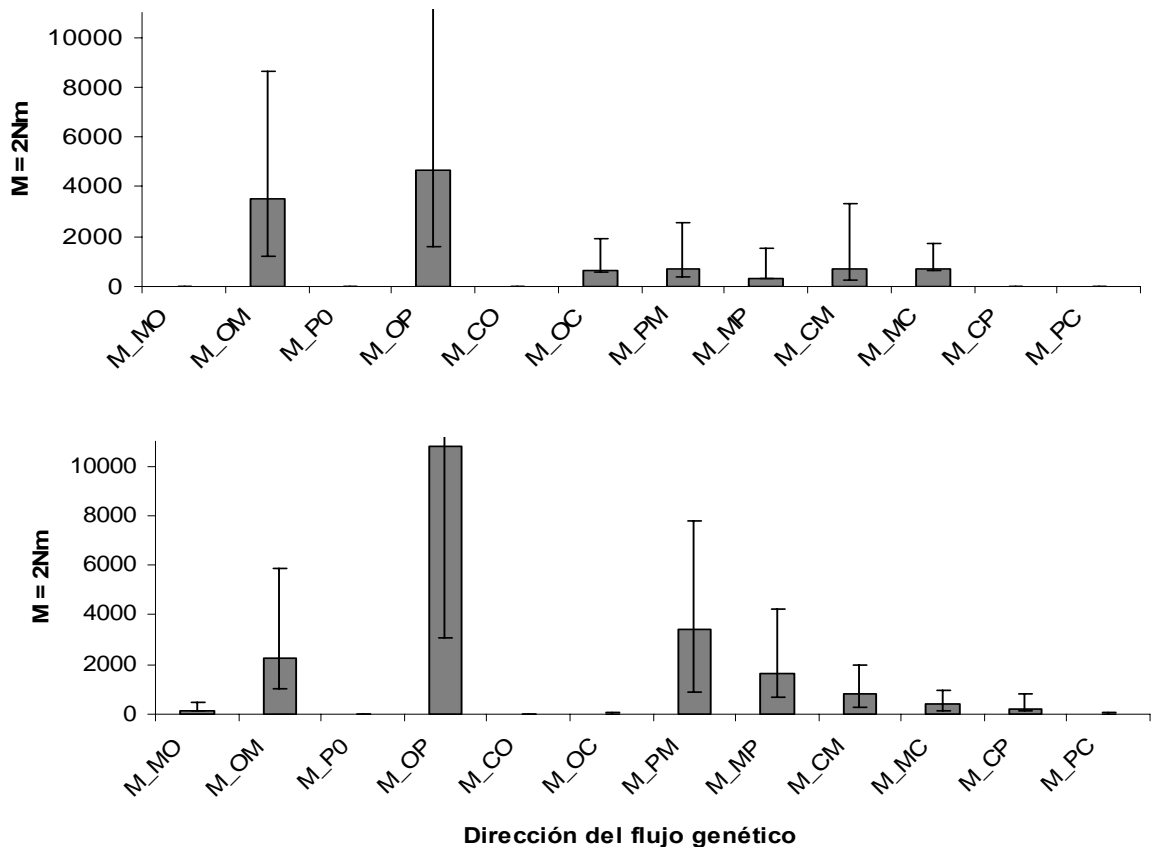
- Hellberg, M.E., Burton, R.S., Neigel, J.E. y Palumbi, S.R. 2002. Genetic assessment of connectivity among marine populations. *Bulletin of Marine Science* 70(1):273-290.
- Higgins, D., Thompson, J. y Gibson, T. 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res* 22:4673-4680.
- Hughes, T.P., Baird, A.H., Bellwood, D.R., Card, M., Conolly, S.R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J.B.C., Kleypas, J., Lough, J.M., Marshall, P., Nyström, M., Palumbi, S.R., Pandolfi, J.M., B., R. y J., R. 2003. Climate change, humans impacts, and the resilience of coral reefs. *Science* 301:929-933.
- Hughes, T.P. y Connell, J.H. 1999. Multiple stressors on coral reefs: A long-term perspective. *Limnology Oceanographic* 44(3 part 2):932-940.
- Iglesias-Prieto, R. 2007. Simbiosis entre dinoflagelados y corales: perspectivas actuales. Reyes-Bonilla, H., Balart-Páez, E. y Herrero, M. D., editor. En: IV Congreso Mexicano de Arrecifes Coralinos. La Paz, B. C. S. UABCS. p 91.
- Iglesias-Prieto, R., Beltran, V.H., LaJeunesse, T.C., Reyes-Bonilla, H. y Thome, P.E. 2004. Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the eastern Pacific. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences* 271(1549):1757-1763.
- Kessler, W.S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69:181-217.
- Knowlton, N. 2001. Coral Reef Biodiversity--Habitat Size Matters. *Science* 292.
- Kumar, S., Tamura, K. y Nei, M. 2004. MEGA 3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequences alignment. *Briefings in Bioinformatics* 5:150-163.
- Lavín, M.F., Beier, E., Gómez-Valdés, J., Godínez, V.M. y García, J. 2006. On the summer poleward coastal current off SW México. *Geophysical Research Letters* 33.
- Lavín, M.F., Fiedler, P.C., Amador, J.A., Ballance, L.T., Färber-Lorda, J. y Mestas-Nuñez, A.M. 2006b. A review of eastern tropical Pacific oceanography: Summary. *Progress in Oceanography* 69:391-398.
- Lesser, M.P. 2004. Experimental biology of coral reef ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 300:217-252.
- Miller, K.J. y Ayre, D.J. 2004. The role of sexual and asexual reproduction in structuring high latitude populations of the reef coral *Pocillopora damicornis*. *Heredity* 92:557-568.
- Moothien Pillay, K.R., Asahida, T., Chen, A.C., Terashima, H. y Ida, H. 2006. ITS Ribosomal DNA Distinctions and the Genetic Structures of

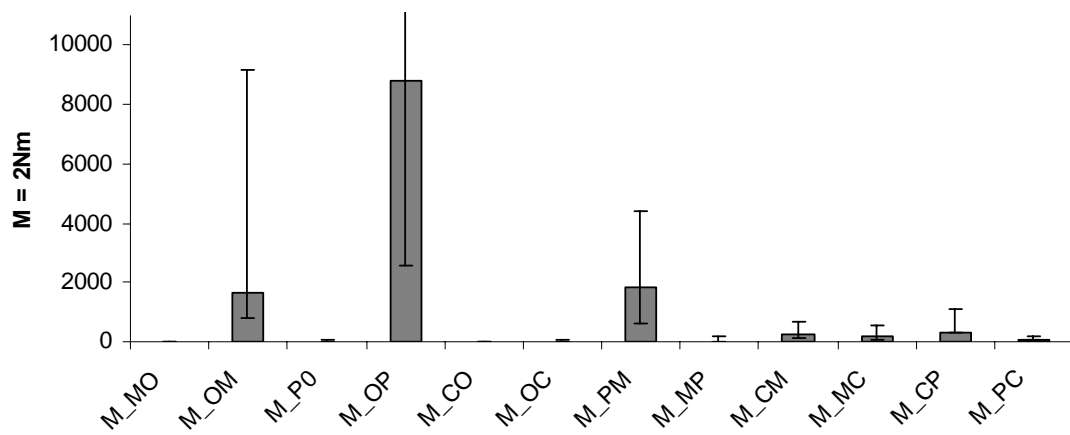
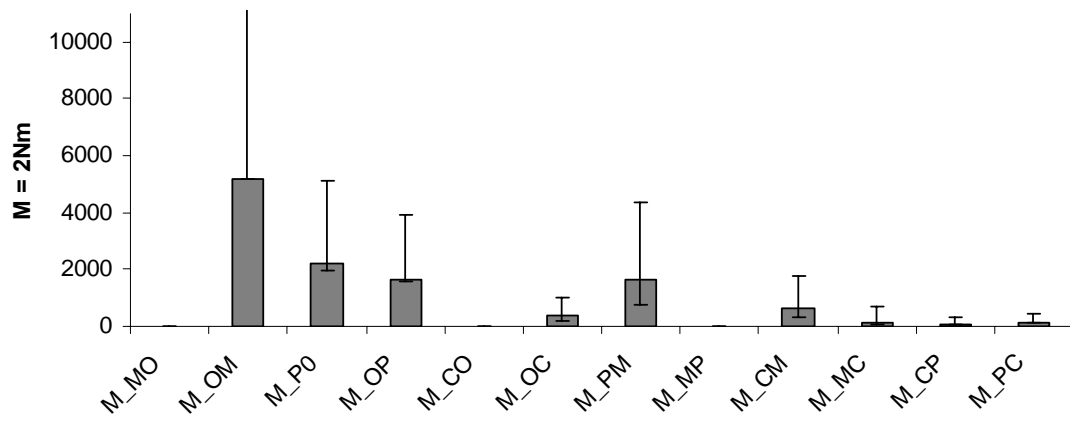
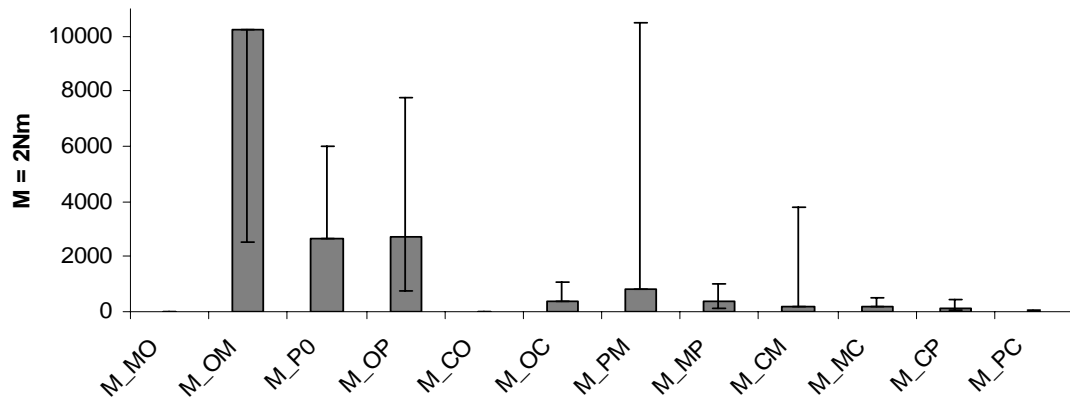
- Populations of Two Sympatric Species of *Pavona* (Cnidaria: Scleractinia) from Mauritius. *Zoological Studies* 45(1):132-144.
- Mora, C. y Sale, P.F. 2002. Are populations of coral reef fish open or closed? *TRENDS in Ecology & Evolution* 17(9):422-428.
- Nei, M. 1987. *Molecular Evolutionary Genetics* Editores. Columbia University Press. New York. 512 p.
- Palumbi, S.R. 1995. Using genetics as an indirect estimator of larval dispersal. McEdward, L. Editores. En: *Ecology of marine invertebrate larvae*. CRC Marine Science Series. New York. p 369-388.
- Palumbi, S.R. 1997. Molecular biogeography of the Pacific. *Coral Reefs* 16:S47-S52.
- Posada, D. y Crandall, K.A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics Applications Note* 14(9):817-818.
- Reyes-Bonilla, H., Calderón-Aguilera, L.E., Cruz, G., Medina-Rosas, P., López-Pérez, R.A., Herrero, M.D., Leyte-Morales, G.E., Cupul-Magaña, A.L. y Carriquiry-Beltrán, J.D. 2005. Atlas de Corales Pétreos (Anthozoa: Scleractinia) del Pacífico Mexicano Editores. CICESE, CONABIO, CONACYT, UABCS, U de G y UMar. 117 p.
- Reyes-Bonilla, H., Carriquiry, J.D., Leyte-Morales, G.E. y Cupul-Magana, A.L. 2002. Effects of the El Niño-Southern Oscillation and the anti-El Niño event (1997-1999) on coral reefs of the western coast of Mexico. *Coral Reefs* 21(4):368-372.
- Richmond, R. 1987. Energetics, competency, and long-distance dispersal of planula larvae of the coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology* 93:527-533.
- Ridgway, T. 2002. Testing the applicability of molecular genetics markers to population analyses of Scleractinian corals. *Symbiosis* 33:243-261.
- Ridgway, T. 2005. Allozyme electrophoresis still represents a powerful technique in the management of coral reefs. *Biodiversity and Conservation* 14:135-149.
- Ridgway, T., Hoegh-Guldberg, O. y Ayre, D.J. 2001. Panmixia in *Pocillopora verrucosa* from South Africa. *Marine Biology* 139:175-181.
- Rodríguez-Troncoso, A.P. 2006. Ciclo reproductivo de tres especies de corales formadores de arrecife en Bahía La Entrega, Oaxaca, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, B. C. 118 p.
- Rozas, J., Sánchez-DelBarrio, J.C., Messeguer, X. y Rozas, R. 2003. DnaSP, DNA polymorphisms analyses by the coalescent and other methods. *Bioinformatics* 19:2496-2497.
- Shearer, T.L., Van Oppen, M.J.H., Romano, S.L. y Worheide, G. 2002. Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria). *Molecular Ecology Notes* 11:2475-2487.

- Steiner, S.C.C. y Cortés, J. 1996. Spermatozoan ultrastructure of scleractinian corals from the eastern Pacific: Pocilloporidae and Agariciidae. *Coral Reefs* 15(2):143-147.
- Swofford, D.L. 1998. PAUP Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and others Methods) Version 4. Sinauer Associates. Sunderland, Mass.
- Takabayashi, M., Carter, D.A., Lopez, J.V. y Hoegh-Guldberg, O. 2003. Genetic variation of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*, from western Pacific reefs. *Coral Reefs* 22(1):17-22.
- Veron, J. 2000. Corals of the World Editores. Mary Stanfford-Smith. Australia. 463 p.
- Vizcaino-Ochoa, V. 2003. Biología reproductiva de tres especies de corales formadores de arrecifes en Bahía de Banderas, México. Thesis de Maestría. Univesidad Autónoma de Baja California. Ensenada B. C. 73 p.
- Vollmer, S.V. y Palumbi, S.R. 2007. Restricted Gene Flow in the Caribbean Staghorn Coral *Acropora cervicornis*: Implications for the Recovery of Endangered Reefs. *Journal of Heredity* 98(1):40-50.
- Whitaker, K. 2006. Genetic evidence for mixed modes of reproduction in the coral *Pocillopora damicornis* and its effect on population structure. *Mar Ecol Prog Ser* 306:115-124.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. y Taylor, W.J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. Innis, M. A., Gelfand, D. H., Snninsky, J. J. y White, T. J. Editores. En: PCR protocols: A guide to methods and applications. Academic Press. San Diego. p 315-322.
- Wright, S. 1951. The general structure of populations. *Annals of Eugenics* 1:232-334.
- Yu, J.K., Wang, H.Y., Lee, S.C. y Dai, C.F. 1999. Genetic structure of a scleractinian coral, *Mycedium elephantotus*, in Taiwan. *Marine Biology* 133(1):21-28.

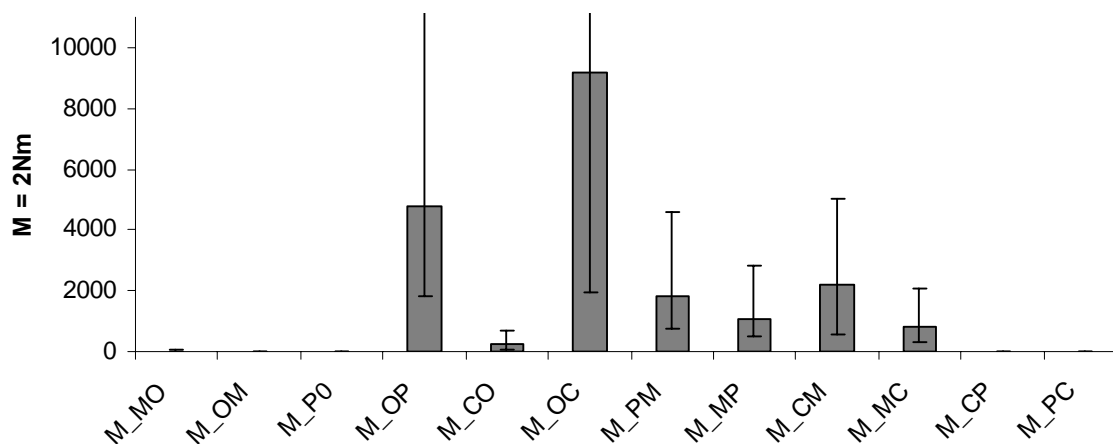
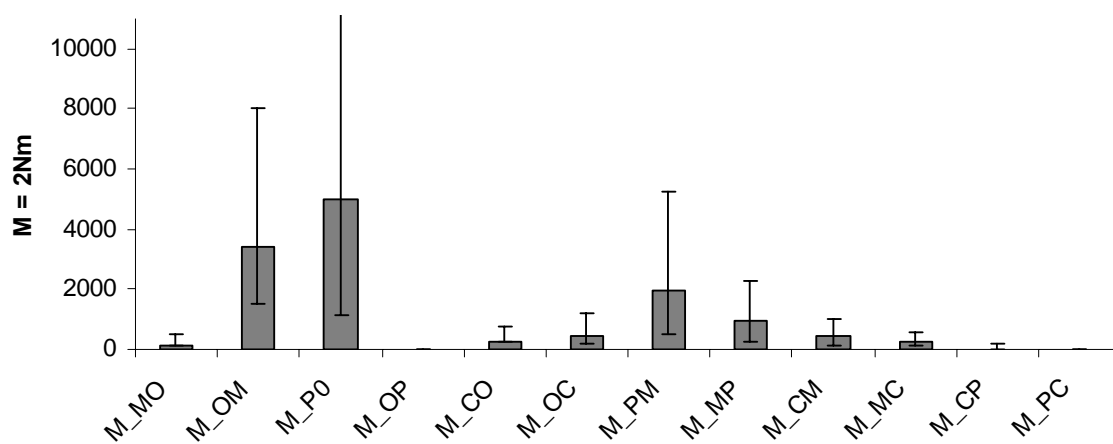
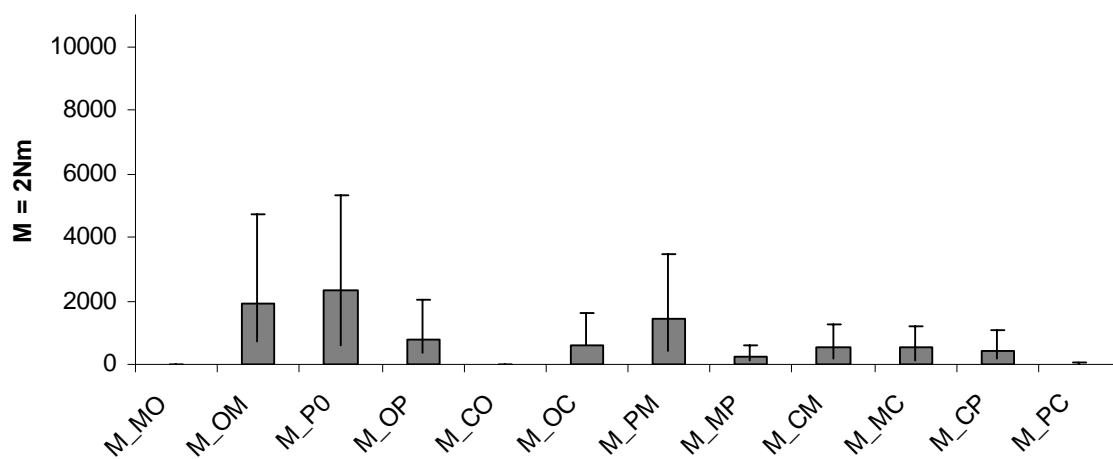
XI. APENDICE

Niveles de flujo genético (Nm) estimado en las 10 simulaciones MCMC con el programa Migrate 2.1.3 (Beerli, 2004). Los histogramas representan el flujo genético ($M = 2Nm$) entre pares de localidades indicando la dirección del flujo (M_{ij} = número de migrantes por generación de la población i a la j). Las barras de error representan el intervalo de confianza de 95%. Cada localidad se representó con su inicial, Islas Marietas = M, Bahías de Huatulco = H, La Paz = P y Carrizales = C.

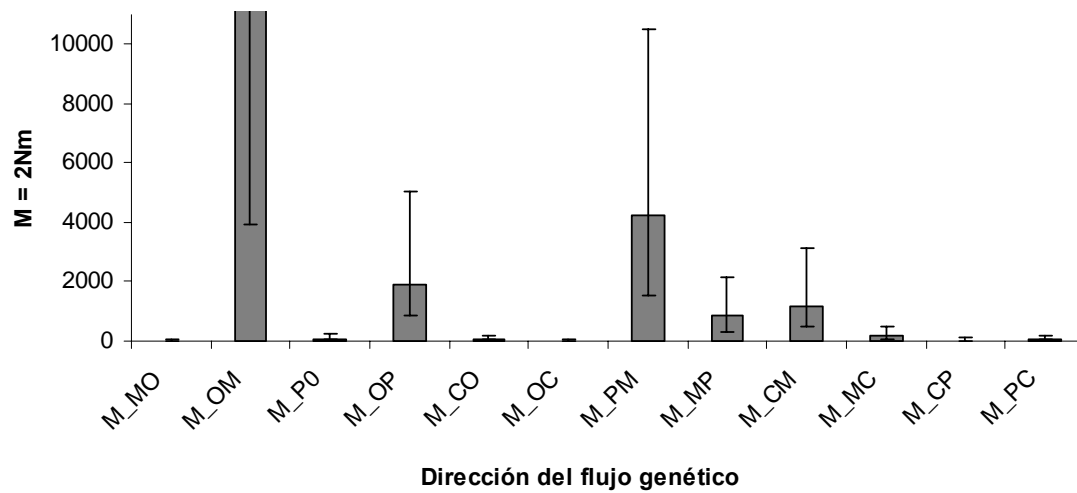
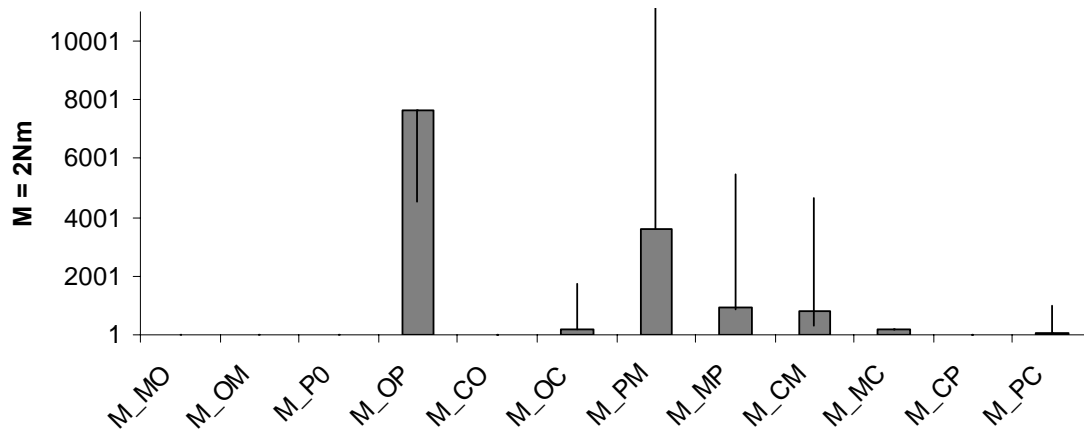




Dirección del flujo genético



Dirección del flujo genético



Dirección del flujo genético