



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES SOBRE LOS RECURSOS NATURALES

Caracterización molecular de las poblaciones de zooxantelas de los corales arrecifales de la costa de Guerrero

TESIS

que presenta

Biól. María Angeles Cárdenas Alvarado

como requisito para obtener el título
profesional de

Maestra en Ciencias en Ecología Integrativa

**Director de tesis:
Dr. Héctor Hugo Nava Bravo**

**Codirector de tesis:
Dra. Yurixhi Maldonado López**

Morelia, Michoacán; agosto de 2020



DEDICATORIA

A Dios por estar conmigo en cada paso de este proyecto y nunca dejar que me rindiera.

A mi padre José Luis por siempre apoyarme y darme su amor incondicional.

A mi madre Albertina por su invaluable amor y por enseñarme a nunca darme por vencida.

A mis hermanos Ulises y Luis Alberto por ser una parte fundamental en mi vida.

A mi tío Gigo, por enseñarme que con amor y paciencia todo se puede lograr.

A mis tres angelitos hermosos, que están al lado de Dios.

A Gio, por ser mi amiga durante toda esta etapa y estar ahí para mí.

A Rubén Darío por estar a mi lado y apoyarme.

AGRADECIMIENTOS

A la persona que siempre le estaré agradecida por ayudarme a mi formación desde la licenciatura, es a mi asesor de tesis, el Dr. Héctor Nava. Gracias por siempre ir conmigo de la mano, por compartir conmigo tus conocimientos conmigo, por confiarme este importante proyecto y por inculcarme lo importante que es cuidar a los arrecifes coralinos. Te admiro y te respeto mucho, gracias por todo.

A mi co-asesora de tesis, la Dra. Yurixhi Maldonado López por todo su apoyo brindado para la elaboración de este proyecto.

Al Dr. Antonio González Rodríguez, por siempre estar ahí cada vez que yo tenía una duda por muy insignificante que fuera, por brindarnos su laboratorio para el procesamiento de las muestras de coral y por enseñarme a analizar los datos obtenidos. Gracias por siempre atenderme con amabilidad y hacerme ver que todo se puede resolver de manera rápida y eficiente.

Al Dr. Mauricio Rodríguez Lanetty, por darme la oportunidad de hacer una estancia en the laboratory of Integrative Marine Genomics and Symbiosis (IMaGeS) de Florida International University (FIU) y por aceptar ser parte del comité revisor. De corazón ¡Mil gracias!

A mi revisora, la Dra. Clementina González Zaragoza por el tiempo dedicado a la revisión de esta tesis y por sus valiosas aportaciones para la mejora de esta.

Al financiamiento brindado por el Consejo de la Investigación Científica de la UMSNH para la realización del trabajo en campo como parte del proyecto titulado “Búsqueda de poblaciones de corales resistentes al Cambio Climático mediante el uso de herramientas moleculares en zonas arrecifales del Pacífico central mexicano”.

Al centro de buceo “Carlo Scuba” de Zihuatanejo, Guerrero, por brindarnos los medios y el equipo necesario para el muestreo en campo. En especial quiero agradecer al Dive Master Thierry Durand y al capitán Chilolo por las facilidades brindadas y ayudar a cuidar los arrecifes de coral.

Al Laboratorio de Genética de la Conservación del IIES, por el préstamo de las instalaciones y el equipo para el procesamiento del material biológico.

A la máxima casa de estudios la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo y al Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales por la formación académica dada durante la maestría y ser mi segundo hogar.

A mis compañeros de la maestría Martha Elena, Xóchitl, Daniel Ferreyra, Jesús Solís, Arturo Díaz, Luis Daniel Olivares y Gustavo por enseñarme que la unidad hace la fuerza y por la amistad brindada. Los quiero mucho.

A las mujeres de mi generación por llevar nuestro compañerismo a una gran amistad. A Martha Elena, por ser mi confidente y alentarme a seguir por más difícil que fuera la situación. Y a Xóchitl por ser como eres y abrirme las puertas de tu casa para estudiar.

A mis profesores dentro del aula y en campo por transmitirme sus conocimientos.

A mis compañeros y hermanos del Laboratorio de Biodiversidad Marina del INIRENA, a Gina, Jeniffer, Angélica, Eli, Deni, Iván, Marijo, Humberto, Fannie, Gil, Alexia y Julio por compartir conmigo gratos momentos e inolvidables en campo y en el laboratorio. Por crear una gran hermandad más allá de solo vernos en un minúsculo espacio.

Al M.C. José Fernando Alvarado Rodríguez por la confianza puesta en mi persona y por estar ahí para cualquier consulta requerida. Gracias por tu amistad.

A Goretti Mendoza, por tenerte tanta paciencia al enseñarme el uso correcto de los materiales y reactivos en el laboratorio. Gracias por siempre ser tan amable y gentil conmigo y por siempre atender mis consultas y ayudarme. Eres una persona excepcional.

A los integrantes del laboratorio de Genética de la Conservación, a Ingrid, Ricardo, Sandra, Hazán, Fátima, Daniela, Sandra y Kukú por hacerme sentir parte de su laboratorio y auxiliarme o explicarme cuando lo ocupaba.

A mis compañeros del INIRENA: Jorge, Lili, Antonia, Amayrany, Bere, Lulú, Nury, Grace, Lili, Samadhi, Toño, Fannie, Jonatan, Damián, Adán, Yunuen Leal y los que faltan. Les agradezco por su compañía y por dejarme ver que estamos en el mismo sitio por un fin en común, la obtención de conocimiento.

A Franceli por toda la ayuda brindada desde el inicio de la maestría hasta el final. Gracias por todos tus sabios consejos y por orientarme en cada trámite. Eres una increíble persona.

A Sarita por siempre ayudarme a resolver dudas sobre el análisis de datos.

A Saúl por su orientación en cada trámite de la maestría.

A Ismaela por todos los consejos y orientación para el trámite de mi estancia. Gracias por siempre explicarme con detalle.

A los integrantes del IMaGeS. En especial a Anthony Bellantuono y Riley Hatch por todo su asesoramiento en cada procedimiento hecho en el laboratorio.

A Víctor David Osorio Castillo, por darme un tour por FIU y Miami y llevarme a degustar diferentes comidas durante mi estancia. Eres genial paisano.

A mi tía Noemí, a mis primos Alondra, Imelda, Meme, Carlos y Héctor y a mi ahijadito Christopher por recibirme en su casa al inicio de mi carrera. ¡Los quiero!

Finalmente, quiero agradecer a todas las personas que estuvieron involucradas de alguna u otra manera en este proyecto y en mi estancia y que no fueron mencionadas anteriormente. ¡Mil gracias!

CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES	6
2.1. Simbiosis coral-zooxantela	6
2.2. Factores que intervienen en la simbiosis coral-zooxantela	8
2.2.1. Modo de reproducción.....	8
2.2.2. Etapa en el ciclo de vida del coral	9
2.2.3. Factores ambientales	9
2.2.4. Blanqueamiento coralino	10
3. HIPÓTESIS.....	12
4. OBJETIVOS	13
4.1. Objetivo general.....	13
4.2. Objetivos específicos.....	13
5. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE ESTUDIO	14
5.1. Características fisiográficas	14
5.2. Características oceanográficas	15
5.3. Arrecifes Coralinos	16
5.3.1. Islote Zacatoso.....	16
5.3.2. Playa Las Gatas	16
5.3.3. Caleta de Chon	17
5.3.4. Playa Riscalillo	17
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
6.1. Trabajo de campo.....	19
6.2. Trabajo de laboratorio	19
6.2.1. Extracción	19
6.2.2. Amplificación y secuenciación del ADN	20
6.2.3. Análisis de datos.....	20
7. RESULTADOS	22
7.1. Árbol filogenético	22
7.1.1. 28S.....	22

7.1.2. ITS2	22
7.2. Relaciones entre haplotipos	25
7.2.1. 28S	25
7.2.2. ITS2	25
7.3. Diversidad genética	28
7.3.1. 28S	28
7.3.2. ITS2	28
8. DISCUSIÓN	34
9. CONCLUSIONES	41
10. LITERATURA CITADA	42
11. MATERIAL SUPLEMENTARIO	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Inferencia de la filogenia de clados de *Symbiodinium* spp. usando *rADN*. Tomado de Stat et al., (2006) _____ 4

Fig. 2. Localización del área de estudio a) Islote Zacatoso, b) Playa Las Gatas, c) Caleta de Chon y d) Playa Riscalillo. _____ 18

Fig. 3. Árbol Bayesiano construido con las secuencias obtenidas con el marcador molecular 28S de *Symbiodinium* spp. de GenBank y de los cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo) de los años 2018 y 2019. _____ 23

Fig. 4. Árbol Bayesiano construido con el programa MrBayes para el clado D con las secuencias obtenidas para *Symbiodinium* spp. con el marcador molecular ITS2 de GenBank y de cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, , Caleta de Chon y Playa Riscalillo) de los años 2018 y 2019. _____ 24

Fig. 5. Red de haplotipos construida con el programa PopART usando el marcador molecular 28S para los años 2018 y 2019. Las líneas transversales representan pasos mutacionales. Z=Islote Zacatoso, LG=Playa Las Gatas, CC= Caleta de Chon y R o M= Playa Riscalillo. _____ 26

Fig. 6. Red de haplotipos construidas con el programa PopART usando el marcador molecular ITS2 para los años 2018 y 2019. Las líneas transversales representan pasos mutacionales Z=Islote Zacatoso, LG=Playa Las Gatas, CC= Caleta de Chon y Ro M= Playa Riscalillo _____ 27

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Número de cada haplotipo encontrado, diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica para cada arrecife coralino para el marcador 28S a) 2018 y 2019, b) 2018 y c) 2019) e ITS2 d) 2018-2019, e) 2018 y f) 2019). El número de fragmentos en los que está presente cada haplotipo se presenta entre paréntesis. ----- 30

Tabla 2. Resultados de análisis de varianza molecular (AMOVA) de los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo) por arrecifes para los años a) 2018-2019, b) 2018 y c) 2019 con el marcador 28S y con el marcador molecular ITS2 d) 2018-2019, e) 2018 y f) 2019. ----- 32

Tabla 3. Comparaciones pareadas de F_{st} entre los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo) con el marcador molecular 28S a) 2018 y 2019, b) 2018 y c) 2019 y con el marcador molecular ITS2. ----- 33

RESUMEN

Las zooxantelas son algas dinoflageladas pertenecientes al género *Symbiodinium* que mantienen una simbiosis obligatoria con los corales escleractinios. Estas algas son de suma importancia debido a que proveen de diferentes nutrientes a los corales y les permiten desarrollar una mayor tasa de calcificación en un menor tiempo. Existen nueve clados de zooxantelas con diferentes atributos fisiológicos y ecológicos, entre los que están incluidos el conferir a los corales una mayor resistencia a características ambientales adversas. Para evaluar la composición y la diversidad genética de las poblaciones de zooxantelas presentes en cuatro arrecifes coralinos del Pacífico mexicano después del evento “El Niño” 2015-2016, se obtuvo ADN de zooxantelas de 102 fragmentos del coral *Pocillopora verrucosa* de cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero. Este material se amplificó y secuenció para los marcadores moleculares 28S e ITS2. Los árboles filogenéticos resultantes de ambos marcadores mostraron que el 100% de las secuencias de *Symbiodinium* se agruparon con el clado D, siendo más cercanos con los subclados D1.1 y D1.2. A este clado se le ha atribuido resistencia a temperaturas altas. El análisis de redes de haplotipos y de diversidad genética mostraron una mayor diversidad con el marcador ITS2 que con el 28S, revelando 28 haplotipos vs. 5 haplotipos, respectivamente. Entre las zooxantelas de los cuatro arrecifes se encontró un haplotipo ancestral, del que la población de Islote Zacatoso se alejó con más pasos mutacionales, mostrando además la mayor diversidad genética. Los corales con esa población de zooxantelas fueron los que sufrieron menos blanqueamiento durante el evento “El Niño” 2015-16. De esta manera, se discute la posible relación de la composición actual de zooxantelas con un solo clado de zooxantelas es una respuesta al estrés térmico provocado por este evento, pudiendo haber existido anteriormente varios clados de zooxantelas. Así, la alta diversidad genética de las zooxantelas de Islote Zacatoso podría estar relacionada con su muestra de resistencia al estrés térmico, contrastando con la población de Playa Las Gatas, que presentó la diversidad genética más baja en la zona y mostró la mayor mortalidad y blanqueamiento coralino asociada a este fenómeno.

Palabras clave: zooxantelas, *Pocillopora verrucosa*, 28S, ITS2, diversidad genética

ABSTRACT

Zooxanthellae are dinoflagellate algae of the genus *Symbiodinium* which maintain an obligate symbiosis with scleractinian corals. These algae are of the great importance since they provide different nutrients to corals, which allow a higher calcification rate in less time. Currently, nine clades of zooxanthellae have been described, with different physiological and ecological attributes, such as the ability to confer to their hosts some resistance to adverse environmental conditions. To assess the composition and genetic diversity of the zooxanthellae populations present in four coral reefs of the Mexican Pacific after “El Niño” event 2015-2016, zooxanthellae DNA was obtained from 102 fragments of *Pocillopora verrucosa* coral colonies. DNA was amplified with 28S and ITS2 molecular markers. The resulting phylogenetic trees of both markers showed that 100% of the zooxanthellae’s sequences were grouped with clade D, being closer with subtypes D1.1 and D1.2. The presence of this clade has been related to the ability of host corals to cope with high sea water temperature. Analysis of haplotype networks and genetic diversity showed a greater diversity with ITS2 marker than 28S, with 28 haplotypes vs. 5 haplotypes, respectively. Among the zooxanthellae populations in the four coral reefs, also were found an ancestral haplotype, which haplotypes from Islote Zacatoso moved away with more mutational steps, showing the greatest genetic diversity. These zooxanthellae were harbored in corals that suffered less bleaching during “El Niño” event of 2015 and 2016. In this way, the possible relationship of the current composition of zooxanthellae with their response to the thermal stress caused by this event is discussed: the high genetic diversity of Islote Zacatoso’s zooxanthellae could be related with their high resistance to thermal stress, contrasting with the population of Playa Las Gatas which had the lowest genetic diversity in the area and showed the highest incidence of coral mortality and bleaching.

Keywords: zooxanthellae, *Pocillopora verrucosa*, 28S, ITS2, genetic diversity

1. INTRODUCCIÓN

Los corales escleractinios son uno de los principales constructores de los arrecifes coralinos, su existencia data desde hace 240 millones de años (Romano y Palumbi, 1996). Los arrecifes de coral son ecosistemas con una alta importancia ecológica por ser sitio de alimentación, reproducción y refugio de una gran cantidad de organismos marinos, además de generar bienes y servicios a las poblaciones humanas (Alquezar y Boy, 2007; Sheppard *et al.*, 2010). Entre los servicios más importantes figuran la protección de la zona costera contra la erosión y las tormentas, la provisión de proteína animal para millones de personas y la derrama económica proveniente de las distintas actividades recreativas que se realizan en los arrecifes (Sheppard *et al.*, 2010; de Groot *et al.*, 2012; Cifuentes-Lemus y Cupul-Magaña, 2014). No obstante, durante las últimas décadas ha aumentado la pérdida y la degradación de los arrecifes coralinos debido a los impactos por fenómenos naturales y por cambios ambientales inducidos por el hombre (Soong y Chen, 2003; Bikerland, 2015). Documentado una reducción en la cobertura de coral ha declinado rápidamente, con cifras de hasta 53% en el Atlántico Occidental, cerca del 40% en el Indo-Pacífico y cerca del 50% en la Gran Barrera Arrecifal (Bikerland, 2015). Adicionalmente, los arrecifes están amenazados por el incremento de CO₂ y por el impacto de fenómenos naturales alterados por el cambio climático (e.g. los eventos El Niño) (Kleypas *et al.*, 2001; Bikerland, 2015).

El evento El Niño, es un fenómeno que ocurre regularmente en ciclos de entre tres y ocho años, y consiste en el aumento anormal de la temperatura superficial del océano en la zona intertropical del Océano Pacífico (de 1 a 3 °C encima de la temperatura normal) durante los meses de octubre-enero (Trenberth, 1997). Este fenómeno ha sido relacionado con mortalidades masivas en corales escleractinios desde la década de 1980 (Kelmo y Attrill, 2013). En los corales escleractinios provoca estrés térmico que puede desequilibrar la simbiosis que mantienen con ciertas algas dinoflageladas (zooxantelas) que habitan en ellos (Muller-Parker *et al.*, 2015). Esta ruptura de la simbiosis parece relacionarse con un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) por parte de las zooxantelas, que causan apoptosis en las células del coral. El óxido nítrico (NO), por ejemplo, mata a las

células del coral e interrumpe la producción de ATP y NADH. Adicionalmente, causa daños en el fotosistema II del cloroplasto de las zooxantelas (Weis, 2008; Sheppard *et al.*, 2010).

La expulsión de las zooxantelas de la cavidad gastrovascular del coral, que es una de las consecuencias de este proceso, deja traslúcido el tejido coralino, revelando el esqueleto blanco de Carbonato de Calcio (CaCO_3) subyacente (Muller-Parker *et al.*, 2015). Este fenómeno, conocido como blanqueamiento coralino, puede provocar una mortalidad masiva de las colonias de coral si las condiciones ambientales no regresan a la normalidad y si la simbiosis no se restablece en periodos de unas pocas semanas (Jones, 2008). Durante este periodo también se ven severamente comprometidos el crecimiento, la fecundidad y la calcificación de los corales (Little *et al.*, 2004; Sheppard *et al.*, 2010). Los estresores más conocidos que inducen el blanqueamiento, es la combinación sinérgica de niveles altos de temperatura e irradiancia (Rowan *et al.*, 1997). No obstante, hay otras fuentes de estrés que lo pueden provocar como son la disminución anormal de la temperatura por períodos de días a semanas (evento La Niña), bajos niveles de irradiancia, la exposición a la radiación ultravioleta, la reducción de la salinidad, algunas infecciones microbianas y la exposición a contaminantes como el cobre y el cianuro (Hoegh-Guldberg, 1999; Hoegh-Guldberg, 2004).

La simbiosis que mantienen con las zooxantelas es vital para la supervivencia de los corales arrecifales (Rowan *et al.*, 1997; Sheppard *et al.*, 2010; Magalón *et al.*, 2006). Según Muscatine y colaboradores (2005), esta asociación ocurrió en las etapas tempranas del triásico (240 millones de años). Gracias a esta asociación, las zooxantelas pueden encontrarse en el tejido coralino con densidades de entre 0.5×10^6 a 5×10^6 células cm^{-2} (Falkowski y Dubinsky, 1981; Fitt *et al.*, 2000; Muller-Parker *et al.*, 2015). Ya que las zooxantelas son capaces de realizar fotosíntesis, proveen al coral energía en forma de glicerol y aminoácidos, permitiéndole alcanzar tasas de calcificación mayores en un menor tiempo (Muscatine *et al.*, 2005; Muller-Parker *et al.*, 2015). En algunos corales se ha calculado una provisión energética de entre 78 y 98% por parte de las zooxantelas; que se usa para el mantenimiento, crecimiento y reproducción del hospedero (Stambler, 2010). Los corales a su vez confieren a las zooxantelas protección contra la herbivoría, les proporcionan CO_2 como materia prima para la fotosíntesis y les dan un hábitat con un régimen de luz favorable (Sheppard *et al.*, 2010; Cifuentes-Lemus y Cupul-Magaña, 2014).

Originalmente se conocía una sola especie de zooxantela (*Symbiodinium microadriaticum* Freudenthal, 1962) (Freudenthal, 1962) pero estudios morfológicos, bioquímicos y moleculares han descrito nuevas especies que han sido agrupadas en nueve grupos filogenéticos mayores o clados (A, B, C, D, E, F, G, H e I) (**Fig. 1**) (Pochon y Gates, 2010; Fabina *et al.*, 2012). Estos grupos están basados en las secuencias derivadas de pequeñas subunidades ribosomales de ADN nuclear, de genes mitocondriales y cloroplásticos. Estas subunidades, conocidas como regiones, han sido determinadas usando marcadores moleculares como el 28S, que es una región útil para la identificación a nivel de clado, debido a que es una subunidad de ADN ribosomal nuclear altamente conservada (Hirai *et al.*, 2013). Otra región denominada Espaciador Interno Transcrito (Internal Transcribed Spacer, ITS2 por sus siglas en inglés), es un buen marcador molecular a nivel de especie (Coleman, 2003).

Con excepción de los clados E, F e I, la mayoría se encuentran en los corales escleractinios (Rowan y Powers, 1992; Santos *et al.*, 2002; Pochon y Gates, 2010). Cada clado tiene numerosos subclados, los cuales, contienen diferentes atributos fisiológicos y ecológicos, además de que son distintas entidades genéticas y funcionales (LaJeunesse, 2002; Rodríguez-Lanetty *et al.*, 2004; Sampayo *et al.*, 2008). Un estudio reciente de LaJeunesse y colaboradores (2018) propuso que los clados de *Symbiodinium* son equivalentes a los géneros en la familia Symbiodiniaceae, sugiriendo la existencia de 7 géneros (*Symbiodinium*, *Breviolum*, *Cladocopium*, *Durusdinium*, *Effrenium*, *Fugacium* y *Gerakladium*). La diversificación de esta familia ocurrió en la mitad del Mesozoico, hace aproximadamente 160 millones de años, con una tasa de evolución de 2.08×10^{-3} sustituciones por sitio por millones de años. Este momento corresponde con la radiación adaptativa de los análogos de los corales modernos de aguas someras durante el Período Jurásico y conecta el surgimiento de estos dinoflagelados simbióticos con la aparición y el éxito evolutivo de los corales formadores de arrecifes.

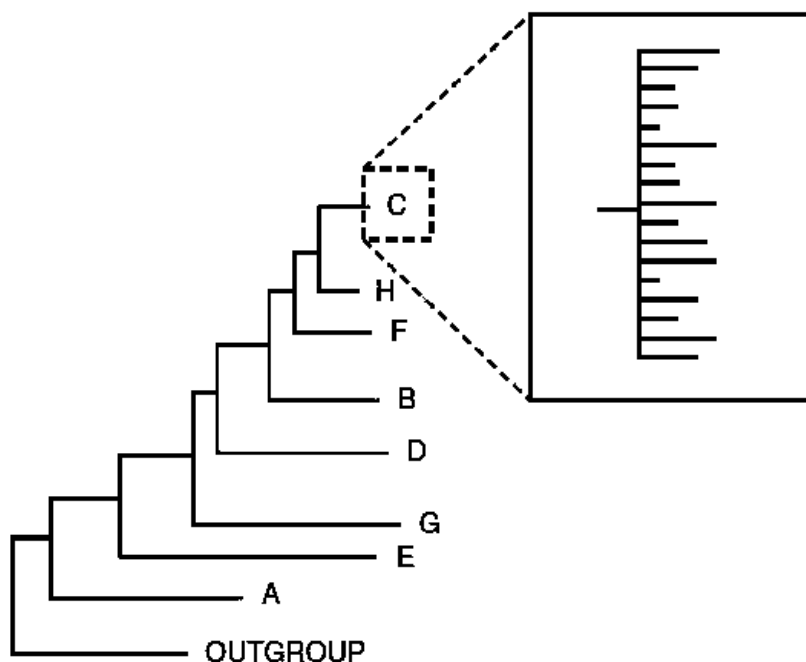


Fig. 1. Inferencia de la filogenia de clados de *Symbiodinium* spp. usando rADN. Tomado de Stat *et al.*, (2006)

En los corales escleractinios, muchas de las colonias hospederas poseen un solo clado de zooxantelas del género *Symbiodinium*, pero algunas especies de corales pueden hospedar múltiples clados en una sola colonia (*holobiosis*), lo que les permite adaptarse al ambiente local o a los microhábitats presentes (Little *et al.*, 2004; Thornhill *et al.*, 2006b; Lewis *et al.*, 2019). Esto es posible, gracias a que algunos de estos clados de zooxantelas presentan diferencias en su fotofisiología, su resistencia térmica y su susceptibilidad a las enfermedades del hospedero (Stat *et al.*, 2009; Silverstein *et al.*, 2014). A partir de esto han surgido varias hipótesis, como Adaptive Bleaching Hypothesis (ABH), donde se postula que los hospederos pueden repoblarse por zooxantelas mejor adaptadas después de un blanqueamiento (Buddemeier y Fautin, 1993; Baker, 2001). Hipotéticamente, este cambio de zooxantelas adaptadas al ambiente local puede optimizar la fisiología de la holobiosis (Buddemeier y Fautin, 1993).

Los clados de zooxantelas pertenecientes al clado C, por ejemplo, tienden a dominar en condiciones estables “normales”, los del clado B prevalecen en aguas frías y el clado D tienden a dominar en ambientes con alta sedimentación (Fabricius *et al.*, 2004; Berkelmans

y van Oppen, 2006). En cuanto a la resistencia térmica, los clados D y C han mostrado ser más tolerantes a altas temperaturas (Baker *et al.*, 2004; Rowan, 2004). En algunos casos la fisiología de la zooxantela puede determinar la susceptibilidad de algunos corales al estrés térmico y brindar resistencia al blanqueamiento (Walther-Mendoza *et al.*, 2016). Esta información tiene un alto potencial para asegurar el éxito de las iniciativas de restauración arrecifal en sitios afectados por fenómenos naturales como los eventos El Niño (Rinkevich, 2005; Nava y Figueroa-Camacho, 2017), pues éstas medidas deben buscar la supervivencia de los corales aún si los impactos siguen ocurriendo.

Durante el evento El Niño 2015-2016 hubo un aumento en la temperatura del agua en los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, provocando la expulsión de zooxantelas de los corales hospederos. Haciendo un análisis de las condiciones previas de estos arrecifes, el estado de conservación de los arrecifes no mostró una correlación con su respuesta al blanqueamiento coralino. Antes del evento El Niño, Islote Zacatoso y Playa Riscalillo eran los arrecifes en mejor estado de conservación y eran los menos afectados por impactos antropogénicos, mientras que los corales de Caleta de Chon mantenían un buen estado de salud a pesar de sufrir por una alta sedimentación. Por otro lado, Playa Las Gatas era un arrecife deteriorado debido al constante impacto antropogénico (Hernández-Ramírez, 2006; Nava *et al.*, 2013; Ruiz-Cervantes, 2016; Nava *et al.*, 2018). Durante del evento de El Niño los corales de Playa Las Gatas y Playa Riscalillo fueron los que sufrieron la mayor incidencia de blanqueamiento y mortalidad coralina, mientras que los corales de Islote Zacatoso y Caleta de Chon no parecieron ser afectados por esas mismas condiciones ambientales (Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018). Estos cambios en los arrecifes sugieren la presencia de otros factores no considerados previamente, como lo es la simbiosis entre los corales y sus zooxantelas. De esta manera, para comprobar que las zooxantelas fueron las responsables de las diferentes respuestas de las poblaciones de corales ante el evento El Niño 2015-2016, este estudio procedió a caracterizar genéticamente las zooxantelas hospedadas en el coral *Pocillopora verrucosa* de Zihuatanejo, por ser uno de las principales especies constructoras de arrecifes en el Pacífico mexicano (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Glynn y Leyte-Morales, 1997; Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla, 2003) mediante los marcadores moleculares 28S e ITS2.

2. ANTECEDENTES

Pocillopora es el género de corales más abundante en el Pacífico tropical mexicano y es uno de los principales constructores de arrecifes de franja (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Glynn y Leyte-Morales, 1997; Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla, 2003). Nuestra especie de estudio, *Pocillopora verrucosa*, es una de las especies dominantes y abundantes para esta zona, encontrándose en aguas someras a una profundidad de 0 hasta 25 m y en un rango de temperatura de 22 a 32° C. Hasta el momento se considera que su modo reproductivo dominante es el asexual, debido a que no se ha observado la producción de plánulas (Veron, 2000).

Los arrecifes del Pacífico mexicano han sufrido eventos masivos de blanqueamiento y mortalidad coralina causado por la exposición a elevadas temperaturas, siendo el género *Pocillopora* el más sensible, pero a su vez presenta un alto potencial de recuperación (Reyes-Bonilla *et al.*, 2002). Durante el evento El Niño 1987-88, Reyes-Bonilla (1993) reportó un 10% de mortalidad total y blanqueamiento en las poblaciones de *Pocillopora* spp. en arrecifes de Cabo Pulmo causado por temperaturas de 29°C o más. Después, durante El Niño 1997-1998 las temperaturas superficiales excedieron los 29°C alcanzando 32°C causando blanqueamiento coralino en corales desde 0 a 30 m de profundidad; resultando en una mortalidad coralina de 60% para Oaxaca, un 20% para las Islas de Revillagigedo y el Golfo de California y un 96% para Nayarit, donde, grandes estructuras de pociloporidos murieron (Carriquiry *et al.*, 2001; Reyes-Bonilla, 2003).

2.1. Simbiosis coral-zooxantela

Un factor determinante para la supervivencia de los corales es la relación simbiótica que mantienen con las zooxantelas, las cuales les confieren ventajas como una tasa de calcificación alta y autotrofia (Muller-Parker *et al.*, 2015). En este sentido, Gatusso y colaboradores (2000) comprobaron que la tasa de calcificación es más rápida en los corales que tienen simbiontes zooxantelados. *Manicina areolata*, por ejemplo, es un coral zooxantelado que incorporó ⁴⁵Ca 6.5 veces más rápido en la luz que en la oscuridad y 16.5

veces más rápido en la luz cuando las zooxantelas estuvieron presentes que cuando estuvieron ausentes (Furla *et al.*, 2000). También se ha comprobado que esta relación simbiótica provee al hospedero de energía y compuestos esenciales como aminoácidos, azúcares, hidratos de carbono y péptidos (Hoegh-Guldberg, 1999). Muscatine y colaboradores (2005) observaron que las zooxantelas asimilan el N orgánico del agua del mar, lo sintetizan y lo liberan para la formación de la matriz orgánica del esqueleto del coral.

Por otro lado, se ha comprobado que la exposición de los corales a la variación de ciertos parámetros ambientales (*e.g.* irradiancia, luz ultravioleta y altas temperaturas) puede alterar esta simbiosis, ocasionando una reducción en la densidad de zooxantelas y/o en la concentración de pigmentos por célula (Hoegh-Guldberg y Smith, 1989; Jones, 1997; Fitt *et al.*, 2000; Sunagawa *et al.*, 2008). Por lo tanto, los cambios en la proporción zooxantela/biomasa en los corales puede convertirse en un indicador de estrés en los arrecifes coralinos (Muller-Parker *et al.*, 2015). En un estudio relacionado, Maldonado-Bernabé (2017) colectó muestras de corales pocilopóridos de localidades con diferente nivel de exposición al impacto antropogénico y estudió la proporción ocupada por zooxantelas en cortes histológicos extraídos de estas muestras. Comparativamente, la proporción fue mayor en los arrecifes coralinos con menor perturbación antropogénica.

La diversidad y las relaciones evolutivas de las zooxantelas han sido exploradas en una amplia variedad de hospederos. Entre los primeros estudios se mostró que en las zooxantelas provenientes de diferentes hospederos existían diferencias enzimáticas, morfológicas y cromosómicas (Blank y Trench, 1985). Así, se empezó a indagar en la diversidad de *Symbiodinium* spp., pero hubo varios factores que limitaron este estudio como: la falta de características morfológicas distinguibles, el estudiar a zooxantelas que solo crecían *in vitro* y el impedimento de no observar un tipo de reproducción sexual (Rowan y Powers, 1992; LaJeunesse, 2001). Por ello, se optó acudir al estudio de estas algas dinoflageladas mediante herramientas moleculares. Los primeros estudios usaron aloenzimas y polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción (Restriction Fragment Length Polymorphism, RFLP, por sus siglas en inglés) para diferenciar entre los diferentes linajes de zooxantelas (Rowan y Powers, 1991). Después, la filogenia molecular del género

Symbiodinium se estudió predominantemente por medio del ADN nuclear que codifica para el ARN ribosomal mediante las regiones 5.8S, 18S y 28S y mediante los Espaciadores Internos Transcritos ITS1 e ITS2 (Baker, 2003; Coffroth y Santos, 2005). En otros estudios se han usado las secuencias del ADN cloroplástico (23S ADNr) y del ADN mitocondrial para la identificación de miembros del género *Symbiodinium* spp. (Santos *et al.*, 2003; Takabayashi *et al.*, 2004). Recientemente, los microsatélites se han usado para explorar la diversidad de especies del género *Symbiodinium* en poblaciones del coral *Pocillopora meandrina*, mostrando que la estructura genética de sus simbioses depende de la distancia geográfica y de las corrientes oceánicas, y no de su hospedero (Magalón *et al.*, 2006). Además, se ha corroborado que ciertas técnicas como Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE), no son efectivas para describir la diversidad de simbioses zooxantelados presentes en los arrecifes coralinos (Appril y Gates, 2007).

2.2. Factores que intervienen en la simbiosis coral-zooxantela

Algunos de estos estudios moleculares se han enfocado en la especificidad de la relación simbiótica de los corales y las zooxantelas, tomando en cuenta diferentes factores y/o características que pueden intervenir en esta relación y que a continuación se describen.

2.2.1. Modo de reproducción

El modo de reproducción de cada especie de coral se ha relacionado con la diversidad de especies de las zooxantelas. Walther-Mendoza y colaboradores (2016), por ejemplo, encontraron una mayor diversidad de especies de *Symbiodinium* en el género *Porites*, seguido de *Pavona* y de *Pocillopora*. En *Porites*, de reproducción sexual, la fertilización es interna y la transmisión de las zooxantelas es vertical, esto es, directamente de la madre (Glynn *et al.*, 1994). No obstante, una vez que las larvas del coral se incorporan a la vida libre, pueden incorporar otros simbioses del ambiente, promoviendo la diversificación del holobionte (Loh *et al.*, 2001). En el género *Pocillopora*, que se reproduce principalmente por fragmentación, la variación de los clados de zooxantelas fue mínima a lo largo del tiempo (Walther-Mendoza *et al.*, 2016). *Pavona*, es un género con especies hermafroditas. Ya que su estrategia de reproducción es por fertilización externa, la transmisión de los simbioses a

la descendencia es horizontal, esto es, por adquisición del ambiente circundante (Carpizo-Ituarte *et al.*, 2011).

2.2.2. Etapa en el ciclo de vida del coral

Otro factor importante que influye en el tipo de simbiote presente en el coral, es la etapa del ciclo de vida en la que se encuentre. Un ejemplo es la especie *Acropora tenuis* de la Gran Barrera Arrecifal, que presentó en su estadio juvenil una alternancia de simbiotes. En el primer mes (juvenil) se encontraron los clados D y C (subclado C1). Posteriormente, a los cinco meses (juvenil) el clado D dominó sobre el C, y, en los adultos (+37 meses) dominó el subtipo C1. Esto sugiere una selección activa del hospedero para maximizar la efectividad del simbiote en concordancia con los requerimientos fisiológicos de los corales juveniles y adultos. Los corales juveniles, por ejemplo, crecen más rápido cuando están asociados con *Symbiodinium* C1 (Little *et al.*, 2004).

2.2.3. Factores ambientales

2.2.3.1. Irradiancia

Los corales en zonas costeras con una alta irradiancia, por ejemplo, hospedan simbiotes de los clados C y D, debido a que tienen una mayor resistencia y adaptabilidad a estas condiciones (Tong *et al.*, 2018). El grado de irradiancia a su vez influye en la preferencia batimétrica de las zooxantelas. En el Pacífico, por ejemplo, se ha corroborado que el clado D es el simbiote típico de *Pocillopora verrucosa* en aguas someras expuestas a una mayor irradiancia. En *Pavona gigantea*, por el contrario, se encontró el clado C, simbiote típico de aguas más profundas (Iglesias-Prieto *et al.*, 2004). Por otro lado, el clado C tiene una amplia distribución en corales del género *Pavona* y *Pocillopora* separadas por un amplio intervalo latitudinal a lo largo del Pacífico Oriental, Central y Occidental, cuyas condiciones ambientales (irradiancia y temperatura) y factores bióticos modulan la especificidad del alga asociada (Iglesias-Prieto *et al.*, 2004; LaJeunesse *et al.*, 2003; LaJeunesse *et al.*, 2005). Por lo tanto, podría asumirse que las presiones a nivel local y regional podrían influir significativamente en la relación coral-zooxantelas.

2.2.3.2. Temperatura superficial del océano

Para tratar de responder a la interrogante sobre qué pasará con los corales y la relación simbiótica que mantienen con las zooxantelas frente al aumento de las temperaturas del océano se han realizado estudios experimentales. Rowan (2004) trabajó con especies de corales del género *Pocillopora* que albergaban zooxantelas del clado C y D, sometiéndolas a diferentes temperaturas. Sus resultados mostraron que a temperaturas elevadas (32.5°C) el clado C sufrió una fotoinhibición crónica que resultó en daños en el fotosistema II (PSII), resultando en una disminución en la fotosíntesis neta máxima ($P_{\max}^{\text{net}}$). Además, en altas temperaturas, la relación $P_{\max}^{\text{net}}$ con la respiración (R) decreció en un 31% haciendo que los hospederos fueran menos autótrofos que los corales con clado D, cuyas zooxantelas sufrieron muy pocos daños, mostrando una fotoinhibición dinámica y reversible del PSII (fotoprotección). Silverstein *et al.* (2017) observaron patrones similares de resistencia de los subclados C3 y D1 de *Montastraea cavernosa* al someterse a temperaturas elevadas (35°C máxima) y a bajas temperaturas (15°C mínima). A 33°C, ambos subclados de zooxantelas experimentaron el mismo grado de daño al PSII, aunque los corales con el subtipo C3 perdieron el 98.8% de sus simbios, mientras que los que hospedaron al subtipo D1 no sufrieron blanqueamiento. A 15°C, los corales con el subtipo D1 sufrieron más daños que los corales con el subtipo C3, pero no se blanquearon, mientras que los corales con el subtipo C3 perdieron al 94% de sus simbios. Esta respuesta evidencia que el clado D puede conferir una alta resistencia térmica a los corales hospederos. Por otro lado, los estudios exclusivos de los simbios han mostrado respuestas diferentes, como el trabajo de Chakravarti y van Oppen (2018), en el que al someter a varios subclados de *Symbiodinium* (A3c, D1, F1, G3) a diferentes temperaturas (27°C, 30°C, 31°C, 33°C y 34°C), los subclados F1 y G3 mostraron la mayor tolerancia térmica. Estos resultados muestran la importancia de analizar la contribución del hospedero bajo condiciones de estrés.

2.2.4. Blanqueamiento coralino

El blanqueamiento coralino también influye en la interacción coral-zooxantela, pues las colonias de coral pueden mostrar cambios en la dominancia de los clados de zooxantelas presentes, después de episodios de blanqueamiento. Por ejemplo, en los corales *Montastraea annularis* y *M. faveolata* en el Océano Atlántico, este fenómeno favoreció una dominancia

de un clado que se adapta mejor bajo condiciones de blanqueamiento, el clado A sobre los clados B y C (Rowan *et al.*, 1997). En corales del género *Pocillopora* en Panamá, y en *Acropora millepora* en la Gran Barrera Arrecifal, el evento “El Niño” 1997-98 favoreció la dominancia del clado D sobre el clado C (Baker *et al.*, 2004; Berkelmans y van Oppen, 2004). Otra respuesta que ha sido documentada es la de mantener el mismo clado de zooxantelas antes y después del blanqueamiento (estabilidad en la simbiosis). Tal es el caso documentado por Stat y colaboradores (2009) en la Gran Barrera Arrecifal, en donde, durante el evento de El Niño del año 2002, de las 7 especies de corales que se blanquearon, todas recobraron sus simbiontes originales, los cuales pertenecían a los clados C y D.

Es importante mencionar que a causa de los factores que intervienen en los corales y zooxantelas, aún es complicado predecir los efectos resultantes del blanqueamiento sobre la composición de las zooxantelas en los hospederos. En el Caribe, por ejemplo, después de un episodio de blanqueamiento causado por el evento “El Niño” 1997-1998, hubo respuestas distintas en 6 de las especies de corales estudiadas (*Acropora palmata*, *A. cervicornis*, *Siderastrea siderea*, *Montastraea faveolata*, *M. annularis* y *M. franksi*). Mientras que la mayoría de las colonias de las primeras 4 especies mostraron muy poco cambio en la asociación de sus simbiontes, *M. annularis* y *M. franksi* mostraron cambios importantes en sus asociaciones, resultando en una dominancia del clado D (Thornhill *et al.*, 2006b).

3. HIPÓTESIS

La variabilidad en los patrones de blanqueamiento ha sido relacionada con la presencia de los distintos clados de *Symbiodinium* spp. que residen en los corales hospederos (Sampayo *et al.*, 2008). Por lo tanto, la respuesta diferencial al estrés térmico durante el evento El Niño 2015-2016 entre los corales de los distintos arrecifes coralinos de Guerrero, fue causada por la presencia de distintos clados de zooxantelas.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Caracterizar genéticamente las poblaciones de zooxantelas de los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero que tuvieron una respuesta diferencial ante el evento El Niño 2015-2016.

4.2. Objetivos específicos

- Identificar los clados de las poblaciones de zooxantelas simbiotes de los corales de la especie *Pocillopora verrucosa* de los arrecifes de Zihuatanejo, Guerrero mediante el uso de los marcadores ITS2 y 28S.
- Determinar la diversidad y la estructura genética de las poblaciones de zooxantelas presentes en los arrecifes de Zihuatanejo, Guerrero.

5. CARACTERÍSTICAS DEL ÁREA DE ESTUDIO

Zihuatanejo, Guerrero se localiza en la porción noroeste del litoral del estado de Guerrero, la cual se encuentra dentro del litoral del Pacífico Tropical Mexicano (Lankford, 1974). El clima que predomina es cálido sub-húmedo (AW' o (w) i), presentando lluvias abundantes en verano (mayo-agosto) y escasas lluvias invernales (diciembre-enero) (García, 1981). Las temperaturas máximas se presentan durante junio y agosto (meses de canícula) mientras que las temperaturas mínimas se registran en los meses de febrero y marzo. La temperatura media es de 26.3°C (Urbano, 2004). El régimen pluvial es tipo torrencial con una precipitación media anual entre 800 a 1500 mm (Hernández-Ramírez, 2006).

5.1. Características fisiográficas

En la franja costera de Guerrero hay contacto entre la Placa de Cocos y la Placa Americana. Por ello esta es una costa de colisión por movimientos diastróficos, con fallas (Weinborn, 1977). Esta zona corresponde a un litoral rocoso con acantilados encontrándose también playas arenosas en las bahías. La plataforma continental es angosta de relieve suave y desde la costa presenta una amplitud de 10 km en promedio y con una pendiente que oscila entre 0°15' y 1°54' y bordea la costa de Guerrero a lo largo de 420 km (Lankford, 1974; Medina-Rosas, 2000). La zona costera de Zihuatanejo se caracteriza por tener fondos rocosos en gran proporción (Medina-Rosas, 2000), especialmente en la porción superior hacia el noroeste, donde predominan los afloramientos rocosos y se intercalan distintos tipos de playas (Candelaria, 1985; López-Gómez, 1993). Por otra parte, en la mitad inferior sureste predominan los fondos arenosos (80%) y en menor magnitud fondos rocosos. No obstante, existen arrecifes coralinos a una profundidad no mayor de 10 m (Carriquiry y Reyes-Bonilla, 1997; Candelaria, 1985; López-Gómez, 1993). La costa de Guerrero se encuentra dentro de la Vertiente Hidrológica Occidental, donde la desembocadura del Río Balsas, situado a 60 km al noroeste de la Isla Ixtapa, es una fuente importante que aporta sedimentos hacia los arrecifes de la región e influye en la salinidad local (Baqueiro, 1979; Salcedo-Martínez *et al.*, 1988). A la vez, la Bahía de Zihuatanejo recibe la descarga de pequeños arroyos que forman esteros en su parte alta. Al sur, el Río Petatlán es el aporte de agua dulce más cercano; al

norte, el Río Ixtapa desemboca frente al sector norte de la Isla (Salcedo- Martínez *et al.*, 1988).

5.2. Características oceanográficas

La circulación oceánica cambia estacional e interanualmente, debido a que en la región convergen la Corriente de California (fría, baja salinidad y alto contenido de oxígeno) que fluye en dirección sur y se mantiene de noviembre a abril. Entre febrero y abril se intensifica y es desviada al oeste antes de los 20°N para conformar el principal aporte de la Contracorriente Norecuatorial. Esta se forma de nuevo de mayo a julio y junto con la Corriente Costera de Costa Rica fluyen hacia el noroeste. Esta última transporta aguas de origen tropical, caracterizadas por sus temperaturas superficiales elevadas, alta salinidad y escasa concentración de oxígeno (Hubbs y Roden, 1964; Wyrski, 1965; Fiedler, 1992). En septiembre no hay un claro patrón de circulación, pero se mantiene en flujo ascendente. A partir de octubre comienza un movimiento descendente, el cual puede estar relacionado con circulaciones locales (Wyrski, 1965). En la época de lluvias los vientos predominantes son del sureste y durante la época de la sequía predominan los del noroeste (Ahumada-Martínez *et al.*, 2015). Esto provoca un cambio en la temporada de octubre a marzo (Briones y Lozano, 1977). En cuanto a la temperatura superficial, los valores mínimos oscilan entre 20 y 24.4°C en primavera y los valores máximos oscilan entre 30 y 32°C en verano. La salinidad varía entre 32 y 36 UPS a lo largo del año (Tovar y Sánchez, 1974; Baqueiro, 1979; Briones y Lozano, 1977; Salcedo-Martínez *et al.*, 1988; Fiedler, 1992). En las costas de Guerrero, la termoclina se extiende hasta los 60 m de profundidad aproximadamente (Salcedo-Martínez *et al.*, 1988; Fiedler, 1992; Hernández-Ramírez, 2006). Las mareas son de tipo mixto semidiurno y el intervalo medio de las mareas es de alrededor de 50 cm (Mendoza-González y Mateo-Cid, 1998), alcanzando un máximo de 60 cm de amplitud con la marea de sicigias (Salcedo-Martínez *et al.*, 1988). La acción del oleaje varía dependiendo de la configuración del litoral y de la época del año: la dirección sigue una tendencia general sur-norte, durante época de lluvias y en la época de huracanes se incrementa su intensidad (García-Martínez, 2009).

5.3. Arrecifes Coralinos

5.3.1. Islote Zacatoso

El arrecife de Islote Zacatoso (17° 39' 13.2" N y 101° 37' 13.3" W) se ubica en la costa oeste del islote (**Fig. 2**). Esta estructura presenta un buen estado de conservación y una alta cobertura coralina, de hasta 67% (Nava *et al.*, 2013). El arrecife forma una estructura tridimensional con macizos y canales distintos al contorno del fondo. El arrecife termina en una plataforma arenosa donde se encuentran colonias aisladas de coral, mientras que el extremo más somero termina donde toca la pared de piedra del islote (Salcedo-Martínez *et al.*, 1988; Reyes-Bonilla, 2003; Zamorano y Leyte-Morales, 2009). La comunidad coralina está constituida por colonias ramificadas del género *Pocillopora*, corales incrustantes del género *Pavona* y colonias masivas del género *Porites* (López-Pérez *et al.*, 2012). Nava y colaboradores (2013) reportaron que los principales elementos que cubren el sustrato del arrecife son los corales vivos, las rocas, la arena, las algas calcáreas, las algas foliosas y las algas filamentosas. En este arrecife se han registrado los niveles de sedimentación más bajos de la zona, con un promedio de $0.524 \pm 0.396 \text{ kg m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, una visibilidad mayor a $9.67 \pm 2.44 \text{ m}$, una temperatura promedio de $29.20 \pm 1.64 \text{ °C}$ y es el segundo arrecife con mayores niveles de irradiancia con $9037.9 \pm 4520.40 \text{ lux}$ (Chávez-Fuentes, 2016; Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018; Alvarado-Rodríguez *et al.*, 2019). También presenta niveles altos de ^{15}N (9.5‰), el cual es un indicador de contaminación por aguas residuales. Esto podría ser atribuible a su proximidad con el complejo turístico de Ixtapa, el cual soporta altas densidades de población (Nava *et al.*, 2013).

5.3.2. Playa Las Gatas

Playa Las Gatas (17°37'16.8"N y 101°33'08.5" W) se localiza dentro de la bahía de Zihuatanejo (**Fig. 2**). En línea recta y de extremo a extremo tiene una longitud de 350 m (López-Gómez, 1993). El sustrato que predomina es el rocoso, con una complejidad topográfica alta, ya que cuenta con macizos de roca que van desde fragmentos de 20 cm hasta cantos rodados de 2 m de diámetro (Urbano, 2004). En esta localidad se encuentra una comunidad de corales escleractinios dominada por especies del género *Pocillopora* (García-Martínez, 2009), que desde hace algunas décadas ha sufrido un intenso impacto antropogénico que ha reducido la cobertura de coral a menos del 8% (Nava *et al.*, 2013). Nava y colaboradores (2013) reportaron que es un arrecife poco conservado y los altos

niveles de exposición a los impactos antropogénicos se ven reflejados en la alta concentración de clorofila (1.0 mg m^{-3}) y niveles altos de ^{15}N (9.5‰). Aunque el sitio presenta una sedimentación de $0.687 \pm 0.741 \text{ kg m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, considerada como relativamente baja y una temperatura promedio de $28.98 \pm 1.79 \text{ °C}$, la contaminación por aguas residuales es preocupante debido a la proximidad al puerto de Zihuatanejo (Nava *et al.*, 2013; Chávez-Fuentes, 2016; Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018; Alvarado-Rodríguez *et al.*, 2019). Aunque la transparencia del agua es baja ($6.71 \pm 0.90 \text{ m}$) la irradiancia alcanza niveles de $10010.71 \pm 4385.47 \text{ lux}$ (Chávez-Fuentes, 2016; Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018; Alvarado-Rodríguez *et al.*, 2019).

5.3.3. Caleta de Chon

El arrecife de Caleta de Chon ($17^{\circ} 36' 52.8''\text{N}$ y $101^{\circ} 33' 16.3''\text{W}$) se extiende sobre estructuras rocosas desde los 2 m de profundidad hasta los 10 m, finalizando en un plano rocoso. El arrecife de este sitio tiene una estructura bordeante y se localiza en una ensenada, la cual se ve afectada por la erosión costera provocada por la deforestación, y por prácticas de buceo y snorkel no reguladas (Nava y Ramírez-Herrera, 2012; Nava *et al.*, 2013). Con niveles de hasta $1.8 \pm 1.97 \text{ kg m}^{-2} \text{ día}^{-1}$, el sitio presenta la mayor tasa de sedimentación del área de estudio y la segunda transparencia más baja, con $8.76 \pm 2.43 \text{ m}$. Los niveles de temperatura e irradiancia son los más bajos ($28.21 \pm 2.03 \text{ °C}$ y $8716.11 \pm 5532.10 \text{ lux}$, respectivamente (Ruiz-Cervantes, 2016; Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018). Sólo se puede acceder a este arrecife por medio de embarcaciones pequeñas o caminando por una vereda entre Playa Las Gatas y Caleta de Chon (García-Martínez, 2009). La estructura cuenta con un 51.4% de cobertura de coral vivo, representada por las especies de *Pocillopora meandrina*, *P. inflata*, *P. eydouxi*, *P. effusus*, *P. damicornis*, *P. capitata*, *P. panamensis*, *P. verrucosa*, *Pavona clavus*, *Pavona gigantea* y *Porites lobata*. De estas, *P. verrucosa* es el principal componente de la estructura (Vázquez-Delfín, 2008; López-Pérez *et al.*, 2012; Nava y Ramírez-Herrera, 2012; Nava *et al.*, 2013).

5.3.4. Playa Riscalillo

El arrecife de Playa Riscalillo ($17^{\circ} 37' 0.7''\text{N}$ y $101^{\circ} 31' 3.5''\text{W}$) se localiza a 4 km de la bahía de Zihuatanejo en una playa abierta con un fondo rocoso que permite el crecimiento coralino desde los 2 m de profundidad. Presenta una alta sedimentación e irradiancia con $1.276 \pm$

0.559 kg m⁻² día⁻¹ y 9877.82 ± 967.26 lux, respectivamente. Es el segundo arrecife con los registros más altos de transparencia y temperatura (9.62 ± 2.10 m y 29.82 ± 1.20 °C, respectivamente, Nava *et al.*, 2013; Garibay-Valladolid, 2018; Nava *et al.*, 2018). No presenta señales de daño físico y hasta el año 2015 se consideraba una de las formaciones arrecifales más importantes de la región, por su gran extensión y cobertura coralina (Hernández-Ramírez, 2006). Este arrecife está constituido principalmente por corales ramificados del género *Pocillopora*, corales incrustantes del género *Pavona* y corales masivos del género *Porites* (López-Pérez *et al.*, 2012).



Fig. 2. Localización del área de estudio a) Islote Zacatoso, b) Playa Las Gatas, c) Caleta de Chon y d) Playa Riscalillo.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. Trabajo de campo

Las muestras de *Pocillopora verrucosa* fueron colectadas en los cuatro arrecifes coralinos (Playa Las Gatas, Caleta de Chon, Islote Zacatoso y Playa Riscalillo) de Zihuatanejo, Guerrero durante el mes de enero de 2018 y junio de 2019. En cada arrecife cada año se hicieron incursiones con equipo de buceo autónomo a profundidades de entre 4 y 12 m para recolectar 50 fragmentos de ~2 cm de largo usando unas pinzas de metal (5 fragmentos de 10 colonias). Una vez recolectados, se guardaron en frascos de plástico de 15 mL con etanol al 70% y se almacenaron en un ultracongelador a una temperatura de -70°C, hasta que fueron procesados en el laboratorio.

6.2. Trabajo de laboratorio

6.2.1. Extracción

Para la extracción de ADN se usaron 109 fragmentos de coral (**Tabla S1**), el resto se guardó para posteriores estudios. Se utilizó el kit Genomic DNA Mini Kit de PureLink® (Invitrogen) siguiendo el siguiente protocolo: se colocó una submuestra de coral de 1 cm³ en un tubo Eppendorf con 180 µL de Digestion Buffer y 20 µL de Proteinasa K. El lisado se incubó a 55°C por 1 hora, seguido de una centrifugación a 13,000 revoluciones por minuto (rpm) por 3 min. El sobrenadante se transfirió a un nuevo tubo Eppendorf para adicionarle 20 µL de RNasa. Se agitó e incubó por 2 min a temperatura ambiente. Se agregaron 200 µL de buffer Lysis/Binding, 200 µL de etanol y se agitó por 5 s. Después se añadió el lisado a una columna con tubo de colecta, se centrifugó por 1 min a 10,000 rpm a temperatura ambiente y se cambió el tubo de colecta. Posteriormente se agregó 500 µL del Wash Buffer 1 al lisado, se centrifugó a 10,000 rpm por 1 min a temperatura ambiente, se descartó el tubo de colecta por uno nuevo y se agregó 500 µL de Wash Buffer 2. Se centrifugó a 13,000 rpm por 3 min a temperatura ambiente y se cambió el tubo de colecta. Finalmente, se añadieron 50 µL de Elution Buffer, se incubó durante 1 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 13,000 rpm por 1 min. El ADN se guardó a -20°C.

6.2.2. Amplificación y secuenciación del ADN

Como marcadores moleculares se utilizaron las regiones del ITS2 y el 28S, los cuales fueron amplificados por Reacción en Cadena de la Polimerasa (Polymerase Chain Reaction, PCR, por sus siglas en inglés) utilizando los primers diseñados por Appril y colaboradores (2007) y Tong y colaboradores (2018). Los primers para la región 28S fueron 28S forward (GCC GAC CCG CTG AAT TCA AGC ATA T) y 28S reverse (TGT GGC AYG TGA CGC GCA AGC TAA), y para la región ITS2 fueron ITSIntfor2” (5’GAATTGCAGA ACTCCGTG-3’) e “ITS2CLAMP” (5’CGCCCGCCGCGCCCGCGCC CGTCCCGCCG CCCCCGCCC GGGATCCATATGCT-TAAGTTCAGCGGGT-3’). Las amplificaciones se realizaron en un volumen de reacción de 24 µL conteniendo 12 µL de PCR Master Mix ,5.6 µL de H₂O, 1.2 µL de BSA (Albúmina de Suero Bovino), 0.6 µL del primer forward, 0.6 µL del primer reverse y 4µL de ADN. La mezcla se incubó en un termociclador (Applied Biosystems Veriti™ 96) a 94 °C por 5 min seguido de 30 ciclos (desnaturalización a 94 °C por 30 s; alineamiento a 53 °C por 1 min y extensión a 72 °C por 2 min) con una extensión final a 72°C por 10 min. El producto de PCR se visualizó por electroforesis en un gel de agarosa al 1% con 0.7 µL de SyBR Safe a un voltaje constante de 100 V durante 30 min. De los 102 fragmentos se logró amplificar 99 con el marcador ITS2 (24 fragmentos de Islote Zacatoso, 24 de Playa Las Gatas, 25 de Caleta de Chon y 26 de Playa Riscalillo) y 102 con el marcador 28S (26 fragmentos de Islote Zacatoso, 24 en Playa Las Gatas, 26 en Caleta de Chon y 26 en Playa Riscalillo). Una vez amplificados, los fragmentos de ADN se mandaron a secuenciar usando el primer forward a Macrogen USA Corp. Las secuencias resultantes fueron editadas y alineadas con los programas bioinformáticos BioEdit v. 7.0.5.3 (Hall, 1999) y MEGA v. 10.0.5 (Kumar *et al.*, 2018). La función de Phase del programa DnaSP v. 6 (Rozas *et al.*, 2017) se usó para la separación de haplotipos ante la presencia de heterocigotos.

6.2.3. Análisis de datos

Se construyeron dos árboles filogenéticos con las secuencias obtenidas con los marcadores moleculares 28S e ITS2 de las zooxantelas de nuestra área de estudio. Se usó el marcador molecular 28S por ser una región útil para la identificación a nivel de clado debido a que es una subunidad de ADN ribosomal nuclear altamente conservada (Hirai *et al.*, 2013). La

región ITS2 es un buen marcador molecular a nivel de especie (Coleman, 2003), por lo cual se usó para identificar los diferentes subclados del clado D. Se optó por esta opción porque al ser un marcador más variable no se logró recuperar la topología a nivel de clados. El primer árbol incluyó las secuencias de este estudio del marcador 28S (**Tabla S1**) y las secuencias de los diferentes clados de zooxantelas de *Symbiodinium* obtenidas de GenBank correspondientes al marcador 28S (A, B, C, D, E, F y G) (**Tabla S2**), para determinar con qué clado(s) se agrupan las secuencias de las poblaciones de zooxantelas de los corales de Zihuatanejo, Guerrero. El dinoflagelado *Gymnodinium beii* (AF060900) fue incluido en el análisis como grupo externo. El segundo árbol incluyó las secuencias de este estudio del marcador ITS2 (**Tabla S1**) y las secuencias de los subclados del clado D obtenidas de GenBank correspondientes al marcador ITS2 (**Tabla S3**). En este árbol se incluyó la secuencia del dinoflagelado *Gymnodinium limneticum* (KR362895) como grupo externo. Las asignaciones de clado de *Symbiodinium* y los números de acceso de GenBank de todas las secuencias de nuestro análisis se incluyen en **Tabla S2 y S3**. Así, para la reconstrucción filogenética de los árboles se usó el método de inferencia Bayesiana con el programa MrBayes, v. 3.2.6 (Ronquist *et al.*, 2012) usando los modelos de evolución TIM1+I+G y TVM+G obtenidos con JModelTest (Posada, 2008). Cuatro cadenas simultáneas de Markov fueron corridas por 5,000,000 de generaciones con árboles muestreados cada 100 generaciones. El árbol consenso se visualizó y editó con el programa FigTree v. 1.4.4 (Rambaut, 2009).

Posteriormente, se estimaron los niveles de diversidad genética intrapoblacional de las zooxantelas (por cada uno de los arrecifes coralinos), calculando la diversidad haplotípica (h) y la diversidad nucleotídica (π) con el programa DnaSP v. 6 (Rozas *et al.*, 2017). Se infirieron las relaciones entre los diferentes haplotipos de las secuencias de *Symbiodinium* spp. mediante una red de haplotipos calculada mediante parsimonia estadística usando el método de Templeton, Crandall y Sing (1992) con el software PopART v. 4.8.4 (Clement *et al.*, 2002). El análisis de varianza molecular (AMOVA) (Excoffier *et al.*, 1992) se utilizó para determinar cómo la variación genética estuvo distribuida entre las poblaciones de las zooxantelas agrupadas por arrecifes coralinos, usando el programa Arlequin v. 3.5.2.2 (Excoffier y Lischer, 2010).

7. RESULTADOS

7.1. Árbol filogenético

7.1.1. 28S

Con el marcador 28S se obtuvieron 102 secuencias de ADN. La longitud del alineamiento fue de 419 pares de bases. La topología del árbol obtenido fue congruente con la del árbol donde se reconstruyeron las relaciones de los clados de zooxantelas (Stat *et al.*, 2006). Los resultados mostraron que el 100% de las secuencias obtenidas en los cuatro arrecifes coralinos formaron un grupo monofilético dentro del clado D, soportado con probabilidad posterior de 1 (**Fig. 3**). Este clado fue hermano de los clados G, F, H, C y B, y su relación filogenética fue soportada con una probabilidad posterior de 0.99. La relación filogenética de los clados G, F, H y B fue soportada con una probabilidad de 0.6, los cuales a su vez se dividieron en dos grupos: en el primero se encontró el clado G con 0.78 de probabilidad posterior, mientras que el segundo grupo se volvió a dividir en dos grupos soportados por una probabilidad posterior de 1, uno contuvo las secuencias del clado B y el otro grupo las secuencias de los clados C, H y F.

7.1.2. ITS2

Con el marcador ITS2 se consiguieron 99 secuencias de ADN. La longitud del alineamiento del marcador ITS2 fue de 268 pares de bases. Los resultados mostraron que el 100% de las secuencias de *Symbiodinium* obtenidas de los cuatro arrecifes coralinos se agruparon entre sí. Este grupo fue hermano del grupo que contuvo los subclados D1.1 y D1.2 provenientes de secuencias de referencia de Micronesia y Japón, respectivamente; su relación filogenética fue soportada por una probabilidad posterior de 0.82 (**Fig. 4**). Después tenemos la presencia de una politomía donde están varios grupos, en uno de estos grupos se encuentra las secuencias pertenecientes al clado D de zooxantelas de Japón y Hong Kong y a una secuencia al subtipo D15 de Corea, soportando su relación filogenética con una probabilidad posterior de 0.85. Los otros grupos con un soporte de probabilidad posterior de 0.93 y 0.9 pertenecieron al subclado D1.9 y al clado D provenientes de Singapur, respectivamente. Otros subclados como D1, D1a, D4, D1.8, D1.10, D1.11, D1.12, D1.6 y D1.3 son parte de esta politomía sin formar grupo alguno.

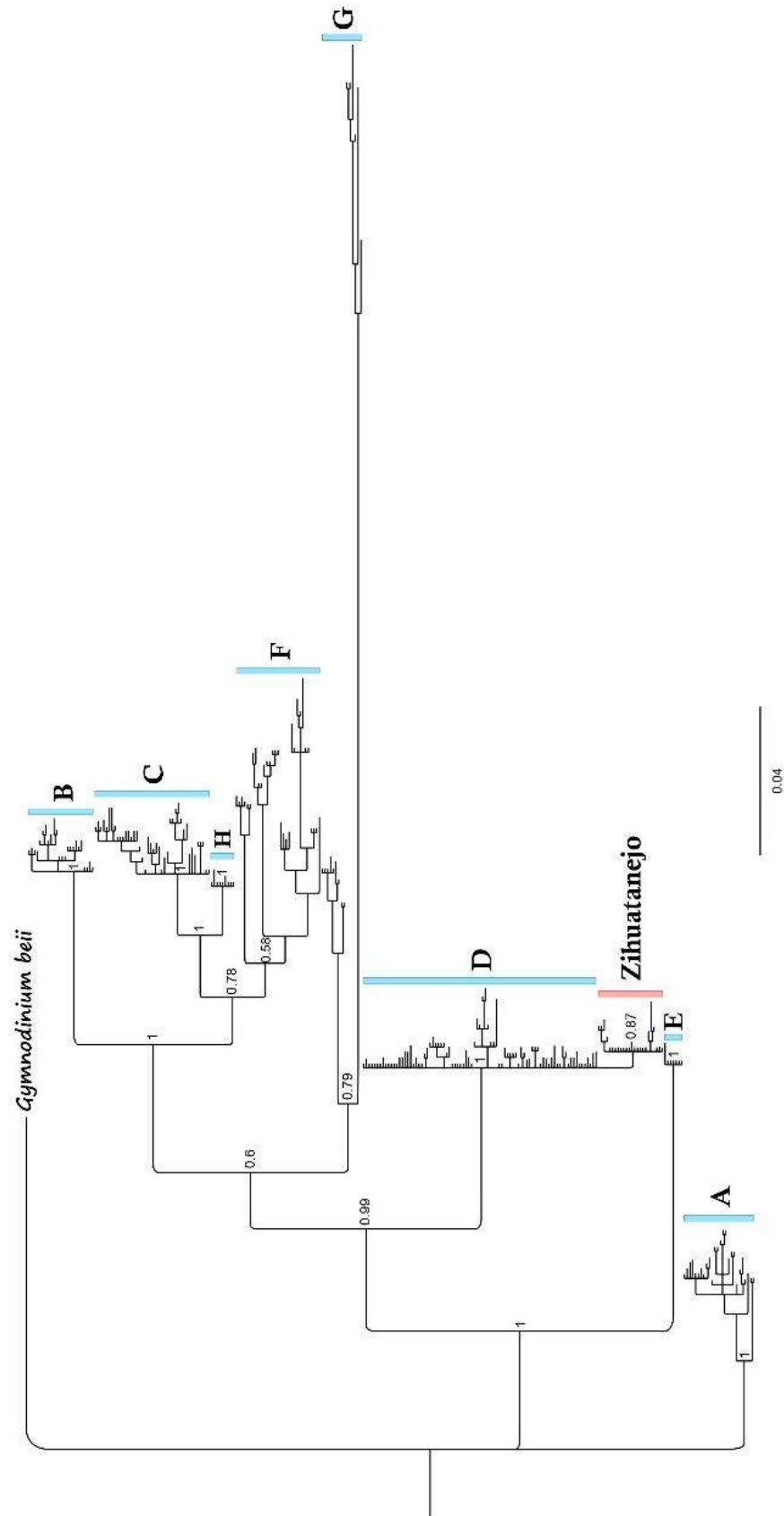


Fig. 3. Árbol Bayesiano construido con las secuencias obtenidas con el marcador molecular 28S de *Symbiodinium* spp. de GenBank y de los cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo) de los años 2018 y 2019.

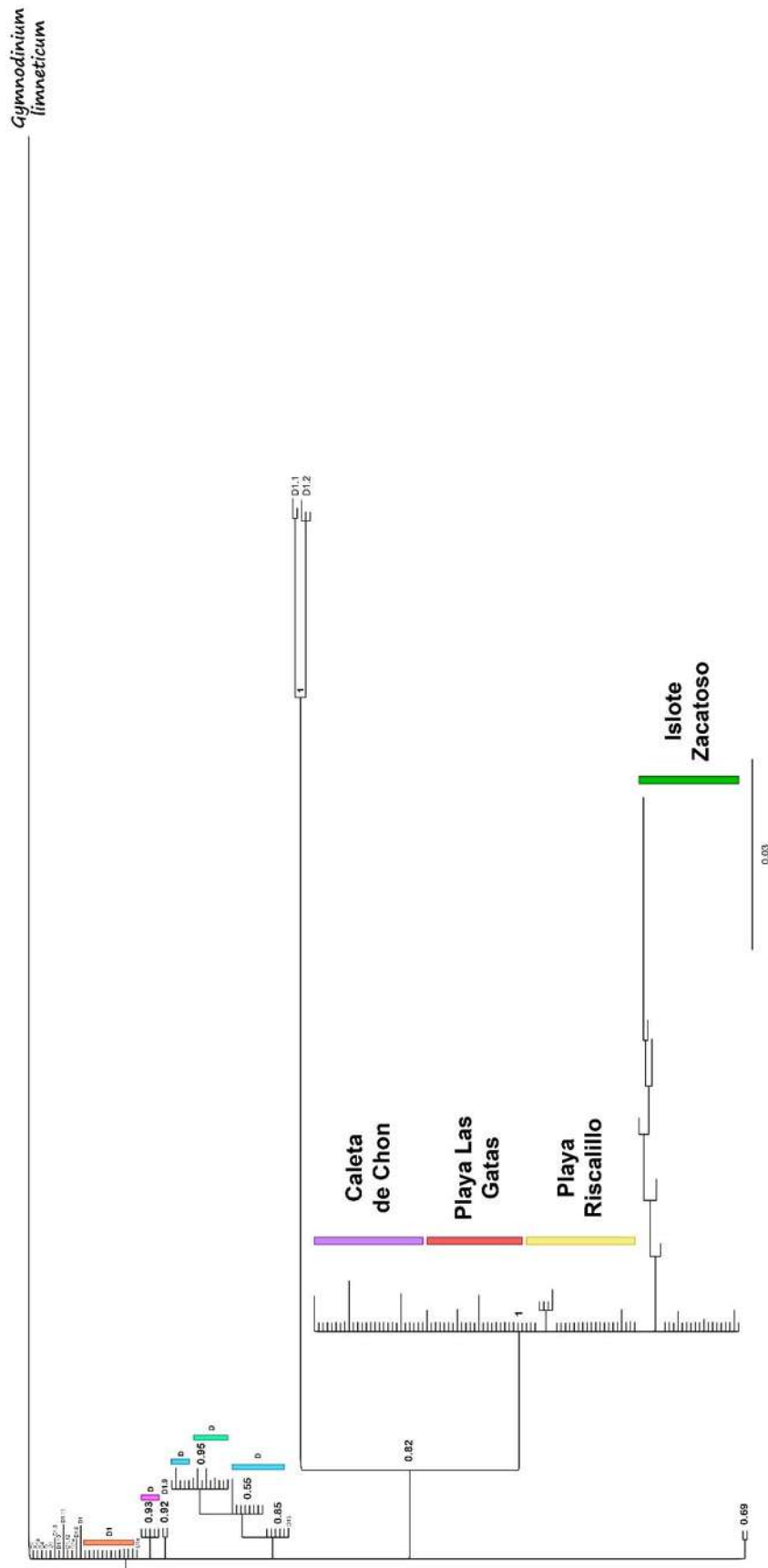


Fig. 4. Árbol Bayesiano construido con el programa MrBayes para el clado D con las secuencias obtenidas para *Symbiodinium* spp. con el marcador molecular ITS2 de GenBank y de cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, , Caleta de Chon y Playa Riscalillo) de los años 2018 y 2019.

7.2. Relaciones entre haplotipos

7.2.1. 28S

La red de haplotipos de parsimonia estadística elaborada con las secuencias obtenidas con marcador molecular 28S de los muestreos de 2018 y 2019 mostró una sola red con 5 haplotipos (**Fig. 5**). El haplotipo ancestral y el más común fue el I, el cual se encontró presente en el 91% de los fragmentos de coral de los cuatro arrecifes, colectados durante ambos años. Cuatro haplotipos (II, III, IV y V) se separaron del haplotipo I por un paso mutacional. Los haplotipos II y III correspondieron a muestras de zooxantelas colectadas durante el año 2018; el haplotipo II se encontró en Islote Zacatoso y Caleta de Chon, mientras que el III solamente se encontró en Playa Riscalillo. Los haplotipos IV y V se obtuvieron de muestras colectadas durante año 2019. El haplotipo IV se encontró en las muestras de zooxantelas de los cuatro arrecifes coralinos, mientras que el V solo estuvo presente en Playa Las Gatas.

7.2.2. ITS2

La red de haplotipos de parsimonia estadística elaborada con las secuencias obtenidas con marcador molecular ITS2 de los muestreos de 2018 y 2019 mostró una sola red con 28 haplotipos; 17 haplotipos distintos se registraron durante el año 2018 y 11 más se sumaron durante el 2019 (**Fig. 6**). El haplotipo ancestral y el más común fue el VI, el cual estuvo presente en el 78.8% de los fragmentos de coral colectados en los cuatro arrecifes coralinos durante ambos años. Los haplotipos que se separaron del haplotipo ancestral con menos pasos mutacionales fueron los haplotipos VII, VIII, IX, X, XI, XII, XIII, XX y XXI provenientes de muestras colectadas en los cuatro arrecifes durante el año 2018 y 2019. Los haplotipos más lejanos al ancestral pertenecieron al Islote de Zacatoso, los colectados durante el 2018 fueron XXXIII, XXXII, XXXI, XXX, XVII, XVIII y XIX, mientras que, los siguientes haplotipos XXIX, XXVIII, XXVII y XXVI fueron colectados en 2019. Los haplotipos XXIII, XXIV y XXV fueron colectados en el año 2019 en Playa Riscalillo, estos fueron haplotipos intermedios entre el haplotipo ancestral y algunos de los haplotipos más lejanos.

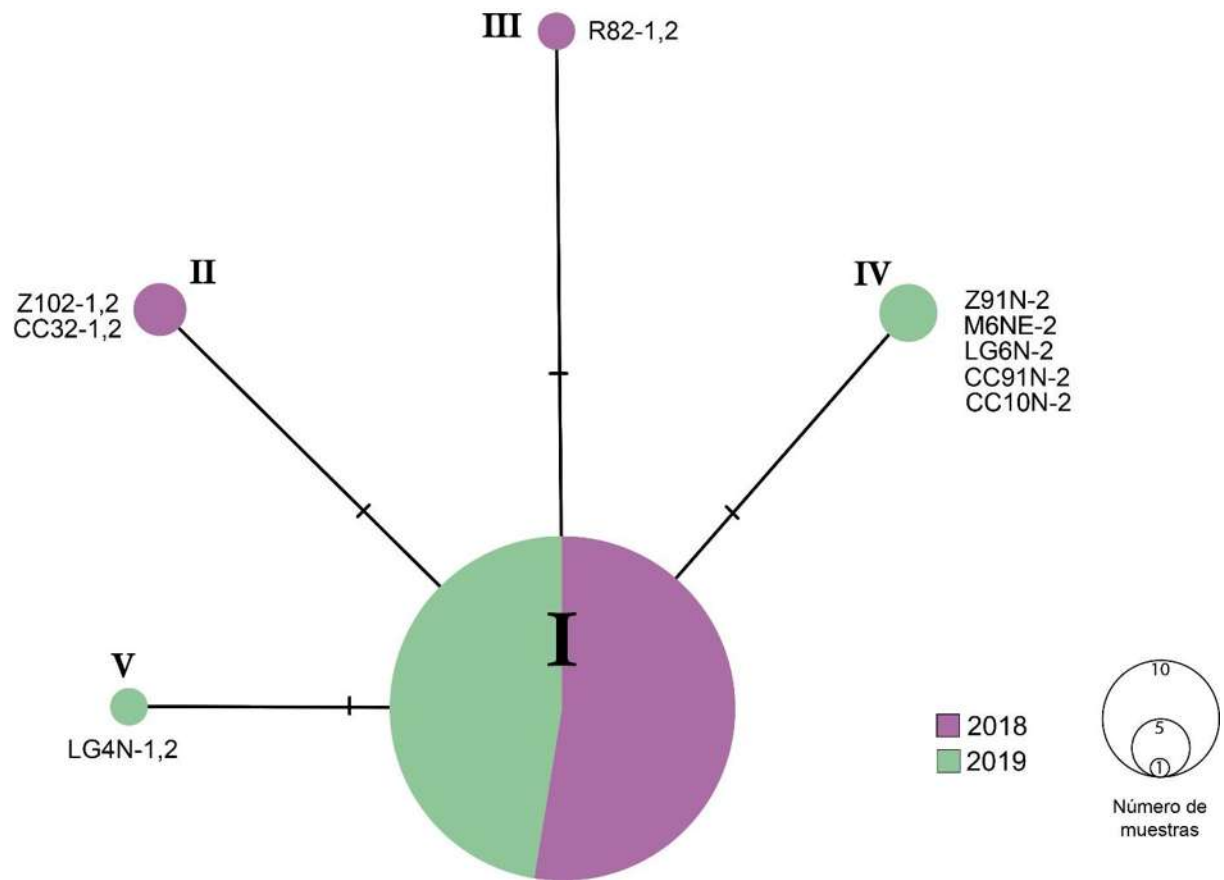


Fig. 5. Red de haplotipos construida con el programa PopART usando el marcador molecular 28S para los años 2018 y 2019. Las líneas transversales representan pasos mutacionales. Z=Islote Zacatoso, LG=Playa Las Gatas, CC= Caleta de Chon y R o M= Playa Riscalillo.

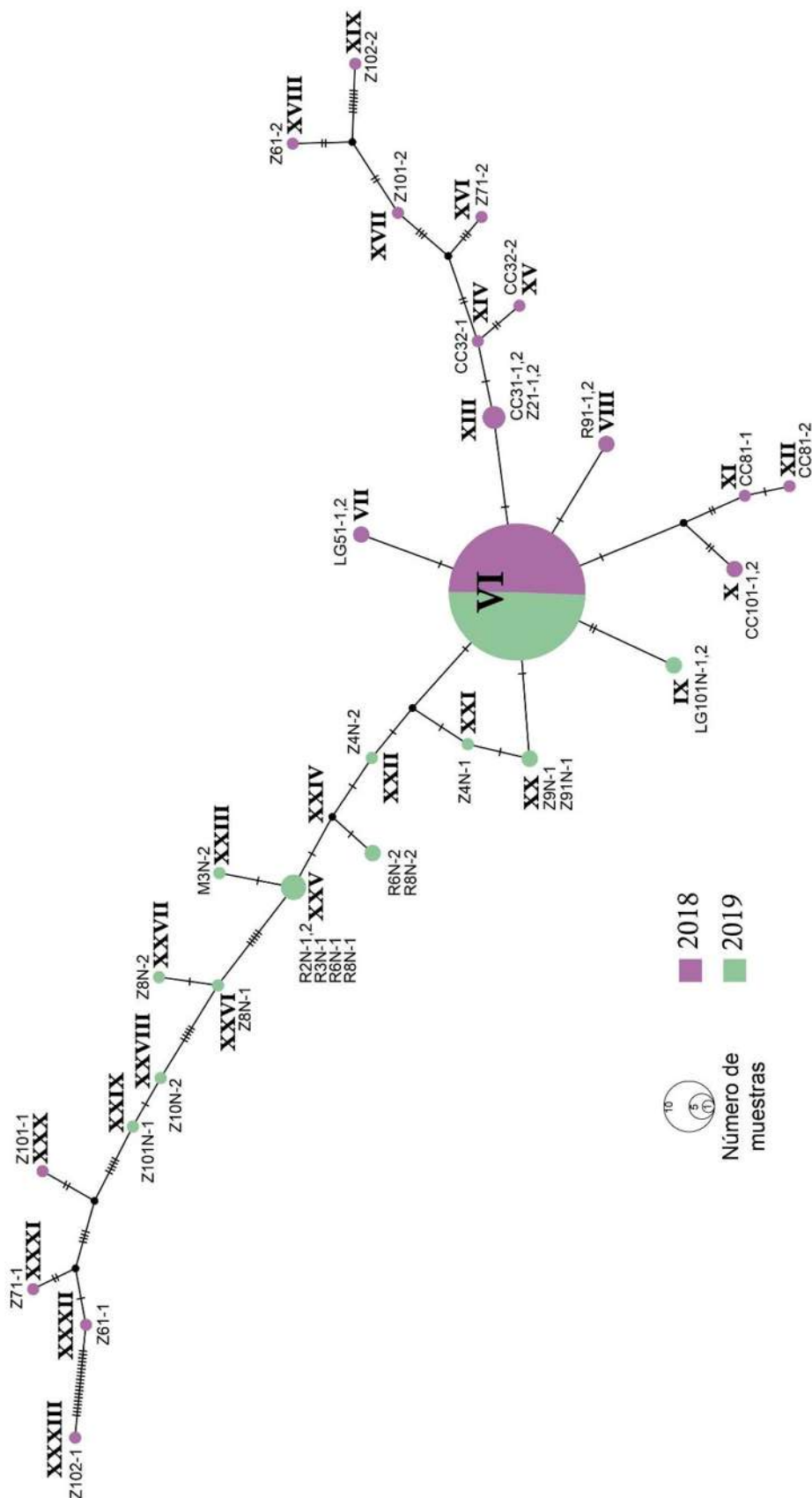


Fig. 6. Red de haplotipos construidas con el programa PopART usando el marcador molecular ITS2 para los años 2018 y 2019. Las líneas transversales representan pasos mutacionales Z=Islote Zacatosa, LG=Playa Las Gatas, CC= Caleta de Chon y Ro M= Playa Riscallio

7.3. Diversidad genética

7.3.1. 28S

La diversidad haplotípica (h) registrada en ambos años de muestreo varió entre 0.11 y 0.14 en los cuatro arrecifes coralinos, observándose 3 haplotipos diferentes en cada arrecife (**Tabla 1a**). La diversidad nucleotídica (π) varió entre 0.00034 y 0.00044 en todas las localidades indicando pocas mutaciones entre haplotipos. Durante el muestreo del año 2018 la diversidad haplotípica fue de 0.00 y 0.13; no obstante, los mayores valores los presentaron Islote Zacatoso, Caleta de Chon y Playa Riscalillo al presentar 2 haplotipos, seguidos de Playa Las Gatas con solo un haplotipo (**Tabla 1b**). Durante el año 2019 la diversidad haplotípica fue un poco mayor en comparación al año anterior; sin embargo, el arrecife que presentó una mayor diversidad fue Las Gatas ($h = 0.23$) con 3 haplotipos, seguido de Caleta de Chon ($h = 0.15$), Islote Zacatoso ($h = 0.09$) y Playa Riscalillo ($h = 0.08$) con solo 2 haplotipos (**Tabla 1c**).

El AMOVA no mostró que la diferenciación genética fuera significativa entre los arrecifes coralinos para los años 2018 y 2019 ($p = 0.55$, **Tabla 2a**). De la misma manera, las comparaciones pareadas de F_{ST} entre los arrecifes coralinos tampoco mostraron diferencias significativas (**Tabla 3a**). El AMOVA realizado con las secuencias del año 2018 tampoco mostró una variación significativa entre los arrecifes ($p = 0.22$, **Tabla 2b**), al igual que las comparaciones pareadas de F_{ST} (**Tabla 3b**). El AMOVA, y las comparaciones pareadas de F_{ST} realizados con las secuencias del año 2019 tampoco mostraron diferencias significativas (**Tablas 2c y 3c**).

7.3.2. ITS2

La diversidad haplotípica para ambos años varió entre 0.16 y 0.61 en los cuatro arrecifes coralinos (**Tabla 1d**). El arrecife con mayor diversidad haplotípica fue Islote Zacatoso, albergando hasta 17 haplotipos, le siguió Caleta de Chon con 7, Playa Riscalillo con 5 y Playa Las Gatas con 3 haplotipos. La diversidad nucleotídica fue entre 0.00107 y 0.02784 indicando varias mutaciones entre haplotipos. Durante el año 2018, la diversidad haplotípica fue entre 0.15 y 0.59, los mayores valores los presentaron Islote Zacatoso y Caleta de Chon, con 10 y 7 haplotipos, respectivamente, seguidos por Playa Riscalillo y Playa Las Gatas, con 2 haplotipos (**Tabla 1e**). En las muestras del año 2019 la diversidad haplotípica fue un poco menor en comparación con el año anterior; sin embargo, el arrecife que presentó una mayor

diversidad también fue el de Islote Zacatoso ($h = 0.64$) con 8 haplotipos, seguido por Playa Riscalillo ($h = 0.60$), Playa Las Gatas ($h = 0.15$) y Caleta de Chon ($h = 0.00$) cuyas muestras albergaron un solo haplotipo (**Tabla 1f**).

El AMOVA realizado con las muestras de ambos años mostró diferencias entre arrecifes coralinos ($p = 0.0002$). La mayor variación fue explicada por las diferencias entre las colonias de todos los arrecifes (92.80%) (**Tabla 2d**). De igual forma, las comparaciones pareadas de F_{ST} entre los arrecifes coralinos sí mostraron diferencias significativas, siendo Islote Zacatoso el arrecife más diferenciado, al compararlo con Caleta de Chon ($F_{ST} = 0.110$, $p = 0.0004$) y Playa Las Gatas ($F_{ST} = 0.106$, $p = 0.0005$) (**Tabla 3d**). Para el año 2018, el AMOVA también mostró diferencias significativas entre las muestras ($F_{ST} = 0.101$, $p < 0.001$) y la mayor variación fue explicada entre las colonias de todos los arrecifes (89.87%) (**Tabla 2e**). Así mismo, las comparaciones pareadas de F_{ST} entre los arrecifes también fueron significativas: Zacatoso fue el arrecife más diferenciado al compararlo con Playa Riscalillo ($F_{ST} = 0.129$, $p = 0.001$) y Playa Las Gatas ($F_{ST} = 0.128$, $p = 0.001$) (**Tabla 3e**). En el año 2019, el AMOVA también mostró diferencias significativas ($F_{ST} = 0.162$, $p < 0.001$) y al igual que para el año anterior, la mayor diferencia fue explicada entre las colonias de todos los arrecifes (83.71%) (**Tabla 2f**). Las comparaciones pareadas de F_{ST} entre los arrecifes coralinos fueron significativas y mostraron que Playa Riscalillo fue el arrecife más diferenciado, al compararlo con Caleta de Chon ($F_{ST} = 0.255$, $p = 0.004$) y Playa Las Gatas ($F_{ST} = 0.231$, $p = 0.002$). El segundo arrecife más diferenciado fue Islote Zacatoso, al compararlo con Caleta de Chon ($F_{ST} = 0.193$, $p = 0.0004$) y Playa Las Gatas ($F_{ST} = 0.181$, $p = 0.0008$) (**Tabla 3f**).

Tabla 1. Número de cada haplotipo encontrado, diversidad haplotípica y diversidad nucleotídica para cada arrecife coralino para el marcador 28S a) 2018 y 2019, b) 2018 y c) 2019) e ITS2 d) 2018-2019, e) 2018 y f) 2019). El número de fragmentos en los que está presente cada haplotipo se presenta entre paréntesis.

Localidad	Haplotipo	No. de haplotipos	Diversidad haplotípica (<i>h</i>)	Diversidad nucleotídica (π)
28S				
a) 2018-2019				
Islote Zacatoso	I(47), II(2), IV(1)	3	0.11	0.00034
Playa Las Gatas	I(45), IV(1), V(2)	3	0.12	0.00036
Caleta de Chon	I(48), II (2), IV(2)	3	0.14	0.00044
Playa Riscalillo	I(49), III(2), IV(1)	3	0.11	0.00034
b) 2018				
Islote Zacatoso	I(26), II (2)	2	0.13	0.0004
Playa Las Gatas	I(24)	1	0.00	0.0000
Caleta de Chon	I(26), II(2)	2	0.13	0.0004
Playa Riscalillo	I(26), III(2)	2	0.13	0.0004
c) 2019				
Islote Zacatoso	I(21), IV(1)	2	0.09	0.00024
Playa Las Gatas	I(21), IV(1), V (2)	3	0.23	0.00065
Caleta de Chon	I(22), IV(2)	2	0.16	0.00043
Playa Riscalillo	I(23) , IV(1)	2	0.08	0.00022
ITS2				
d) 2018-2019				
Islote Zacatoso	VI(30), XIII(2), XVI(1), XVII(1), XVIII(1), XIX(1), XX(2), XXI(1), XXII(1), XXVI(1), XXVII(1), XXVIII(1), XXIX(1)XXX(1), XXXI(1), XXXII(1), XXXIII(1)	17	0.61	0.02784
Playa Las Gatas	VI(44), VII(2), IX(2)	3	0.15	0.00107
Caleta de Chon	VI(42), X(2), XI(1), XII(1), XIII(2), XIV(1), XV(1)	7	0.29	0.00355
Playa Riscalillo	VI(42), VIII (2), XXIII(1), XXIV(2), XXV(5)	5	0.34	0.00666
e) 2018				

Islote Zacatoso	VI(20), XIII(2), XVI(1), XVII(1), XVIII(1), XIX(1), XXX(1), XXXI(1), XXXII(1), XXXIII(1)	10	0.59	0.03357
Playa Las Gatas	VI(22), VII(2)	2	0.15	0.00069
Caleta de Chon	VI(18), X(2), XI(1), XII(1), XIII(2), XIV(1), XV(1)	7	0.52	0.00654
Playa Riscalillo	VI(24), VIII (2)	2	0.26	0.00119
f) 2019				
Islote Zacatoso	VI(13), XX(2), XXI(1), XXII(1), XXVI(1), XXVII(1), XXVIII(1), XXIX(1)	8	0.64	0.02248
Playa Las Gatas	VI(22), IX(2),	2	0.15	0.00122
Caleta de Chon	VI(24)	1	0.00	0.0000
Playa Riscalillo	VI(15), XXIII(1), XXIV(1+1), XXV(2+3), M7NE-2	7	0.60	0.01141

Tabla 2. Resultados de análisis de varianza molecular (AMOVA) de los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo) por arrecifes para los años a) 2018-2019, b) 2018 y c) 2019 con el marcador 28S y con el marcador molecular ITS2 d) 2018-2019, e) 2018 y f) 2019.

	<i>df</i>	Suma de cuadrados	Componentes de varianza	Porcentaje de variación	Índice de fijación
28S					
a)2018-2019					
Entre arrecifes	3	1.006	-0.00332	0.00	$F_{st}=-0.000$
Entre las colonias	198	99.598	0.50302	100	$p=0.55$
Total	201	100.604	0.49970		
b) 2018					
Entre arrecifes	3	0.243	0.00102	1.87	$F_{st}= 0.018$
Entre las colonias	104	5.571	0.05357	98.13	$p=0.22$
Total	107	5.815	0.05459		
c) 2019					
Entre arrecifes	3	0.154	-0.00091	0.00	$F_{ST}= 0.012$
Entre las colonias	90	6.358	0.07264	100	$p=0.76$
Total	93	6.691	0.07173		
ITS2					
d)2018-2019					
Entre arrecifes	3	52.801	0.28216	7.20	*$F_{ST}=- 0.000$
Entre las colonias	194	705.906	3.63869	92.80	$p=0.0002$
Total	197	758.707	3.92085		
e) 2018					
Entre arrecifes	3	23.671	0.22331	10.13	*$F_{ST}= 0.101$
Entre las colonias	102	202.008	1.98047	89.87	$p<0.001$
Total	105	225.679	2.20378		
f) 2019					
Entre arrecifes	3	18.398	0.21828	16.29	*$F_{ST}= 0.162$
Entre las colonias	88	98.700	1.12159	83.71	$p<0.001$
Total	91	117.098	1.33987		

*Valores significativos en $p<0.05$

Tabla 3. Comparaciones pareadas de F_{st} entre los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero (Islote Zacatoso, Playa Las Gatas, Caleta de Chon y Playa Riscalillo con el marcador molecular 28S a)2018 y 2019, b)2018 y c) 2019 y con el marcador molecular ITS2.

	Islote Zacatoso	Playa Riscalillo	Playa Las Gatas	Caleta de Chon
28S				
a) 2018-2019				
Islote Zacatoso	0.00000			
Playa Riscalillo	-0.014	0.000		
Playa Las Gatas	0.002	0.004	0.000	
Caleta de Chon	-0.014	-0.010	-0.012	0.000
b) 2018				
Islote Zacatoso	0.0000			
Playa Riscalillo	0.037	0.000		
Playa Las Gatas	0.029	0.029	0.000	
Caleta de Chon	-0.037	0.037	0.029	0.000
c) 2019				
Islote Zacatoso	0.000			
Playa Riscalillo	-0.045	0.000		
Playa Las Gatas	-0.002	0.0009	0.000	
Caleta de Chon	-0.033	-0.028	0.001	0.000
ITS2				
	Caleta de Chon	Playa Las Gatas	Playa Riscalillo	Islote Zacatoso
d)2018-2019				
Caleta de Chon	0.0000			
Playa Las Gatas	*0.029	0.000		
Playa Riscalillo	*0.089	*0.058	0.000	
Islote Zacatoso	*0.110	*0.106	0.022	0.000
e) 2018				
Caleta de Chon	0.000			
Playa Las Gatas	*0.107	0.000		
Playa Riscalillo	*0.101	0.036	0.0000	
Islote Zacatoso	*0.057	*0.128	*0.129	0.000
f) 2019				
Caleta de Chon	0.000			
Playa Las Gatas	0.043	0.0000		
Playa Riscalillo	*0.255	*0.231	0.000	
Islote Zacatoso	*0.193	*0.181	0.057	0.000

*Valores significativos en $p < 0.05$

8. DISCUSIÓN

El presente estudio intenta caracterizar la composición actual de zooxantelas en los corales arrecifales de Zihuatanejo. Durante el periodo de mayor temperatura asociado al evento El Niño 2015-16, se documentaron diferentes respuestas en los corales de los arrecifes coralinos de esta zona (Nava *et al.*, 2018). En su momento, esta respuesta no mostró una relación con el estado de conservación previo de los arrecifes coralinos. Antes de El Niño 2015-16, los arrecifes de Islote Zacatoso, Playa Riscalillo y Playa Manzanillo eran los arrecifes mejor conservados en la zona, con la cobertura de coral vivo más alta y las mejores condiciones ambientales. El arrecife de Caleta de Chon mantenía un buen estado de conservación, aunque se encontraba impactado por los mayores niveles de sedimentación y el de Playa Las Gatas mantenía la cobertura de corales vivos más baja, debido al constante impacto antropogénico detectado en una baja transparencia y en una alta y constante concentración de clorofila en el agua (Nava *et al.*, 2013). Durante El Niño de 2015-16, los corales de Playa Riscalillo, de Playa Manzanillo y de Playa Las Gatas sufrieron el mayor blanqueamiento y mortalidad coralina, mientras que los corales de Islote Zacatoso y de Caleta de Chon sufrieron el menor blanqueamiento coralino, manteniendo la misma cobertura de corales vivos al final del evento. En los arrecifes de Playa Riscalillo, de Playa Manzanillo y de Playa Las Gatas, la cobertura de coral blanqueado alcanzó un 28.7%, 9.6% y 31.9% respectivamente, durante El Niño, teniendo una reducción de la cobertura de coral vivo hasta un 0.48%. Por el contrario, en los arrecifes de Islote Zacatoso y de Caleta de Chon, la cobertura de coral blanqueado no superó el 0.26%, durante el mismo fenómeno, manteniendo además una alta cobertura de coral vivo de 52.2% y 58.1%, respectivamente (Nava *et al.*, 2018).

Esta respuesta sugirió un factor distinto a las condiciones ambientales locales como responsable de la respuesta de blanqueamiento y mortalidad coralina en la zona. Siguiendo esta línea, se postula que es posible que la presencia de distintos clados de zooxantelas haya generado diferentes respuestas entre las poblaciones de corales de la zona. Esto es, que El Niño 2015-16 provocará la disminución de la abundancia - o aún la desaparición - de algunos clados de zooxantelas, promoviendo la dominancia del clado más resistente al estrés térmico, el clado D. La presencia de este clado se ha observado en comunidades de corales de latitudes

ecuatoriales cálidas y en ambientes turbios (Rowan, 2004; LaJeunesse *et al.*, 2010a; Silverstein *et al.*, 2011). Específicamente, este clado suele ser dominante en poblaciones de *Pocillopora verrucosa* del Pacífico mexicano, que se encuentran en Bahía La Paz, Punta Galeras, Isla Espíritu Santo, Isla La Gaviota y Punta Arena en el Golfo de California (Iglesias-Prieto *et al.*, 2004; LaJeunesse *et al.*, 2007; LaJeunesse *et al.*, 2008), en Bahía Banderas, Jalisco (Rodríguez-Troncoso *et al.*, 2014) y en Mazunte, Ixtacahuite, La Mina, La Tijera, Bahía San Agustín y La Entrega, en Oaxaca (Walther-Mendoza *et al.*, 2016).

De esta manera, la dominancia de las zooxantelas del clado D en los corales de Zihuatanejo parece predecible, pues se encuentran en profundidades menores a 14 metros y suelen estar sujetos a niveles altos de sedimentación (Nava y Ramírez-Herrera, 2012; Nava *et al.*, 2013). Específicamente, en el género *Pocillopora* el subtipo D1 ha sido dominante en aguas frías (LaJeunesse *et al.*, 2010b). En estos casos excepcionales, algunas poblaciones de simbiontes del clado D parecen haberse adaptado fisiológicamente a condiciones extremas de temperatura (10-33°C) y altos niveles de irradiancia ($390 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$), encontrándose en hábitats marginales, como es el caso de los simbiontes de *Orbicella crispata* en el noroeste del Océano Pacífico (LaJeunesse *et al.*, 2014; Baker *et al.*, 2004; Silverstein *et al.*, 2017; Abrego *et al.*, 2012). Esto muestra que además el clado D está conformado por una variedad de especies que tienen requerimientos de temperatura contrastantes.

Los árboles filogenéticos resultantes de ambos marcadores mostraron que el 100% de las secuencias de *Symbiodinium* obtenidas de los cuatro arrecifes coralinos se agruparon con el clado D. El hecho de que los arrecifes coralinos de Zihuatanejo alberguen zooxantelas del clado D, y que éstas dominen la población de simbiontes en el área de estudio, sugeriría que los corales tienen una foto-fisiología más resistente al estrés térmico causado por altas temperaturas, tal como se ha sugerido previamente (Glynn *et al.*, 2001; Toller, 2001; Baker *et al.*, 2004; Rowan, 2004; Berkelmans y van Oppen, 2006; Abrego *et al.*, 2008; Stat *et al.*, 2009). Además del clado D, en distintas localidades del Pacífico Oriental, las zooxantelas del clado C también son las simbiontes dominantes de *Pocillopora* spp. (Glynn *et al.*, 2001; LaJeunesse *et al.*, 2008; LaJeunesse *et al.*, 2010a; LaJeunesse *et al.*, 2010b). Entre estos casos, la dominancia del clado D sobre el clado C en Bahía Banderas, en Jalisco y en el Golfo

de Tehuantepec, en Oaxaca (centro y sur del Pacífico de México); se ha explicado por eventos selectivos de extinción de clados no resistentes al estrés térmico, ocurridos en 1997-98. Estos eventos, están relacionados con El Niño-Oscilación del Sur (El Niño-Southern Oscillation, ENSO, por sus siglas en inglés, LaJeunesse *et al.*, 2010b).

En Zihuatanejo han ocurrido eventos de blanqueamiento en los corales, lo cual podría significar una selección de simbioses como la mencionada anteriormente. Durante 1992, un evento El Niño se asoció con cambios en la composición de la población de poliquetos cercanos a nuestra área de estudio (Rodríguez-Valencia, 2004). Aunque no se realizó un estudio de sus efectos sobre los corales de la región, la anomalía de temperatura del agua superficial del mar fue de hasta 2°C, la cual es una condición desencadenante para el blanqueamiento coralino. Cercano a ese año, si hay menciones de un blanqueamiento coralino. No obstante, este episodio podría estar relacionado con causas no naturales. Según Drouet-Cruz (2020), la puesta en funcionamiento de la Central Termoeléctrica Plutarco Elías Calles (CETEPEC) de Petacalco en el año de 1993, ubicada aproximadamente a 70 kilómetros al noroeste de Zihuatanejo, pudo causar uno de los primeros blanqueamientos coralinos en tiempos modernos, tal como está asentado en la memoria histórica de los pescadores de Zihuatanejo. Actualmente, esta planta descarga al mar aguas con temperaturas de entre 36.5 y 39.2 °C (CFE, 2004). Este impacto ha motivado intensas controversias entre la población local debido a las afectaciones a sus actividades de pesca y al medio marino (Toledo y Bozada, 2002; De la Lanza-Espino *et al.*, 2017). Tomando en cuenta la cercanía de estos eventos, ambos factores pudieron haber sido los responsables del blanqueamiento coralino, y de un proceso de selección de los simbioses de nuestra zona de estudio.

Aunque aún no se cuenta con un análisis de la composición de simbioses previos al evento El Niño 2015-16 en los corales arrecifales Guerrero, los eventos anteriores a este estudio podrían relacionarse. La composición actual pudo ser el resultado de una eliminación selectiva de simbioses, asociada a los eventos recientes de blanqueamiento coralino. En algunos arrecifes del Indo Pacífico, por ejemplo, las especies del género *Pocillopora* que hospedaron zooxantelas del clado D (43%) no fueron afectadas y las colonias que albergaron el clado C se blanquearon severamente, resultando en una dominancia posterior del clado D

en el año 2001 (63%) (Baker *et al.*, 2004). En el Caribe, en *Montastraea annularis* y en *M. franksi* el mismo fenómeno promovió un cambio en sus asociaciones, resultando también en una posterior dominancia del clado D (Thornhill *et al.*, 2006b). Se ha sugerido que el clado D está restringido biogeográficamente por la especie del hospedero o por la severidad del evento estrés-térmico, por lo que no es abundante en todas partes (Stat *et al.*, 2009). Los arrecifes de Zihuatanejo se encuentran en el Pacífico Oriental Tropical, donde ha ocurrido periódicamente el fenómeno natural El Niño (Fiedler, 2002). Es probable que este fenómeno esté favoreciendo la dominancia del clado D a través de eventos de blanqueamiento coralino repetidos (Baker, 2004; Fabricius *et al.*, 2004; van Oppen *et al.*, 2005).

Por otro lado, los corales asociados a un clado de zooxantelas como el clado D pueden exhibir una simbiosis estable a pesar de pasar por episodios periódicos de estrés térmico (Goulet, 2006; Thornhill *et al.*, 2006a). En algunos arrecifes de Panamá y de Ecuador, en el Pacífico Oriental, algunas poblaciones de corales del género *Pocillopora* que hospedaron el clado D mostraron una gran resistencia al blanqueamiento coralino durante el evento El Niño 1997-98 (Glynn *et al.*, 2001). En el estudio de Stat y colaboradores (2009), 10 especies de corales de la Gran Barrera Arrecifal hospedaron los mismos clados de simbiote antes y después del evento de estrés térmico en el 2002 (C y D), a pesar de que algunas colonias sufrieron blanqueamiento. Estos resultados explican parcialmente el alto grado de estabilidad en las comunidades de simbioses de algunos corales, y son consistentes con otros estudios que muestran una falta de cambio en poblaciones de simbioses en corales (Rowan, 2004; LaJeunesse *et al.*, 2005; Thornhill *et al.*, 2006a). En este sentido, se podría sugerir que, al no presentar blanqueamiento coralino, los corales *Pocillopora verrucosa* en Islote Zacatoso y Caleta de Chon pudieron en realidad mantener sus simbioses originales. Estos simbioses pudieron transferirse a los corales afectados por blanqueamiento durante su proceso de recuperación. En ausencia de estrés ambiental, la comunidad de simbioses también sigue un proceso dinámico, aunque este es más lento (Thornhill *et al.*, 2006b). En Taiwán, en el coral *Isopora palifera* se comprobó un cambio natural de simbioses del subclado termo-tolerante D1a al subclado termo-sensible C3 después de haber cambiado en respuesta a las variaciones de la temperatura de la superficie del mar (SST's, Sea Surface Temperatures) (Hsu *et al.*, 2012).

En este sentido, el mecanismo de adquisición del simbiote por parte del hospedero, es un factor que puede influir en los aspectos específicos de la biología de la simbiosis. Este mecanismo, a su vez, va a depender de la estrategia reproductiva del coral hospedero (Richmond y Hunter, 1990; Rodríguez-Lanetty, 2001). La adquisición de los simbioses después del asentamiento larval desde el ambiente circundante (transmisión horizontal), crea la posibilidad de nuevas combinaciones hospedero-simbiote en cada generación. La adquisición de los simbioses desde la colonia parental (transmisión vertical) por otro lado, es más específica (Richmond y Hunter, 1990). De esa manera, Thornhill y colaboradores (2006a) reportaron que las comunidades de *Symbiodinium* (Clados A, B y C) fueron estables durante varios años en corales cuya transmisión de simbioses era vertical, a pesar de pasar por un evento de estrés térmico. Estos corales que mantuvieron una simbiosis estable con un solo tipo de *Symbiodinium* a través de una gran variedad de condiciones ambientales deberían de ser capaces de enfrentar estos cambios a través de la aclimatación. No obstante, Stat y colaboradores (2009) también observaron esta estabilidad en una comunidad de simbioses de corales con transmisión horizontal que pasaron por un evento de estrés térmico.

El coral *Pocillopora verrucosa* es una especie hermafrodita (presenta gónadas de ambos sexos dentro del mismo pólipo) que se reproduce de forma sexual mediante la participación de gametos masculinos y femeninos, aunque también presenta reproducción asexual por fragmentación (Aranceta-Garza *et al.*, 2012). De esta manera, ambas formas de adquisición de la simbiosis podrían haber ocurrido en las poblaciones de corales de Zihuatanejo que se recuperaron después del evento “El Niño” 2015-2016. Sin embargo, se ha documentado que los corales pocilopóridos presentan una estrategia de transmisión vertical, que frecuentemente resulta en una diversidad de simbioses más baja en comparación a la transmisión horizontal (LaJeunesse *et al.*, 2004; Magalón *et al.*, 2007).

La presencia de un solo clado de zooxantelas, clado D, no resuelve la interrogante del porqué algunos arrecifes coralinos tuvieron blanqueamiento coralino y otros no. Según Avise (2000), desde la perspectiva de la teoría evolutiva básica, se ha corroborado que a una mayor diversidad genética en una población hay una mayor capacidad de responder a los cambios ambientales. Por lo tanto, la diversidad genética encontrada con el marcador ITS2 para cada arrecife nos puede ayudar a darnos una idea sobre esta interrogante. Las zooxantelas que

mostraron una mayor diversidad genética estuvieron presentes en los corales que no presentaron blanqueamiento coralino (Islote Zacatoso $h=0.61259$, $\pi=0.02784$ y 17 haplotipos), mientras que las zooxantelas de los corales con blanqueamiento presentaron una baja diversidad (Playa Las Gatas $h=0.15957$, $\pi=0.00107$ y 3 haplotipos; Playa Riscalillo $h=0.34163$, $\pi=0.00666$ y 5 haplotipos). No obstante, para corroborar si la diversidad genética tiene alguna relación con la resistencia al blanqueamiento por estrés térmico, es necesario hacer experimentos manipulando las condiciones ambientales.

De igual forma, en la red de haplotipos, los haplotipos alejados del haplotipo ancestral con más pasos mutacionales correspondieron a las zooxantelas de los arrecifes que no sufrieron blanqueamiento coralino durante el evento “El Niño” 2015-16. Estos arrecifes fueron el Islote Zacatoso en primera instancia (XVIII, XIX, XXX, XXXI, XXXII y XXXIII), cuyas comparaciones pareadas de F_{ST} corroboraron que fue el arrecife con mayor diferenciación genética en su población de zooxantelas. Esto podría sugerir que los haplotipos presentes antes del evento El Niño 2015-16 fueron conservados y posiblemente, en ello contribuyó su alta diversidad genética.

Anteriormente, Blancas-López (2009) registró que la diversidad genética presente en el coral *P. verrucosa* podría contribuir a tener una mayor resistencia y resiliencia al deterioro en Ixtapa (Zihuatanejo) en comparación con otras poblaciones de corales en el Pacífico mexicano. Las poblaciones de estos corales mostraron una mayor diversidad genética ($h=0.772 \pm 0.071$; $\pi=0.016 \pm 0.008$; no. de haplotipos=15) y tasas de flujo genético en dirección sur-norte (tasa de migración de Ixtapa a Cabo Pulmo e Islas Marías) (Blancas-López, 2009). Además de que se sugiere que la diversidad genética es importante para contender contra las condiciones ambientales adversas, sería interesante indagar si la supervivencia de los corales durante el evento El Niño 2015-2016 podría también ser atribuida a la resistencia del hospedero (*Pocillopora verrucosa*), a la tolerancia de la zooxantela (clado D) o a ambos.

A pesar de la diversidad del género *Symbiodinium* y de la flexibilidad de algunos corales para hospedar distintos clados de simbioses, es usual que un clado específico de zooxantela domine en un hospedero o en sitio con características ambientales específicas

(Baker *et al.*, 2004). Considerando esto, la dominancia del clado D de *Symbiodinium* en los arrecifes coralinos de Zihuatanejo podría considerarse normal, y más aún después de un evento de estrés térmico. La retención de los clados de simbiontes que son más resistentes térmicamente después de un blanqueamiento coralino pueden resultar en el incremento de la resistencia de los corales ante futuros eventos de estrés térmico (Thornhill *et al.*, 2006b; Sampayo *et al.*, 2008). Esta información tiene un alto potencial en la conservación de los arrecifes de coral de cara al cambio climático, a través de la restauración selectiva, promoviendo el incremento de simbiontes del clado D en las poblaciones de coral.

9. CONCLUSIONES

- El clado D de *Symbiodinium* spp. fue el único presente en los cuatro arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero durante el año 2018 y el 2019.
- Las zooxantelas con los haplotipos alejados con más pasos mutacionales del haplotipo ancestral estuvieron presentes en las poblaciones de coral que sufrieron menos blanqueamiento durante el evento “El Niño” 2015-16. Esto podría significar que los haplotipos que existían antes del evento fueron conservados.
- La mayor diversidad genética de *Symbiodinium* fue encontrada en las colonias de corales del arrecife de Islote Zacatoso. Esta diversidad genética podría estar relacionada con su aparente alta resistencia al estrés térmico.

10. LITERATURA CITADA

- Abrego, D., K.E. Ulstrup, B.L. Willis y M.J.H. van Oppen. 2008. Species-specific interactions between algal endosymbionts and coral hosts define their bleaching response to heat and light stress. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 275: 2273-2282.
- Abrego, D., B.L. Willis y M.J.H. van Oppen. 2012. Impact of light and temperature on the uptake of algal symbionts by coral juveniles. *PLoS ONE* 7(11): e50311.
- Ahumada-Martínez, O.A., P. Flores-Rodríguez y R. Flores-Garza. 2015. Composición de la Familia Columbellidae (Mollusca: Gastropoda) en Acapulco, México. *Revista Iberoamericana de Ciencias* 2 (6): 19-29.
- Alquezar R. y W. Boyd. 2007. Development of rapid, cost effective coral survey techniques: tools for management and conservation. *Journal of Coastal Conservation* 11: 105-119.
- Alvarado-Rodríguez, J.F., H. Nava y J.L. Carballo. 2019. Spatio-temporal variation in rate of carbonate deposition by encrusting organisms in different reef microhabitats from Eastern Pacific coral reefs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 99 (7): 1495-1505.
- April, A. y R. Gates. 2007. Recognizing diversity in coral symbiotic dinoflagellate communities. *Molecular Ecology* 16: 1127-1134.
- Aranceta-Garza, F., E.F. Balart, H. Reyes-Bonilla y P. Cruz-Hernández. 2012. Effect of tropical storms on sexual and asexual reproduction in coral *Pocillopora verrucosa* subpopulations in the Gulf of California. *Coral Reefs* 31: 1157-1167.
- Avice, J. 2000. *Phylogeography: the story and formation of species*. Harvard University Press. London, England. 447 pp.
- Baker, A.C. 2001. Reef corals bleach to survive. *Nature* 411:765-766.
- Baker, A. 2003. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology and biogeography of *Symbiodinium*. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* 34: 661-689.
- Baker, A. C., Starger, C., McClanahan, T. R. y P. W. Glynn. 2004. Corals' adaptive response to climate change. *Nature*, 430: 741-741.
- Baqueiro, E. 1979. Sobre la distribución de *Megapitaria aurantiaca* (Sowerby), *M. squalida* (Sowerby) y *Dosinia ponderosa* (Gray) en relación a la granulometría del sedimento. (Bivalva: Veneridae); nota científica. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología UNAM* 6(1): 25-31.
- Berkelmans, R y M.J.H. van Oppen. 2004. Flexibility of the coral-algal symbiosis as a mechanism to cope with environmental change thermal tolerance.

- Berkelmans, R y M.J.H. van Oppen. 2006. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a “nugget of hope” for coral reef in an era of climate change. *Proceedings of the Royal Society B* 273: 2305-2312.
- Bikerland, C. 2015. Coral Reefs in the Anthropocene. En: *Coral Reefs in the Anthropocene*, editor by Charles Birkenland. Springer. Honolulu, USA. 283 pp.
- Blancas-López, A.V. 2009. Conectividad demográfica de *Pocillopora verrucosa* (Anthozoa: Scleractinia) en el Pacífico mexicano. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. 83 pp.
- Blank, R.J. y R.K. Trench. 1985. Speciation and symbiotic dinoflagellates. *Science* 229: 656-658.
- Briones, F.P. y E. Lozano. 1977. Aspectos generales sobre la biología y pesquerías de langostas (*Panulirus inflatus* y *P. gracilis*) en Zihuatanejo, Gro. y áreas circunvecinas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 50 pp.
- Buddemeier, R.W. y D.G. Fautin. 1993. Coral bleaching as an adaptative mechanism. *Bioscience* 43: 320-326.
- Candelaria, S.C. 1985. Caracterización de la ficoflora de la localidad de Puerto Escondido, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 172 pp.
- Carpizo-Ituarte, E., V. Vizcaíno-Ochoa, G. Chi-Barragán, O. Tapia-Vázquez, A.L. Cupul-Magaña y P. Medina-Rosas. 2011. Evidencias de reproducción sexual en los corales *hermatípicos* *Pocillopora damicornis*, *Porites panamensis* y *Pavona gigantea* en bahía de Banderas, Pacífico mexicano. *Ciencias Marinas* 23: 227-248.
- Carriquiry, J.D. y H. Reyes-Bonilla. 1997. Estructura de la comunidad y distribución geográfica de los arrecifes coralinos de Nayarit, Pacífico de México. *Ciencias Marinas* 23(2): 227-248.
- Carriquiry, J.D., A.L. Cupul-Magaña, F. Rodríguez-Zaragoza y P. Medina-Rosas. 2001. Coral bleaching and mortality in the Mexican Pacific during the 1997-1998 El Niño and prediction from a remote sensing approach. *Bulletin of Marine Science* 69: 237-249.
- Cifuentes-Lemus y F.G. Cupul-Magaña. 2014. Temas sobre investigaciones costeras. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. 321 pp.
- Chakravarti, L.J. y M.J.H. van Oppen. 2018. Experimental Evolution in Coral Photosymbionts as a tool to increase thermal tolerance. *Frontiers in Marine Science* 5: 227.
- Chávez-Fuentes, M. del C. 2016. Diversidad, abundancia y distribución de esponjas en dos tipos de hábitat de la estructura tridimensional de dos arrecifes de Zihuatanejo, Guerrero. Tesis de Maestría. Instituto de Investigaciones sobre los Recursos Naturales. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 66 pp.

- Clement, M., Q. Snell, P. Walker, D. Posada y K. Crandall. 2002. TCS: Estimating gene genealogies. Parallel and Distributed Processing Symposium. International Proceedings 2:184.
- Coffroth, M.A. y S.R. Santos. 2005. Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. Protist 156: 19-34.
- Coleman, A.W. 2003. ITS2 is a double-edged tool for eukaryote evolutionary comparisons. Trends in Genetics 19 (7): 370-375.
- Comisión Federal de Electricidad. 2004. Manifestación de impacto ambiental, modalidad particular, del proyecto 62 CCE Pacífico (Central Carboeléctrica). Instituto de Ingeniería, UNAM. 507 pp.
- De la Lanza-Espino, G., R. Silva, S. Hernández-Pulido, I. Mariño-Tapia y C. Manríquez. 2017. A retrospective analysis of water quality in an Open Bay on the Mexican Pacific. Journal of Coastal Research 77: 39-50.
- de Groot, R., L. Brander, S. van der Ploeg, R. Costanza, F. Bernard, L. Braat, M. Christie, N. Crossman, A. Ghermandi, L. Hein, S. Hussain, P. Kumar, A. McVittie, R. Portela, L.C. Rodriguez, P. ten Brink y P. van Beukering. 2012. Global estimates of the value of ecosystems and their services in monetary units. Ecosystems services 1: 50-61.
- Drouet-Cruz, H. T. 2020. El pescador y la mar; una mirada etnoecológica a la pesca y arrecifes de coral de Zihuatanejo de Azueta, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Estudios Superiores. Universidad Nacional Autónoma de México. 100 pp.
- Excoffier, L., P.E. Smouse y J.M. Quatro. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics 131: 479-491.
- Excoffier, L. y H.E.L. Lischer. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources 10: 564-567.
- Fabricius, K.E., J.C. Mieog, P.L. Colin, D. Idip y M.J.H. van Oppen. 2004. Identity and diversity of coral endosymbionts (zooxanthellae) from three Palauan reefs with contrasting bleaching, temperature and shading histories. Molecular Ecology 13 (8): 2445-58.
- Falkowski, P.G. y Z. Dubinsky. 1981. Light-shade adaptation of *Stylophora pistillata*, a hermatypic coral from the Gulf of Eilat. Nature 289: 172-174.
- Fabina, N.S., H. M. Putman, E. C. Franklin, M. Stat y R. D. Gates. 2012. Transmission modes predicts specificity and interaction patterns in Coral-*Symbiodinium* networks. PLoS ONE 7 (9): 1-9.
- Fiedler, P. 1992. Seasonal Climatologies and Variability of Eastern Tropical Pacific Surface Waters. NOAA Technical Report NMFS. 13 p.
- Fiedler, P. 2002. Environmental change in the eastern tropical Pacific Ocean: review of ENSO and decadal variability. Marine Ecology Progress Series 244 (29): 265-283.

Fitt, W.K., F.K. McFarland, M.E. Warner y G.C. Chilcoat. 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology and Oceanography* 45: 677-685.

Freudenthal, H. D. 1962. *Symbiodinium* gen. nov. and *Symbiodinium microadriaticum* sp. Nov., a Zooxanthella: Taxonomy, Life Cycle and Morphology. *The Journal of Protozoology* 9 (1): 45-52.

Furla, P., I. Galgani, I. Durand y D. Allemand. 2000. Sources and mechanisms of inorganic carbon transport for coral calcification and photosynthesis. *Journal of Experimental Biology* 203: 3345-3457.

García, E. 1981. Modificaciones al Sistema de Clasificación Climática de Koppen (para adaptarlo a las condiciones de la República Mexicana). Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 266 pp.

García-Martínez, M. 2009. Estructura comunitaria de la fauna asociada a algas submareales en tres sitios contrastantes en Zihuatanejo, Guerrero. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 100 pp.

Garibay-Valladolid, Elizabeth. 2018. Evaluación del impacto producido por el evento El Niño 2015-2016 en el estado de conservación de las comunidades coralinas de Zihuatanejo Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 74 pp.

Gatusso, J. P., S. Reynaud-Vaganay, P. Furla, S. Romaine-Lioud, J. Jaubert, I. Bourge y M. Frankignoulle. 2000. Calcification does not simulate photosynthesis in the zooxanthellae scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography* 45: 246-250.

Glynn, P.W., S.B. Colley, C.M. Eakin, D.B. Smith, J. Cortés y N.J. Gassman. 1994. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama, and Galapagos Islands (Ecuador) Poritidae. *Marine Biology* 118: 191-208.

Glynn, P.W. y G.E. Leyte-Morales. 1997. Coral reefs of Huatulco, West México: reef development in upwelling Gulf of Tehuantepec. *Revista de Biología Tropical* 45 (3): 1033-1047.

Glynn, P.W., J.L. Mate, A. Baker y M. Calderón. 2001. Coral bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997-1998 EL NINO-Southern Oscillation event: spatial/temporal patterns and comparisons with the 1982-1983 event. *Bulletin of Marine Science* 69: 79-109.

Goulet, T.L. 2006. Most corals may not change their symbionts. *Marine Ecology Progress Series* 321: 1-7.

Hall, T.A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nuclei Acids Symposium Series* 41: 95-98.

Hernández-Ramírez, H. A. 2006. Estructura de la comunidad coralina en cinco localidades de Ixtapa-Zihuatanejo, Guerrero, México. Tesis de Licenciatura. Universidad del Mar (UMAR). Oaxaca, México. 64 pp.

- Hirai, J., S. Shimode y A. Tsuda. 2013. Evaluation of ITS2-28S as a molecular marker for identification of calanoid copepods in the subtropical western North Pacific. *Journal of Plankton Research* 35 (3): 644-656.
- Hoegh-Guldberg, O. y G. J. Smith. 1989. The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 129 (3): 279-303.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and freshwater Research* 50 (8): 839-866.
- Hoegh-Guldberg, O. 2004. Coral reefs in a century of rapid environmental change. *Symbiosis* 37: 1-31.
- Hsu, C.-M., S. Keshavmurthy, V. Denis, C.-Y. Kuo, J.-T. Wang, P.-J. Meng y C.A. Chen. 2012. Temporal and spatial variations in symbiont communities of catch bowl coral *Isopora palifera* (Scleractinia: Acroporidae) on reefs in Kenting National Park, Taiwan. *Zoological Studies* 51 (8): 1343-1353.
- Hubbs, C.L. y G.I. Roden. 1964. Oceanography and marine life along the Pacific Coast of Middle America. En: Wauchope R. (Ed). *A Handbook of Middle American Indians*. University de Texas Press. Texas, USA 143-186.
- Iglesias-Prieto, R., V.H. Beltrán, T.C. LaJeunesse, H. Reyes-Bonilla y P. E. Thomé. 2004. Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the eastern Pacific. *Proceedings of the Royal Society of London B* 271: 1757-1763.
- Jones, R. J. 1997. Zooxanthellae loss as a bioassay for assessing stress in corals. *Marine Ecology Progress Series* 149(1): 163-171.
- Jones, R. J. 2008. Coral bleaching, bleaching-induced mortality, and the adaptive significance of the bleaching response. *Marine Biology* 154 (1): 65-80.
- Kelmo, F., y M. J. Attrill. 2013. Severe impact and subsequent recovery of a coral assemblage following the 1997–8 El Nino event: a 17-year study from Bahia, Brazil. *PloS One* 8 (5): 1-10.
- Kleypas, J.A, W. Buddemeier, D. Archer y J.P Gatusso. 2001. The future of coral reefs in an age of global change. *International Journal of Earth Science* 90: 426-437.
- Kumar, S., G. Stecher, M. Li C. Knyaz and K. Tamura. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549.
- LaJeunesse, T.C. 2001. Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: in search of a “species” level marker. *Journal of Phycology* 37: 866-880.

- LaJeunesse, T.C. 2002. Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Marine Biology* 141: 387-400.
- LaJeunesse, T.C., L.K.W. Loh, R. van Woesik, O. Hoegh-Guldberg, G.W. Schmidt y W.K. Fitt. 2003. Low symbiotic diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. *Limnology and Oceanography* 48: 2046-2054.
- LaJeunesse, T.C, R. Bhagooli, M. Hidaka y L. Devantier. 2004. Closely related *Symbiodinium* spp. differ in relative dominance in coral reef host communities across environmental, latitudinal and biogeographic gradients. *Marine Ecology Progress Series* 284: 147-161.
- LaJeunesse, T.C, S. Lee, S. Bush y J.F. Bruno. 2005. Persistence of non-Caribbean algal symbiont in Indo-Pacific mushroom corals released to Jamaica 35 years ago. *Coral Reefs* 24: 157-159.
- LaJeunesse, T.C, H. Reyes-Bonilla y M.E. Warner. 2007. Spring “bleaching” among *Pocillopora* in the Sea of Cortez, Eastern Pacific. *Coral Reefs* 26:265-270.
- LaJeunesse, T.C, H. Reyes-Bonilla, M.E. Warner, M. Wills, G.W. Schmidt y W.K. Fitt. 2008. Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral-algal symbioses. *Limnology and Oceanography* 53 (2): 719-727.
- LaJeunesse, T.C, D.T. Pettay, E.M. Sampayo, N. Phongsuwan, B. Brown, D. Obura, O. Hoegh-Guldberg y W.K. Fitt. 2010a. Long-standing environmental conditions, geographic isolation and host-symbiont specificity influence the relative ecological dominance and genetic diversification of coral endosymbionts in the genus *Symbiodinium*. *Journal of Biogeography* 37: 785-800.
- LaJeunesse, T.C., R. Smith, M. Walther, J. Pinzón, D.T. Pettay, M. McGinley, M. Aschaffenburg, P. Medina-Rosas, A.L. Cupul-Magaña, A. López Pérez, H. Reyes-Bonilla y M.E. Warner. 2010b. Host-symbiont recombination versus natural selection in the response of coral-dinoflagellate symbioses to environmental disturbance. *Proceedings of the Royal Society* 277: 2925-2934.
- LaJeunesse, T.C, D.C. Wham, D.T. Pettay, J.E. Parkinson, S. Keshavmurthy y C.A. Chen. 2014. Ecologically differentiated stress-tolerant endosymbionts in the dinoflagellate genus *Symbiodinium* (Dinophyceae) Clade D are different species. *Phycologia* 53(4): 305-319.
- LaJeunesse, T.C, J.E. Parkinson, P.W. Gabrielson, H.J. Jeong, J.D. Reimer, C.R. Voolstra y S.R. Santos. 2018. Systematic Revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology* 28:1-11.
- Lankford, R. 1974. Descripción general de la zona costera de Guerrero y Michoacán, Subprograma de Geología. En: Informe final 1ra etapa programa uso de la zona costera de Michoacán y Guerrero. Convenio Comisión del Río Balsas, S.R.H. y Centro de Ciencias Del Mar y Limnología. UNAM. Contrato de estudios No OC-E-0373. 42 pág.
- Lewis, C., K. Neely y M. Rodriguez-Lanetty. 2019. Recurring episodes of thermal stress shift the balance from a dominant host-specialist to a background host-generalist zooxanthella in the threatened pillar coral, *Dendrogyra cylindrus*. *Frontiers in Marine Science* 6: 5.

- Little, A.F., M.J.H. van Oppen y B.L. Willis. 2004. Flexibility in algal endosymbiosis shapes growth in reef corals. *Science* 304: 1492-1494.
- Loh, W.K., T. Loi, D. Carter y O. Hoegh-Guldberg. 2001. Genetic variability of the symbiotic dinoflagellates from the wide ranging coral species *Seriatopora hystrix* and *Acropora longicyathus* in the Indo-West Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 222: 97-107.
- López-Gómez. N.A. 1993. Caracterización de la ficoflora sublitoral de Acapulco y Zihuatanejo, Gro. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 89 pp.
- López-Pérez, R. A., L. E. Calderón-Aguilera, H. Reyes-Bonilla, J. D. Carriquiry, P. Medina-Rosas, A. L. Cupul-Magaña, M. D. Herrero-Pérez, H. A. Hernández-Ramírez, M. A. Ahuamada-Sempoal, y B. M. Luna-Salguero. 2012. Coral communities and reefs from Guerrero, southern Mexican pacific. *Marine Ecology*: 1-28.
- Magalón, H., E. Braudy, A. Husté, M. Adjeroud y M. Veuille. 2006. High genetic diversity of the symbiotic dinoflagellates in the coral *Pocillopora meandrina* from the South Pacific. *Coral Reefs* 26: 551-558.
- Magalón, H., J.F. Flot y E. Braudy. 2007. Molecular identification of symbiotic dinoflagellates in Pacific corals in the genus *Pocillopora*. *Coral Reefs* 26: 551-558.
- Maldonado-Bernabé, J. S. 2017. Evaluación del estado de salud de los corales hermatípicos de Zihuatanejo mediante microscopía de fluorescencia. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. UMSNH. 38 pág.
- Medina-Rosas, P. 2000. Reclutamiento de corales pétreos (Scleractinian) en los arrecifes coralinos de Jalisco y Nayarit, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. La Paz, B.C.S., México. 57 pp.
- Mendoza-González, A. Catalina y L. Elena Mateo-Cid. 1998. Avance de un Estudio sobre las Macroalgas Marinas de Guerrero y Oaxaca, México. *Ciencia y Mar*: 15-29.
- Muller-Parker, G., D'Elia, C. F. y C. B. Cook. 2015. Interactions between corals and their symbiotic algae. In Bikerland, C. 2015. *Coral Reefs in the Anthropocene*. Springer Netherlands. 271 pp.
- Muscatine, L., C. Goiran, L. Land, J. Jaubert, J.P. Cuif y D. Allemand. 2005. Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of organic matrix from coral skeleton. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 102: 1525-1530.
- Nava, H., y M. T. Ramírez-Herrera. 2012. Land use changes and impact on coral communities along the central Pacific coast of Mexico. *Environmental Earth Science* 65: 1095-1104.
- Nava, H., Figueroa-Camacho, A.G., Villegas-Sánchez, B.M. y M. T. Ramírez-Herrera. 2013. Habitat characteristics and environmental factors related to boring sponge assemblages on coral reefs near populated areas on the Mexican Eastern Pacific coast. *Marine Biodiversity*. DOI 10.1007/s12526-013-0182-3.

- Nava, H. y A. G. Figueroa-Camacho. 2017. Rehabilitation of damaged reefs: outcome of the use of recently detached fragments and small coral colonies of Pocilloporid corals on rocky boulders. *Marine Ecology* 38 (5): 1-10.
- Nava, H., C.A.E. García-Madrigal y J.L. Carballo. 2018. Relationships between boring sponge assemblages and the availability of dead coral substrate on Mexican Pacific coral reefs. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 99 (4): 795-805.
- Pochon, X. y R.D. Gates. 2010. A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 56: 492-497.
- Posada, D. 2008. JModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution* 25 (7): 1253-1256.
- Rambaut, A. 2009. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh, Edinburgh. <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Reyes-Bonilla, H. 1993. The 1987 coral bleaching at Cabo Pulmo reef, Gulf of California, Mexico. *Bulletin of Marine Science* 52: 832-837.
- Reyes-Bonilla, H., J.D. Carriquiry, G.E. Leyte-Morales y A.L. Cupul-Magaña. 2002. Effects of the El Niño: Southern Oscillation and the anti El Niño event (1997-1999) on corals reefs on the western coast of Mexico. *Coral Reefs* 21: 368-372.
- Reyes-Bonilla, H. 2003. Coral reefs of the Pacific coast of Mexico. En: Pérez-Vivar, T.L., Reyes-Bonilla, H y Padilla, C. 2006. Corales pétreos (Scleractinian) de las Islas Marías, Pacífico de México. *Ciencias Marinas* 32 (2): 259-270.
- Richmond, R.H. y C.L. Hunter. 1990. Reproduction and recruitment of corals: comparison among the Caribbean, the tropical Pacific and the Red Sea. *Marine Ecology Progress Series* 60: 185-203.
- Rinkevich, B. 2005. Conservation of coral reefs through active restoration measures: recent approaches and last decade progress. *Environmental Science & Technology*, 39(12): 4333-4342.
- Rodriguez-Lanetty, M., W. Loh, D. Carter y O. Hoegh-Guldberg. 2001. Latitudinal variability in symbiont specificity within the widespread scleractinian coral *Plesiastrea versipora*. *Marine Biology* 138: 1175-1181.
- Rodríguez-Lanetty, M., D.A. Krupp y V.M. Weis. 2004. Distinct ITS types of *Symbiodinium* in clade C correlate with cnidarian/dinoflagellate specificity during onset of symbiosis. *Marine Ecology Progress Series* 275: 97-102.
- Rodríguez-Troncoso, A.P., E. Carpizo-Ituarte, D.T. Pettay, M.E. Warner y A.L. Cupul-Magaña. 2014. The effects of an abnormal decrease in temperature on the Eastern Pacific reef-building coral *Pocillopora verrucosa*. *Marine Biology* 161: 131-139.

- Rodríguez-Valencia, J.A. 2004. Response of benthic polychaetes to environmental variability and El Niño conditions at Petacalco Bay (Guerrero, Mexico). *Ciencias Marinas* 30 (4): 515-526.
- Romano, S.L. y S.R. Palumbi. 1996. Evolution of Scleractinian Corals inferred from molecular systematics. *Science* 271: 640-642.
- Ronquist, F. *et al.*, 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian phylogenetic inference and model selection across a large model space. *Systematic Biology* 61:539-542.
- Rowan, R. y D.A. Powers. 1991. A molecular genetic classification of zooxanthellae and the evolution of animal-algal symbiosis. *Science* 251: 1348-1351.
- Rowan, R. y D.A. Powers. 1992. Ribosomal-RNA sequences and the diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae). *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 39: 3639-3643.
- Rowan, R., N. Knowlton, A. Baker y J. Jara. 1997. Landscape ecology of algal symbionts creates variation in episodes of coral bleaching. *Nature* 388: 265-269.
- Rowan, R. 2004. Thermal adaptations in reef coral symbionts. *Nature* 430: 742.
- Rozas, J., A. Ferrer-Mata, J.C. Sánchez-DelBarrio, S. Guirao-Rico, P. Librado, S.E. Ramos-Onsins y A. Sánchez-Gracia. 2017. DnaSP v6: DNA Sequence Polymorphism Analysis of Large Datasets. *Molecular Biology and Evolution* 34: 3299-3302.
- Ruiz-Cervantes, S.I. 2016. Densidad poblacional de erizos (Echinodermata: Echinoidea) asociados a comunidades coralinas en dos localidades de Zihuatanejo, Guerrero, México. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 65 pp.
- Salcedo-Martínez, S., G. Green, A. Gamboa-Contreras y P. Gómez. 1988. Inventario de macroalgas y macroinvertebrados bénticos, presentes en áreas rocosas de la región de Zihuatanejo, Guerrero, México. *Anales del Instituto de Ciencias Del Mar y Limnología UNAM* 15(1): 73-96.
- Sampayo, E.M., T. Ridgeway, P. Bongaerts y O. Hoegh-Guldberg. 2008. Bleaching susceptibility and mortality of corals are determined by fine-scale differences in symbiont type. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105: 10444-10449.
- Santos, S.R., D.J. Taylor, R.A. Kinzie, M. Hidaka, K. Sakai y M.A. Coffroth. 2002. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rADN sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 97-111.
- Santos, S.R., C. Gutiérrez- Rodríguez y M.A. Coffroth. 2003. Phylogenetic identification of *Symbiodinium* dinoflagellates via length heteroplasmy in domain V of chloroplast large subunit (cp23S)- rADN sequences. *Marine Biotechnology* 5: 134-140.
- Sheppard, R.C.C., S. K. Davy y G.M. Pilling. 2010. *The Biology of Coral Reefs*. Oxford University Press. New York, USA. 339 pp.

- Silverstein, R.N., A.M.S. Correa, T.C. LaJeunesse y A.C. Baker. 2011. Novel algal symbiont (*Symbiodinium* spp.) diversity in reef corals of Western Australia. *Marine Ecology Progress Series* 422: 63-75.
- Silverstein, R. N., Cunning, R. y A. Baker. 2014. Change in algal symbiont communities after bleaching, not prior heat exposure, increases heat tolerance of reef corals. *Global Change Biology*, 21 (1): 236-249.
- Silverstein, R. N., Cunning, R. y A. Baker. 2017. Tenacious D: *Symbiodinium* in clade D remain in reef corals at both high and low temperature extremes despite impairment. *Journal of Experimental Biology* 220: 1192-1196.
- Soong, K. y T. Chen. 2003. Coral transplantation: regeneration and growth of *Acropora* fragments in a nursery. *Restoration Ecology* 11 (1): 62-71.
- Stambler, N. 2010. Coral symbiosis under stress. *Cellular Origin, Life in Extreme Habitats and Astrobiology* 17: 197-224.
- Stat, M., D. Carter y O. Hoegh-Guldberg. 2006. The evolutionary history of *Symbiodinium* and scleractinian hosts- Symbiosis, diversity, and the effect of climate change. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 8: 23-43.
- Stat, M., W.K.W. Loh, T.C. LaJeunesse, O. Hoegh-Guldberg y D.A. Carter. 2009. Stability of coral-endosymbiont association during and after a thermal stress event in the southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs*. 5 pp.
- Sunagawa, S., Cortés, J., Jiménez, C. y R. Lara. 2008. Variación en la densidad de células y en las concentraciones de pigmentos de los dinoflagelados simbióticos del coral *Pavona clavus* en el Pacífico oriental (Costa Rica). *Ciencias Marinas* 34 (2): 113-123.
- Takabayashi, M., S.R. Santos y C.B. Cook. 2004. Mitochondrial DNA phylogeny of the symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*, Dinophyta). *Journal of Phycology* 40: 160-164.
- Templeton, A.R., K.A. Crandall y C.F. Sing. 1992. A cladistic analysis of phenotypic association with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and a DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619-633.
- Thornhill, D.J., W.K. Fitt y G.W. Schmidt. 2006a. Highly stable symbiosis among western Atlantic brooding corals. *Coral Reefs* 25: 515-519.
- Thornhill, D.J., T.C. LaJeunesse, D.W. Kemp, W.K. Fitt y G.W. Schmidt. 2006b. Multi-year, seasonal genotypic surveys of coral-algal symbioses reveal prevalent stability of post-bleaching reversion. *Marine Biology* 148: 711-722.
- Toledo, A. y L. Bozada. 2002. La delta del Río Balsas. Medio ambiente, pesquerías y sociedad. Instituto Nacional de Ecología-Colegio de Michoacán A.C. 294 pp.

- Toller, W.W., R. Rowan y N. Knowlton. 2001. Repopulation of zooxanthellae in Caribbean corals *Montastraea annularis* and *Montastraea faveolata* following experimental and disease induced bleaching. *Biological Bulletin* 201: 360-373.
- Tong, F., L. Zhang, P. Mao Chen y J. Cheng. 2018. Molecular taxonomy and diversity of *Symbiodinium* spp. Based on 28S r DNA sequences within 15 coral species in Daao Bay, Shenzhen. *Conference Series: Materials Science and Engineering* 392: 1-9.
- Trenberth, K.E. 1997. The Definition of El Niño. *Bulletin of the American Meteorological Society* 78 (12): 2271-2277.
- Tovar, M.E. y A.M. Sánchez. 1974. Descripción de las variaciones estacionales de algunos grupos planctónicos en relación con elementos ambientales en la Bahía de Zihuatanejo. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 34 pp.
- Urbano, B. A. 2004. Estructura Comunitaria de gasterópodos de Zihuatanejo, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 67 pp.
- van Oppen, M.J.H., A.J. Mahiny y T.J. Done. 2005. Geographic distribution of zooxanthella types in three coral species on the Great Barrier Reef sampled after the 2002 bleaching event. *Coral Reefs* 24: 482-487.
- Vázquez-Delfín, E. F. 2008. Diagnóstico general de la biodiversidad marina de la región Ixtapa-Zihuatanejo, Guerrero: Bases para su conservación. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México. 193 pp.
- Veron, J. 2000. *Corals of the World*. Australian Institute of Marine Sciences. 463 pp.
- Walther-Mendoza, M., H. Reyes-Bonilla, T.C. LaJeunesse y A. López-Pérez. 2016. Distribución y biodiversidad de dinoflagelados simbióticos en corales pétreos de la costa de Oaxaca, Pacífico de México. *Revista Nacional de Biodiversidad* 87: 417-426.
- Weinborn, J.A. 1977. Estudio preliminar de la biología, ecología y semicultivo de los palinúridos de Zihuatanejo, Gro., México. *Panulirus gracilis* Streets y *Panulirus inflatus* (Bouvier). *Anales del Centro de Ciencias Del Mar y Limnología UNAM* 4 (1): 27-28.
- Weis, V.M. 2008. Cellular mechanism of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *The Journal of Experimental Biology* 211: 3059-3066.
- Wyrtki, R. 1965. Surface currents of the eastern tropical Pacific Ocean. *Bulletin of. Inter-American Tropical Tuna Commission* 9 (5): 270-295.
- Zamorano, P y G. E. Leyte-Morales. 2009. Equinodermos asociados a formaciones arrecifales en Zihuatanejo y Acapulco, Guerrero, México. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras* 38(2): 7-28.

11. MATERIAL SUPLEMENTARIO

Tabla S1. Códigos usados en las secuencias de simbioses del coral *Pocillopora verrucosa* en los arrecifes coralinos de Zihuatanejo, Guerrero con los marcadores moleculares 28S e ITS2. Z=Islote Zacatoso, LG=Playa Las Gatas, CC= Caleta de Chon y R o M= Playa Riscalillo

<i>Pocillopora verrucosa</i> 2018	<i>Pocillopora verrucosa</i> 2019	Arrecife coralino
Z11, Z12, Z21, Z31, Z41, Z42, Z51, Z52, Z61, Z71V, Z81, Z91, Z101, Z102	Z1N, Z2NE, Z3N, Z4N, Z5N, Z6NE, Z7N, Z8N, Z9N, Z91N, Z10N, Z101N	Islote de Zacatoso
LG11, LG12, LG21, LG22, LG31, LG41, LG51, LG61, LG71, LG81, LG91, LG101	LG1N, LG2N, LG3N, LG4N, LG5N, LG6N, LG7N, LG8N, LG9N, LG91N, LG10N, LG101N	Playa Las Gatas
CC11, CC21, CC31, CC32, CC41, CC42, CC51, CC52, CC61, CC71, CC72, CC81, CC91, C101	CC1N, CC2N, CC3N, CC4N, CC5N, CC6N, CC7N, CC8N, CC9N, CC91N, CC10N, CC101N	Caleta de Chon
R11, R21, R31, R32, R41, R42, R52, R61, R71, R72, R81, R82, R91, R101	M1NE, M2N, M3N, M4NE, M5N, M6NE, M7NE, M8NE, M9N, M91NE, M10N, M101N	Playa Riscalillo

Tabla S2. Información de las secuencias de simbioses (*Symbiodinium* sp.) incluidos en el análisis filogenético con el marcador molecular 28S

nr28S		
Designación de <i>Symbiodinium</i>	No. de acceso en GenBank	Fuente
Clado A	AB778573, AB778574, AB778580, AB778583, AB778585 AF427453, AF427454, AF427455, AF427456 FM164858 JN558091, JN558092, JN558093, JN558094, JN558096 JX845327 KF809729, KF809732, KR022045, KR022047, KR022048, KR022050, KR022054, KR022056, KR022057, KR022061	Yorifuji <i>et al.</i> , 2015 ²⁴ Santos <i>et al.</i> , 2002 ²⁰ Richter <i>et al.</i> , 2008 ¹⁹ Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹⁶ No publicado* Casado-Amezúa <i>et al.</i> , 2014 ¹ Mordret <i>et al.</i> , 2016 ¹⁰
Clado B	AF427457, AF427458, AF427459, AF427460 DQ200690, DQ200692, DQ200693, DQ200702, DQ200706, DQ200709, DQ200711 JN558055, JN558056, JN558057, JN558059, JN558061, JN558062 KC491248, KC491250, KC491252, KC491254, KC491257, KC491260, KC491261	Santos <i>et al.</i> , 2002 ²⁰ Klaus <i>et al.</i> , 2007 ⁷ Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹⁶ No publicado*
Clado C	AB778594, AB778598, AB778615, AB778620, AB778639, AB778640, AB778641, AB778645, AB778662, AB778664, AB778666 AF427463 AJ291515, AJ291516 AJ308887, AJ308890, AJ308892, AJ311943 AJ620935, AJ621128 AJ872075 DQ200651, DQ200655, DQ200660, DQ200668, DQ200678, DQ200683, DQ200688 EF371987 FJ851407, FJ851415 JN558040, JN558041, JN558043, JN558044, JN558046, JN558048 KR996268, KR996271, KR996283, KR996284, KR996285	Yorifuji <i>et al.</i> , 2015 ²⁴ Santos <i>et al.</i> , 2002 ²⁰ Pawlowski <i>et al.</i> , 2001 ¹² Pochon <i>et al.</i> , 2001 ¹³ Pochon <i>et al.</i> , 2004 ¹⁴ Pochon <i>et al.</i> , 2006 ¹⁵ Klaus <i>et al.</i> , 2007 ⁷ No publicado* Venera-Ponton <i>et al.</i> , 2010 ²² Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹⁶ Hume <i>et al.</i> , 2016 ⁵
Clado D	AB248878 AB280700, AB280701 AB778690, AB778691, AB778692, AB778695, AB778696, AB778699, AB778700, AB778702, AB778703, AB778710, AB778713, AB778715, AB778717, AB778722, AB778723, AB778727, AB778729, AB778733, AB778736, AB778739, AB778749, AB778753, AB778754, AB778755, AB778756, AB778757, AB778758, AB778759, AB778761, AB778762, AB778763, AB778764 AF396626, AF396627 AY588446 AY903350, AY903351 DQ981497 EF372035, EF372071 GQ984261, GQ984262, GQ984263, GQ984264, GQ984265 JN558075, JN558078, JN558080 KF030950 KF672733, KF672734 KU842643, KU842645, KU842646, KU842648, KU842652, KU842656, KU842659, KU842660, KU842667, KU842668, KU842674, KU842677, KU842680, KU842682, KU842688, KU842695, KU842698, KU842699, KU842706, KU842707, KU842709, KU842710, KU842712, KU842717, KU842719 KX512797, KX512800, KX512802 KY131783, KY131784 MG945916	No publicado* Lien <i>et al.</i> , 2007 ⁸ Yorifuji <i>et al.</i> , 2015 ²⁴ Santos <i>et al.</i> , 2003 ²¹ No publicado* No publicado* Gómez-Cabrera <i>et al.</i> , 2008 ³ No publicado* No publicado* Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹⁶ Fard <i>et al.</i> , 2014 ² No publicado* No publicado* No publicado* Wham <i>et al.</i> , 2017 ²³ No publicado
Clado E	AB546600, AF060899 HF568830, HF568831, HF568832, HF568833, HF568834, HF568835	No publicado* Jeong <i>et al.</i> , 2014 ⁶
Clado F	AJ291525, AJ291527, AJ291529, AJ291535, AJ308895 AJ621135, AJ621136, AJ621145, AJ621146, AJ621147 AJ830908, AJ830911, AJ830912, AJ830914, AJ872076, AJ872077 AJ830915, AJ830916, AJ830917, AJ830918, AJ830920, AJ830922, AJ830924, AJ830925, AJ830926 JQ247043, JQ247044 KF740673, KF740685 KF383295, KF383298	Pawlowski <i>et al.</i> , 2001 ¹² Pochon <i>et al.</i> , 2001 ¹³ Pochon <i>et al.</i> , 2004 ¹⁴ Pochon <i>et al.</i> , 2006 ¹⁵ No publicado* Pochon <i>et al.</i> , 2014 ¹⁸ Jeong <i>et al.</i> , 2014 ⁶ Miura <i>et al.</i> , 2014 ⁹
Clado G	AJ291537, AJ291538, AJ291539 EF134622, EF134623 KC597688, KC597694 JN558087, JN558088, JN558089, JN558090 LK392377, LK392378 JQ247050, JQ247051	Pawlowski <i>et al.</i> , 2001 ¹² Granados <i>et al.</i> , 2008 ⁴ Padilla-Gamiño <i>et al.</i> , 2012 ¹¹ Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹⁶ Pochon <i>et al.</i> , 2014a ¹⁷ Pochon <i>et al.</i> , 2014 ¹⁸
Clado H	AJ291513, AJ291520 AJ621129, AJ621131, AJ621148 AJ830904, AJ830905, AJ830906, AJ830907	Pawlowski <i>et al.</i> , 2001 Pochon <i>et al.</i> , 2004 ¹⁴ No publicado*

- ¹Casado-Amézua, P., A. Machordom, J. Bernardo y M. González-Wangüemert. 2014. New insights into the genetic diversity of zooxanthellae in Mediterranean anthozoans. *Symbiosis* 63: 41-46. DOI: 10.1007/s13199-014-0286-y
- ²Fard Yazdani, M., P. Ghavam Mostafavi y Shahhosseini. 2014. Comparative monitoring of dominant symbiont clades of *Symbiodinium* in reef-building corals of eastern Kish Island, Persian Gulf. *New Cellular and Molecular Biotechnology Journal* 4(16): 56-60.
- ³Gómez-Cabrera, M.C., J.C. Ortiz, W.K.W. Loh, S. Ward y O. Hoegh-Guldberg. 2008. Acquisition of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*) by juveniles of the coral *Acropora longicyathus*. *Coral Reefs* 27: 219-226. DOI: 10.1007/s00338-007-0315-x
- ⁴Granados, C., C. Camargo, S. Zea y J.A. Sánchez. 2008. Phylogenetic relationships among zooxanthellae (*Symbiodinium*) associated to excavating sponges (*Cliona* spp.) reveal an unexpected lineage in the Caribbean. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 49: 554-560. DOI: 10.1016/j.ympev.2008.07.023
- ⁵Hume, B.C.C., C.R. Voolstra, C. Arif, C. D'Angelo, J.A. Burt, G. Eyal, Y. Loya y J. Wiedenmann. 2016. Ancestral genetic diversity associated with the rapid spread of stress-tolerant coral symbionts in response to Holocene climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 113 (16): 4416-4421. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1601910113>
- ⁶Jeong, H.J., S.Y. Lee, N.S. Kang, Y.D. Yoo, A.S. Lim, M.J. Lee, H.S. Kim, W. Yih, H. Yamashita y T.C. Lajeunesse. 2014. Genetics and morphology characterize the dinoflagellate *Symbiodinium voratum*, n. sp., (Dinophyceae) as the sole representative of *Symbiodinium* Clade E. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 61 (1): 75-94. DOI: 10.1111/jeu.12088
- ⁷Klaus, J.S., I. Janse, J.M. Heikoop, R.A. Sanford y B.W. Fouke. 2007. Coral microbial communities, zooxanthellae and mucus along gradients of seawater depth and coastal pollution. *Environmental Microbiology* 9 (5): 1291-1305. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2007.01249.x
- ⁸Lien, Y.T., Y. Nakano, S. Plathong, H. Fukami, J.-T. Wang y C.A. Chen. 2007. Occurrence of the putatively heat-tolerant *Symbiodinium* phylotype D in high-latitude outlying coral communities. *Coral Reefs* 26: 35-44. DOI: 10.1007/s00338-006-0185-7
- ⁹Miura, O., T. Keawitawee, N. Sato y K-I Onodera. 2014. Vertical zonation of endosymbiotic zooxanthellae within a population of the intertidal sea anemone, *Anthopleura uchidai*. *Marine Biology* 161: 1745-1754. DOI: 10.1007/s00227-014-2456-0
- ¹⁰Mordret, S., S. Romac, N. Henry, S. Collin, M. Carmichael, C. Berney, S. Audic, D. J. Richter, X. Pochon, C. de Vargas y J. Decelle. 2016. The symbiotic life of *Symbiodinium* in the open ocean within a new species of calcifying ciliate (*Tiarina* sp.). *Journal of the International Society for Microbial Ecology* 10: 1424-1436. DOI: 10.1038/ismej.2015.211
- ¹¹Padilla-Gamiño, J.L., K.M. Hanson, M. Stat y R.D. Gates. 2012. Phenotypic plasticity of the coral *Porites rus*: Acclimatization responses to a turbid environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 434: 71-80. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.08.006>
- ¹²Pawlowski, J., M. Holzmann, J.F. Fahrni, X. Pochon y J.J. Lee. 2001. Molecular identification of algal Endosymbionts in large miliolid foraminifera: 2. Dinoflagellates. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 48 (3): 368-373. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2001.tb00326.x>
- ¹³Pochon, X., J. Pawlowski, L. Zaninetti y R. Rowan. 2001. High genetic diversity and relative specificity among *Symbiodinium*-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans. *Marine Biology* 139: 1069-1078. DOI: <https://doi.org/10.1007/s002270100674>
- ¹⁴Pochon, X., T. Lajeunesse y J. Pawlowski. 2004. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*: Dinophyta). *Marine Biology* 146 (1) 17-27. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00227-004-1427-2>
- ¹⁵Pochon, X., J.I. Montoya-Burgos, B. Stadelmann y J. Pawlowski. 2006. Molecular phylogeny, evolutionary rates, and divergence timing of the symbiotic dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 20-30. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2005.04.028>
- ¹⁶Pochon, X., H.M. Putnam, F. Burki y R.D. Gates. 2012. Identifying and characterizing alternative molecular markers for the symbiotic and free-living dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *PLoS ONE* 7 (1): e29816. DOI: 10.1371/journal.pone.0029816
- ¹⁷Pochon, X., R.D. Gates, D. Vik y P.J. Edmunds. 2014a. Molecular characterization of symbiotic algae (*Symbiodinium* spp.) in soritid foraminifera (*Sorites orbiculus*) and a scleractinian coral (*Orbicella annularis*) from St. John, US Virgin Islands. *Marine Biology* 161: 2307-2318. DOI: 10.1007/s00227-014-2507-6
- ¹⁸Pochon, X., H.M. Putnam y R.D. Gates. 2014. Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ*: e394. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.394>
- ¹⁹Richter, C., H. Roa-Quiaolt, C. Jantzen, M. Al-Zibdah y M. Kochzius. 2008. Collapse of a new living species of Giant Clam in the Red Sea. *Current Biology* 18: 1349-1354. DOI: 10.1016/j.cub.2008.07.060
- ²⁰Santos, S.R., D.J. Taylor, R.A. Kinzie, M. Hidaka, K. Sakai y M.A. Coffroth. 2002. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 97-111.
- ²¹Santos, S.R., R.A. Kinzie y M.A. Coffroth. 2003. Molecular characterization of nuclear small subunit (18S)-r DNA pseudogenes in a symbiotic dinoflagellate (*Symbiodinium*, Dinophyta). *The Journal of Eukaryotic Microbiology* 50 (6): 417-421. DOI: 10.1111/j.1550-7408.2003.tb00264.x
- ²²Venera-Ponton, D.E., G. Díaz-Pulido, M. Rodríguez-Lanetty y O. Hoegh-Guldberg. 2010. Presence of *Symbiodinium* spp. in macroalgal microhabitats from the southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 29: 1049-1060. DOI: 10.1007/s00338-010-0666-6
- ²³Wham, D.C., G. Ning y T.C. Lajeunesse. 2017. *Symbiodinium glynnii* sp. Nov., a species of stress-tolerant symbiotic dinoflagellates from pocilloporid and montiporid corals in the Pacific Ocean. *Phycologia* 56 (84): 396-409 DOI: 10.2216/16-86.1.
- ²⁴Yorifuji, M., H. Takeshima, K. Mabuchi, T. Watanabe y M. Nishida. 2015. Comparison of *Symbiodinium* dinoflagellate flora in sea slug populations of the *Pteraeolidia ianthina* complex. *Marine Ecology Progress Series* 521: 91-104. DOI: <https://doi.org/10.3354/meps11155>

*Secuencias bajadas directamente de GenBank

Tabla S3. Información de las secuencias de simbiontes (*Symbiodinium* sp.) incluidos en el análisis filogenético con el marcador molecular ITS2

nrITS2			
Designación de <i>Symbiodinium</i>	No. de acceso en GenBank	Fuente	Sitio de muestreo
D	EU333705, EU333706, EU333708, EU333710, EU333712, EU333714	Reimer y Todd, 2009 ¹⁵	Singapur
D	JX415676, JX415680, JX415695, JX415715, JX415730, JX415746, JX415760, JX415772, JX415784, JX415795, JX415805, JX415810, JX415814, JX415818	Lien <i>et al.</i> , 2013 ⁸	Japón
D	AB778692, AB778700, AB778706	Yorifuji <i>et al.</i> , 2015 ¹⁷	Japón
D	KU842010, KU842011, KU842012, KU842013, KU842014, KU842015, KU842016, KU842017, KU842018	Ng y Ang, 2016 ⁹	Hong Kong
D1	AF334660	LaJeunesse, 2001 ⁵	Japón
D1	JN558075, JN558076	Pochon <i>et al.</i> , 2012 ¹²	
D1.2	JN558077, JN558078, JN558081, JN558083		
D1	JQ003816, JQ003818, JQ003820, JQ003821, JQ003823	LaJeunesse y Thornhill, 2011 ⁷	Hawái
D1	KJ563096, KJ563100, KJ563104	D'Angelo <i>et al.</i> , 2015 ²	Golfo Pérsico
D1 D1.8 D1.9 D1.10 D1.11 D1.12 D1a	HE579036 HE579037 HE579038 HE579039 HE579040 HE579041 HE579042	Putnam <i>et al.</i> , 2012 ¹⁴	Isla Moorea, Polinesia Francesa
D1.1	AM748564	Pochon <i>et al.</i> , 2007 ¹¹	Guam, Micronesia
D1.1	JQ247049	Pochon <i>et al.</i> , 2014 ¹³	Guam, Micronesia
D1.2	AM748617	Carlos <i>et al.</i> , 1999 ¹	Palaos, Micronesia
D1.3 D1a	JF683337 JF683338, JF683339	Padilla-Gamiño <i>et al.</i> , 2012 ¹⁰	Hawái
D1.6	HQ630880, HQ630881	Stat <i>et al.</i> , 2011 ¹⁶	Hawái
D1.9	AF174559	No publicado*	Tailandia
D1a	KP109701	No publicado*	Islas Vírgenes
D1a	AF499802	LaJeunesse, 2002 ⁶	Caribe
D4	DQ865214	Hunter <i>et al.</i> , 2007 ¹	Mar Rojo
D15	KP748462	De Palmas <i>et al.</i> , 2015 ³	Corea del Sur

¹ Carlos, A.A. 1999. Phylogenetic position of *Symbiodinium* (Dinophyceae) isolates from tridacnids (Bivalvia), Cardids (Bivalvia), a sponge (Porifera), a soft coral (Anthozoa), and a free-living strain. *Journal of Phycology* 35: 1054-1062. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.1999.3551054.x>

² D'Angelo, C., B.C.C. Hume, J. Burt, E.G. Smith, E.P. Achterberg y J. Wiedenmann. 2015. Local adaptation constrains the distribution potential of heat-tolerant *Symbiodinium* from the Persian/Arabian Gulf. *Journal of the International Society for Microbial Ecology* 9(12): 2551-2560. DOI: 10.1038 / ismej.2015.80

³ De Palmas, S., V. Denis, L. Ribas-Deulofeu, M. Loubeyres, S. Woo, S.J. Hwang, J.I. Song y C.A. Chen. 2015. *Symbiodinium* spp. Associated with high-latitude scleractinian corals from Jeju Island, South Korea. *Coral Reefs* 34: 919-925. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1286-y>

⁴ Hunter, R.L., T.C. LaJeunesse y S.R. Santos. 2007. Structure and Evolution of the r DNA Internal Transcribed Spacer (ITS) region 2 in the symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*, Dinophyta). *Journal of Phycology* 43: 120-128. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2006.00309.x>

⁵ LaJeunesse, T.C. 2001. Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: in a search of a "species" level marker. *Journal of Phycology* 37: 866-880. <https://doi.org/10.1046/j.1529-8817.2001.01031.x>

⁶ LaJeunesse, T.C. 2002. Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Marine Biology* 141: 387-400. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00227-002-0829-2>

⁷ LaJeunesse, T.C. y D.J. Thornhill. 2011. Improved resolution of reef-coral endosymbiont (*Symbiodinium*) species diversity, ecology, and evolution through psbA non-coding region genotyping. *PLoS ONE* 6 (12): e29013. DOI: 10.1371/journal.pone.0029013

⁸ Lien, Y.-T., S. Keshavmurthy, Y. Nakano, S. Plathong, H. Huang, C.-H. Hsu, H. Fukami, Y. Yamashita, H.J. Hsieh, J.-T. Wang y C.A. Chen. 2013. Host genetics and *Symbiodinium* D diversity in a stress-tolerant scleractinian coral, *Oculastrea crispata*, in the West Pacific. *Marine Ecology Progress Series* 473: 163-177. DOI: <https://doi.org/10.3354/meps10041>

⁹ Ng, Y.T. y P. Ang. 2016. Low symbiont diversity as a potential adaptive strategy in a marginal non-reef environment: a case study of corals in Hong Kong. *Coral Reefs* 35: 941-957. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00338-016-1458-4>

¹⁰ Padilla-Gamiño, J.L., X. Pochon, C. Bird, G.T. Concepcion y R.D. Gates. 2012. From parent to gamete: vertical transmission of *Symbiodinium* (Dinophyceae) ITS2 sequence assemblages in the reef building coral *Montipora capitata*. *PLoS ONE* 7 (6): e38440. DOI: 10.1371/journal.pone.0038440

¹¹ Pochon, X., L. García-Cuetos, A.C. Baker, E. Castella y J. Pawlowski. 2007. One-year survey of a single Micronesian reef reveals extraordinarily rich diversity of *Symbiodinium* types in soritid foraminifera. *Coral Reefs* 26: 867-882. DOI: 10.1007/s00338-007-0279-x

¹² Pochon, X., H.M. Putnam, F. Burki y R.D. Gates. 2012. Identifying and characterizing alternative molecular markers for the symbiotic and free-living dinoflagellate genus *Symbiodinium*. *PLoS ONE* 7 (1): e29816. DOI: 10.1371/journal.pone.0029816

¹³ Pochon, X., H.M. Putnam y R.D. Gates. 2014. Multi-gene analysis of *Symbiodinium* dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ*: e394. DOI: <https://doi.org/10.7717/peerj.394>

¹⁴ Putnam, H.M., M. Stat, X. Pochon y R.D. Gates. 2012. Endosymbiotic flexibility associates with environmental sensitivity in scleractinian corals. *Proceedings of the Royal Society B* 279: 4352-4361. DOI: 10.1098/rspb.2012.1454

¹⁵ Reimer, J.D. y P.A. Todd. 2009. Preliminary molecular examination of zooxanthellae zoanthids (Hexacorallia: zoantharia) and associated zooxanthellae (*Symbiodinium*) diversity in Singapore. *The Raffles Bulletin of Zoology* 22: 103-120.

¹⁶ Stat, M., C.E. Bird, X. Pochon, L. Chasqui, L.J. Chauka, G.T. Concepcion, D. Logan, M. Takabayashi, R.J. Toonen y R.D. Gates. 2011. Variation in *Symbiodinium* ITS sequence assemblages among coral colonies. *PLoS ONE* 6 (1): e15854. DOI: 10.1371/journal.pone.0015854

¹⁷ Yorifuji, M., H. Takeshima, K. Mabuchi, T. Watanabe y M. Nishida. 2015. Comparison of *Symbiodinium* dinoflagellate flora in sea slug populations of the *Pteraeolidia ianthina* complex. *Marine Ecology Progress Series* 521: 91-104. DOI: <https://doi.org/10.3354/meps11155>

*Secuencias bajadas directamente de GenBank