

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Ecología Marina**

**Estructura y diversidad genéticas de la estrella de mar Corona
de Espinas (*Acanthaster cf. solaris*) en el Golfo de California**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Erick Bolaños Duran

Ensenada, Baja California, México
2020

Tesis defendida por
Erick Bolaños Duran

y aprobada por el siguiente Comité

Dr. Axayácatl Rocha Olivares
Co-director de tesis

Dr. David Arturo Paz García
Co-director de tesis

Miembros del comité

Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera

Dra. María Clara Arteaga Uribe



Dr. Jorge Adrián Rosales Casián
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

Dra. Rufina Hernández Martínez
Directora de Estudios de Posgrado

Erick Bolaños Duran © 2020

Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis

Resumen de la tesis que presenta **Erick Bolaños Duran** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina.

Estructura y diversidad genéticas de la estrella de mar Corona de Espinas (*Acanthaster cf. solaris*) en el Golfo de California

Resumen aprobado por:

Dr. Axayácatl Rocha Olivares
Co-director de tesis

Dr. David Arturo Paz García
Co-director de tesis

Los *outbreaks* de las estrellas de mar “corona de espinas” (*Acanthaster cf. solaris*, COTS) son consideradas unas de las mayores amenazas ecológicas para los arrecifes de coral en el Indo-Pacífico, debido a las altas tasas de depredación sobre los corales escleractinios. En el Pacífico mexicano, se registró el primer *outbreak* de esta estrella en la Isla Espíritu Santo al sur del Golfo de California (GC) en el 2017. Dados los impactos ecológicos de dichos eventos sobre los sistemas arrecifales coralinos, es importante conocer el origen de las estrellas que lo conformaron. Por ello, el objetivo del presente trabajo fue analizar la diversidad y estructura genéticas de *A. cf. solaris* en el GC con el fin de reconocer la existencia de una o más poblaciones, identificar los sitios de origen de los organismos que formaron el *outbreak* que ocurrió en 2017 y explorar por primera vez en México los procesos filogeográficos que han moldeado la variabilidad genética de la especie. Para esto, se amplificaron la región control (RC) y el gen citocromo oxidasa subunidad 1 (COI) del genoma mitocondrial de 164 individuos recolectados en tres regiones del Golfo de California (Centro, Peninsular Central y Peninsular Sur) y de la Isla Clarión (Archipiélago de Revillagigedo). Para la RC y el gen COI, se identificaron 65 ($n = 114$) y 10 ($n = 10$) haplotipos, respectivamente. La diversidad haplotípica de la RC fue alta (RC: 0.978 ± 0.006) en todas las regiones del GC. Se observó una diferenciación genética entre las COTS analizadas en el área de estudio ($\phi_{ST} = 0.09$, $p = 0.02$) donde las estrellas de ICLA fueron las que presentaron mayor diferenciación genética. Dentro del GC se observó una homogeneidad genética, la cual puede atribuirse a una alta capacidad de dispersión larvaria a través del GC. No se identificó una diferenciación genética entre las estrellas del *outbreak* ($n=65$) con respecto a los de otros sitios del GC ($n=45$), indicando que las estrellas que formaron dicho evento representan una fracción de una población panmíctica. Se identificaron dos linajes mitocondriales de *A. cf. solaris* dentro del GC. De acuerdo con los análisis filogenéticos, los dos linajes divergieron alopátricamente por la distancia que separa las cuencas oceanográficas (GC, Pacífico central y occidental). Posteriormente un posible contacto secundario con COTS descendientes de estrellas que se encontraban en la Polinesia Francesa provocó la mezcla de linajes observado en este estudio. Además, ambos linajes presentaron signos de expansión demográfica histórica en el GC, posiblemente después del Último Máximo Glaciar cuando surgieron hábitats para las COTS.

Palabras clave: *ADNmt; outbreak; homogeneidad genética; expansión demográfica; filogeografía*

Abstract of the thesis presented by **Erick Bolaños Duran** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology.

Genetic structure and diversity of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster cf. solaris*) in the Gulf of California

Abstract approved by:

Dr. Axayácatl Rocha Olivares
Co-director de tesis

Dr. David Arturo Paz García
Co-director de tesis

Outbreaks of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster cf. solaris*, COTS) are considered one of the greatest ecological threats to coral reefs in the Indo-Pacific, due to the high rates of predation on scleractinian corals. In the Mexican Pacific, the first outbreak of this star was recorded on Espiritu Santo Island in the southern Gulf of California (GC) in 2017. Given the ecological impacts of these events on the coral reef systems, it is important to know the origin of the stars that formed it. Therefore, the objective of this study was to analyze the genetic diversity and structure of *A. cf. solaris* in the GC, in order to recognize the existence of one or more populations, identify the sites of origin of the organisms that formed the outbreak that occurred in 2017 and explore for the first time in Mexico the phylogeographic processes that have shaped the genetic variability of this specie. For this, the control region (CR) and the cytochrome oxidase subunit 1 (COI) gene of the mitochondrial genome were amplified of 164 individuals collected in three regions of the Gulf of California (Central, Central Peninsular and South Peninsular) and Clarión Island (Revillagigedo Archipelago). For CR and the COI gene, 65 ($n = 114$) and 10 ($n = 10$) haplotypes were identified, respectively. The haplotype diversity of the CR was high (CR: 0.978 ± 0.006) in all regions of the GC. A genetic differentiation was observed between the COTS analyzed in the study area ($\phi_{ST} = 0.09$, $p = 0.02$) where the starfish of ICLA were the ones that presented greater genetic differentiation. In the CG a genetic homogeneity was observed, which can be attributed to a high larval dispersal capacity through the GC. A genetic differentiation was not identified between the starfish of the outbreak ($n = 65$) with individuals of other sites in the CG ($n = 45$), indicating that the COTS that formed the outbreak represent a fraction of a panmictic population. Two mitochondrial lineages of *A. cf. solaris* inside the GC were identified. According to the phylogenetic analyzes, the two lineages diverged allopatrically by the distance that separates the oceanographic basins (GC, central and western Pacific), then a possible recent secondary contact of COTS from French Polynesia in the GC, which caused the mixture of lineages observed in this studio. In addition, both lineages showed signs of historical demographic expansion in the GC, possibly after the Last Glacial Maximum when habitats were emerged for COTS.

Keywords: *mtDNA; outbreak; genetic homogeneity; demographic expansion; phylogeography*

Dedicatoria

A mi mamá Patricia ...

A mi papá Roberto ...

A Angélica ...

A todos mis amigos que estuvieron apoyando en todo momento...

A todos lo que lean esta tesis, espero que la disfruten...

Agradecimientos

Al **Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada (CICESE)**, por aceptarme dentro de su programa de posgrado y permitirme realizar mis estudios.

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por la beca otorgada para mi manutención durante periodo de agosto del 2018 a agosto del 2020, con número de becario 901426.

Al **Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)** por brindarme un espacio para poder realizar parte de mi proyecto de tesis.

A mi codirector el **Dr. Axayácatl Rocha-Olivares** por aceptarme como su estudiante y por su disposición de tiempo para tener discusiones para resolver dudas sobre mi tesis, por sus comentarios para que no me conformara y siempre seguir progresando para ser un buen científico. Siempre fue un privilegio ser su estudiante ¡muchas gracias Dr.!

A mi codirector el **Dr. David A. Paz García** por aceptarme como estudiante, por la confianza que pusiste en mi para hacer este proyecto, por sus consejos, por enseñarme todo lo que tenía que ver con el laboratorio, por su guía, las reuniones virtuales, los retos que me pusiste para siempre mejorar y sobre todo por tu amistad. ¡Muchas gracias, David!

Al **Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera** por aceptar ser parte de mi comité, por su apoyo durante la realización de esta tesis.

A la **Dra. María Clara Arteaga-Uribe**, por aceptar formar parte de mi comité, por sus comentarios y sugerencias que sirvieron para mejorar este proyecto y por su clase que sin lugar a duda fue una de las mejores que tuve durante el posgrado.

Al **Dr. Adrián Munguía Vega** por brindarme un espacio en su laboratorio y por prestarme el equipo de laboratorio necesario para realizar una de las partes más cruciales de mi proyecto.

Al **Dr. Paz, Iris, Karla, David y Mijail** que ayudaron a la recolección de muestras para hacer esta tesis.

A los integrantes del laboratorio **@Lab Applied Genetics Research**, principalmente a Manuel y a Tania que me ayudaron en cualquier duda que tenía sobre el uso del equipo de laboratorio.

A mis compañeras del **Laboratorio de Ecología Molecular** del Dr. Axayacatl, por sus comentarios y por haberme escuchado en todas las reuniones que realizamos y especialmente a Ivonne por brindarme un espacio en el laboratorio para poder hacer mis análisis en la oficina mientras se podía.

A los integrantes del **Laboratorio de Investigación Integrativa para la Biodiversidad Genómica Marina (Marine BioGenomics)** y a sus integrantes por su ayuda en el laboratorio, por escucharme y sus comentarios durante las reuniones virtuales y presenciales. Gracias a David, Jorge y Edwin por ayudarme a extraer el ADN de las muestras.

A mis **amigos y amigas de la generación 2018-2020**. Dani, Alexis, Abdiel, Clau, Pati, Miriam, Fer, gracias por esas salidas para ir por las “frías”, las pláticas llenas de risa y de preguntas elocuentes para discutir entre nosotros. Sin lugar a duda los voy a extrañar, espero que todas sus metas se cumplan y podamos vernos pronto.

A **mis roomies** Meño, Edi y Mau por la compañía y las noches de chelas que hicieron menos aburrida mi estadía en Ensenada, durante esta cuarentena. Especialmente a **Miriam**, gracias por tus consejos y ánimos en momentos donde no veía la luz al final del túnel. Muchas gracias, Miriam, ¡tú puedes!

Una mención especial a **Lucho** por acompañarme en esas noches de desvelos y que gracias a que se dejaba acariciar mi estrés se desvanecía.

A mis **amigos de Xalapa** Luis, Gera, Quiroga, Cecilio, Jess, quienes siempre estuvieron al pendiente de mí, se los agradezco.

A **mi familia** que siempre me apoyó desde lejos. Muchas gracias.

A **Angélica** por el amor incondicional que me brindas, por apoyarme en las buenas y en las malas durante este proceso. Siempre estuviste conmigo, aunque a veces a la distancia nunca estuviste ausente. Te agradezco mucho y también eres parte de este logro.

A la ciencia, el mar y toda la biodiversidad que resguarda...

Tabla de contenido

Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatoria.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas.....	xi
Capítulo 1. Introducción.....	1
1.1 Biología de <i>Acanthaster cf. solaris</i>	4
1.2 Estudios genéticos del género <i>Acanthaster</i> en el Pacífico.....	6
1.3 Estudios de estructura genética y filogeografía en el Golfo de California.....	8
1.4 Diversidad genética de equinodermos en el Golfo de California.....	9
1.5 Justificación.....	9
1.6 Hipótesis.....	10
1.7 Objetivos.....	11
1.7.1 Objetivo general.....	11
1.7.2 Objetivos específicos.....	11
Capítulo 2 Materiales y métodos.....	12
2.1 Sitios de estudio y recolección de muestras.....	12
2.2 Trabajo de laboratorio.....	13
2.2.1 Extracción de ADN.....	13
2.2.2 Amplificación y análisis de fragmentos de ADNmt.....	14
2.3 Análisis de datos.....	14
2.3.1 Análisis de la diversidad genética.....	14
2.3.2 Análisis filogeográfico.....	15
2.3.3 Estructura genética.....	15
2.3.4 Historia demográfica.....	16
2.3.5 Análisis filogenéticos de <i>A. cf. solaris</i> en el Pacífico.....	17
Capítulo 3. Resultados.....	19
3.1 Diversidad genética.....	19
3.2 Análisis filogeográfico.....	20
3.3 Diferenciación genética poblacional.....	25
3.3.1 Diferenciación genética entre linajes.....	25
3.3.2 Diferenciación genética entre regiones.....	25

3.3.3 Diferenciación genética entre regiones del linaje 1.....	26
3.3.4 Diferenciación genética entre el <i>outbreak</i> y estrellas circundantes dentro del GC con densidad poblacional estable	26
3.4 Historia demográfica	27
3.5 Filogenia de <i>A.cf. solaris</i> en el océano Pacífico	32
Capítulo 4. Discusión	35
4.1 Alta variabilidad genética de <i>A. cf. solaris</i> en el GC	35
4.2 Dos linajes de <i>A. cf. solaris</i> a lo largo del GC.....	36
4.3 El ADNmt indica que <i>A. cf. solaris</i> es una población panmíctica dentro del GC.....	37
4.4 Reciente expansión demográfica y espacial en los dos linajes en el GC.....	40
4.5 Origen <i>A. cf. solaris</i> en el GC y sus relaciones filogenéticas con COTS del Pacífico central.....	41
4.6 Aspectos genéticos de <i>A. cf. solaris</i> en el GC pendientes de resolver	44
Capítulo 5. Conclusiones	45
Literatura citada	47
Anexos	56

Lista de figuras

- Figura 1.** Esquema del ciclo de vida de *A. cf. solaris* (modificado de Pratchett et al., 2014). Los colores indican los diferentes procesos del ciclo de vida de las COTS. Verde: ecología de adultos y desove masivo en la zona bentónica. Naranja: Fertilización y embriogénesis en la zona pelágica. Azul: desarrollo de la larva pelágica. Amarillo: proceso de post asentamiento.....5
- Figura 2.** Distribución geográfica de 4 clados de *Acanthaster* identificados mediante el gen COI (modificado de Vogler et al., 2008). Los colores de las gráficas circulares representan cada uno de los clados. Verde= océano Pacífico (*A. solaris*), amarillo= norte del océano Índico (*A. planci*), azul= sur del océano Índico (*A. mauritiensis*) y rojo= Mar Rojo (*Acanthaster* sp.).....6
- Figura 3.** Localización de los sitios de muestreo. Los puntos muestran los sitios de muestreo donde se colectaron material biológico de *A. cf. solaris*. ISPM=Isla San Pedro Mártir, ISPNB= Isla San Pedro Nolasco (La Bufadora), ISPNP= Isla San Pedro Nolasco (Pirámide), IT= Isla Tortuga, ISI= Isla San Idelfonso, ICOR= Isla Coronado, PE=Puerto Escondido, SUB= Submarino, CAN= Candelerero, IM= Isla Monserrat, ICA= Isla Catalana, ISM= Isla San Mateo, LA= Las ánimas, ISJ= Isla San José, PSG =Punta San Gabriel (Isla Espíritu Santo), CORR= Corralito (Isla Espíritu Santo), CSL=Canal de San Lorenzo, CALE= Calerita, PD= Punta Diablo, IG= Isla Gaviotas, LC= Las cruces, ICS= Isla Cerralvo Sur, FAR= Farallón, ICLA= Islas Clarión (Islas de Revillagigedo).12
- Figura 4.** Comparación de la diversidad genética de los marcadores moleculares amplificados. A, Diversidad haplotípica (\pm DE). B, Diversidad nucleotídica (\pm DE). Cada barra representa el marcador molecular amplificado, las líneas negras representan la desviación estandar y el número de muestras se encuentra entre paréntesis.19
- Figura 5.** Diversidad genética de la RC en las COTS de cada región del Golfo de California. A, Diversidad haplotípica (\pm DE). B, Diversidad nucleotídica (\pm DE). Cada barra representa una región dentro del GC, las líneas amarillas representan la desviación estandar y el número de muestras se encuentra entre paréntesis.20
- Figura 6.** Abundancia y distribución de los dos linajes de *A. cf. solaris* en el GC (A) y árbol filogenético bayesiano enraizado de los 65 haplotipos generados con la RC (B). Regiones: GCC, Golfo de California Central; PC, Peninsular Central; PS, Peninsular Sur; ICLA, Isla Clarión.....21
- Figura 7.** Red que muestra la genealogía de haplotipos de la RC en *A. cf. solaris* en las regiones del GC e ICLA. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red. En colores se muestran las distintas regiones a las que pertenecen cada uno de los haplotipos.23
- Figura 8.** Red que muestra la genealogía de haplotipos de la RC en *A. cf. solaris*. Estrellas que no pertenecieron al *outbreak* (verde) y los que están presentes en el *outbreak* (rojo). El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red.24

- Figura 9.** Análisis de distribución de las diferencias pareadas de secuencias de la RC de los linajes 1 y 2 de *A. cf. solaris* dentro del GC. Las barras representan los valores observados, la línea roja los datos esperados bajo un modelo de expansión demográfica y la línea azul recortada, los datos esperados bajo un modelo de expansión espacial.28
- Figura 10.** Análisis de distribución de las diferencias pareadas de secuencias de la RC en *A. cf. solaris* en las regiones del GC. Las barras representan los valores observados, la línea roja los datos esperados bajo un modelo de expansión demográfica y la línea azul recortada, los datos esperados bajo un modelo de expansión espacial.....30
- Figura 11.** Bayesian Skyline plot de secuencias de la RC de *A. cf. solaris* pertenecientes al linaje 1. La línea negra representa la mediana estimada y el fondo azul los intervalos de confianza al 95%.31
- Figura 12.** Bayesian Skyline plot de secuencias de la RC de *A. cf. solaris* pertenecientes al linaje 2. La línea negra representa la mediana estimada y el fondo azul los intervalos de confianza al 95%.31
- Figura 13.** Árbol filogenético bayesiano enraizado. Los nodos con valores de soporte estadístico 80% se representan con círculos negros. Las ramas están coloreadas de acuerdo a las regiones a donde pertenecen las COTS. En rojo los haplotipos del linaje 1 del GC ; haplotipos del linaje 2 en GC, cian; haplotipos de Hawaii, en naranja; haplotipos de la Polinesia Francesa, en verde; haplotipos presentes en el Pacífico occidental, en negro; haplotipos de el Pacífico central, en violeta. Las estrellas rojas representan haplotipos presentes en ICLA y los pentágonos azules, los haplotipos encontrados en Costa Rica y Panamá.....34
- Figura 14.** Red que muestra la genealogía de haplotipos del gen COI en *A. cf. solaris* en las regiones del GC e ICLA. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red. En colores se muestran las distintas regiones a las que pertenecen cada uno de los haplotipos.59
- Figura 15.** Mapa de la presencia de los clados de *A. cf. solaris* en el océano Pacífico.60

Lista de tablas

Tabla 1. Número de individuos analizados de <i>A.cf solaris</i> para su caracterización genética por región de colecta dentro del GC	13
Tabla 2. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en <i>A. cf. solaris</i> , entre los linajes encontrados de las COTS dentro del GC.....	25
Tabla 3. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en <i>A. cf. solaris</i> , entre todas las regiones.....	25
Tabla 4. Índices de fijación (ϕ_{ST}) para las tres regiones del GC, Corralitos e ICLA, de la RC. Debajo de la diagonal los valores pareados de ϕ_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p.	26
Tabla 5. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en <i>A. cf. solaris</i> , entre las COTS presentes en el <i>outbreak</i> vs individuos de otras regiones que no estuvieron en el evento	27
Tabla 6. Pruebas de neutralidad de la RC de los linajes presentes del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).....	27
Tabla 7. Parámetros del análisis de distribución de diferencias pareadas de las secuencias de RC en el linaje 1 dentro de las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).	28
Tabla 8. Pruebas de neutralidad de la RC en las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).....	29
Tabla 9. Parámetros del análisis de distribución de diferencias pareadas de las secuencias de RC en el linaje 1 dentro de las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).	29
Tabla 10. Valores de diversidad genética observados en equinodermos con estadios larvarios meroplanctónicos.	36
Tabla 11. Número de individuos seleccionados para la extracción de ADN y para amplificación de COI y RC.	56
Tabla 12. Regiones y referencias donde pertenecen las secuencias utilizadas para el análisis filogenético en el océano Pacífico.	57
Tabla 13. Diversidad genética del ADNmt (COI y RC) de <i>Acanthaster cf. Solairs</i> en el Golfo de California.....	58
Tabla 14. Diversidad genética de la RC en COTS en las regiones del Golfo de California.....	58

Tabla 15. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en *A. cf. solaris* del linaje 1, entre todas las regiones.59

Tabla 16. Índices de fijación (ϕ_{ST}) para las COTS del linaje 1 en las regiones del GC, Corralitos e ICLA, de la RC. Debajo de la diagonal los valores pareados de ϕ_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p , en negrita los valores significativos después de la corrección de Bonferroni.60

Capítulo 1. Introducción

En la actualidad uno de los ecosistemas más vulnerables son los arrecifes de coral, dichos ecosistemas se encuentran en declive debido a impactos por la actividad humana y por causas naturales (De'ath et al., 2012; Hughes et al., 2017). Por ejemplo, la eutrofización en dichos ecosistemas ocasionada por las descargas de aguas residuales al océano (Lapointe et al., 2019), el aumento de la temperatura superficial que induce el blanqueamiento de corales zooxantelados (Hughes et al., 2018), o el incremento rápido en la abundancia de diversas especies coralívoras que causan pérdidas masivas de corales hermatípicos. Es por ello que comprender la ecología de las especies coralívoras es importante para reconocer el estado de salud de los ecosistemas de arrecifes de coral (Rice et al., 2019).

El grupo de los coralívoros está conformado por especies de diferentes taxa, como peces, moluscos, anélidos y equinodermos (Rice et al., 2019). Dichas especies pueden inhibir el crecimiento y la reproducción sexual de los corales escleractinios, debido a la remoción de su tejido y/o esqueleto (Henry y Hart, 2005). Algunas especies ocasionan mortalidades masivas, provocando disturbios ecológicos en los ecosistemas coralinos, por lo que son consideradas como uno de los principales estresores naturales de los corales formadores de arrecife (Kayal et al., 2012; Saponari et al., 2018; Rice et al., 2019).

Una especie coralívora a la que se ha prestado mayor atención es la estrella de mar *Acanthaster cf. solaris*, mejor conocida como "corona de espinas" o COTS (por sus siglas en inglés *crown of thorns starfish*) (Birkeland 1989). Esta especie normalmente se encuentra en densidades poblacionales menores a 1 ind ha⁻¹ y no representa un peligro para los ecosistemas arrecifales (Uthicke et al., 2009; Pratchett et al., 2017). No obstante, ocasionalmente experimentan pulsos de incremento en su densidad poblacional, fenómeno conocido como "outbreak" en inglés o explosión demográfica (Birkeland y Lucas, 1990; Uthicke et al., 2009; Pratchett et al., 2014). En dichos eventos, las poblaciones pueden aumentar hasta 100 ind ha⁻¹ en un lapso de uno y dos años (Birkeland y Lucas, 1990; Pratchett et al., 2014). Durante este tiempo las COTS presentan altas tasas de depredación sobre los corales escleractinios, disminuyendo significativamente sus poblaciones (De'ath et al., 2012). Lo anterior ocasiona un desequilibrio en la ecología de los arrecifes de coral, llegando a cambios extremos conocidos como cambios de fase, en los que un arrecife coralino puede pasar de ser dominado por corales escleractinios a ser dominado por corales blandos y macroalgas, lo que dificulta su recuperación posterior al disturbio (Pratchett 2010). Por tanto, las COTS son consideradas uno de los agentes de disturbio ecológico más importantes en arrecifes coralinos en el Indo-Pacífico (Moran 1986).

Las COTS se distribuyen en el Pacífico Oriental desde el Golfo de California e Islas Revillagigedo en México, islas Clipperton, Costa Rica, Panamá, hasta las costas de Colombia y Ecuador (Reyes-Bonilla et al., 2005; Luna-Salguero y Reyes-Bonilla, 2010; Zapata et al., 2017). Mientras que en el Pacífico Occidental se ha documentado en Japón hasta la Polinesia Francesa y Australia, donde se han observado con mayor frecuencia la presencia de los *outbreaks* (Yasuda et al., 2009; De'ath et al., 2012; Kayal et al., 2012). En estos lugares donde se ha realizado investigación por más de 30 años aún no se comprenden los mecanismos desencadenantes de la formación de los *outbreaks* (Pratchett et al., 2017). Una pregunta particularmente relevante para el entendimiento de la formación de los *outbreaks* es: ¿Cuál es el origen geográfico de los organismos responsable de dichos eventos?

Para entender el origen geográfico de los individuos que formaron los *outbreaks*, es necesario comprender la propagación de las COTS entre sitios, ya sea vía dispersión larvaria o por movimiento de estrellas adultas. Sin embargo lo anterior es complicado de observar directamente en campo, por tal motivo se han empleado métodos indirectos, como el uso de herramientas moleculares (Yasuda et al., 2009; Timmers et al., 2012; Harrison et al., 2017). Esto se debe a que dichas herramientas ayudan a inferir la relación genética entre poblaciones discretas, lo que permite identificar el origen de organismos que forman los *outbreaks* y sus rutas de dispersión (Blacket et al., 2017; Harrison et al., 2017; Van De Vossenbergh et al., 2019).

En general, las especies marinas bentónicas con un estado larvario meroplactónico y capacidad de dispersión mediante procesos oceanográficos (corrientes y remolinos de mesoescala), suelen carecer de estructura genética (Cowen y Sponaugle, 2009; Hellberg 2009). Esto se debe a que sus poblaciones presentan altas tasas de flujo genético y dados a sus grandes tamaños efectivos entre poblaciones, un bajo efecto de la deriva génica (cambio en las frecuencias alélicas por eventos azarosos) provocando homogeneización genética. Por el contrario, la existencia de algún tipo de barrera geográfica, de un alto efecto de deriva génica y de bajos niveles de flujo génico provoca que cada población diverja y se establezcan linajes evolutivos distintos (Hellberg et al., 2002; Hellberg 2009).

En especies bentónicas como las COTS, es importante identificar las posibles barreras geográficas que han moldeado la distribución de la diversidad genética (Vogler et al., 2013; Yasuda et al., 2014). Ya que dicha información es necesaria para entender los procesos evolutivos, así como también reconocer la influencia de las barreras geográficas del pasado y presente sobre el flujo de genes de la especie (Hellberg 2007).

Las secuencias de ADN mitocondrial (ADNmt) son ampliamente utilizadas, para análisis filogeográficos y de genética de poblaciones (Avice 2002). Gracias a que son fácilmente amplificables mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés *Polymerase Chain Reaction*). Además, se han utilizado con éxito para el análisis de la diversidad genética de las poblaciones de las COTS (Timmer et al., 2012; Vogler et al., 2013).

Para los metazoarios el ADNmt tiene un tamaño de 15 a 17 kb. Es una molécula circular de doble cadena que codifica 37 genes, de los cuales 22 codifican ARNs de transferencia (ARNt), 2 ARN ribosomales (ARNr), y 13 codifican proteínas. Además, presenta una región no codificante de alrededor de 1000 pb denominada región control (Lunt et al., 1998). Las propiedades más interesantes del ADNmt para el estudio de genética de poblaciones en animales son: su herencia generalmente matrilineal, su alta tasa de sustitución a nivel de secuencias nucleotídicas, nula recombinación y su alta variación intraespecífica. Estas propiedades hacen posible trazar historias filogeográficas, inferir los cambios demográficos históricos y vías de dispersión entre especies (Hellberg et al., 2002). Por ejemplo, con secuencias de ADN mitocondrial del gen de citocromo oxidasa subunidad 1 (COI) se identificó que el género *Acanthaster* se trataba de un complejo de especies compuesto por cuatro linajes altamente divergentes, donde *A. cf. solaris* comprende el linaje del Pacífico (Vogler et al., 2008). Mientras que con la región control (RC), un marcador con mayor tasa mutacional ha ayudado a distinguir poblaciones de COTS diferenciadas genéticamente en el océano Pacífico, lo que indica que el linaje de *A. cf. solaris* es más estructurado de lo que se pensaba (Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013). Esto permitió identificar las posibles fuentes de individuos que conformaron los *outbreaks* en esa zona, así como también las posibles vías de dispersión de la especie entre regiones oceanográficas en el Pacífico (Timmers et al., 2011; 2012; Vogler et al., 2013).

La investigación en COTS usando marcadores moleculares solo se han centrado en identificar poblaciones presentes en las costas occidentales (Yasuda et al, 2009) y de las islas al centro en el océano Pacífico (Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013; Yasuda et al., 2014). Sin embargo, hay un vacío de conocimiento sobre la diversidad genética en las COTS presentes en el Pacífico oriental. Los análisis moleculares en 14 individuos de Panamá y Costa Rica indican que están estructuradas genéticamente con respecto al resto de las poblaciones del Pacífico, pero comparten haplotipo con COTS del Pacífico occidental (Vogler et al., 2013). Debido al bajo número de individuos analizados, tres revisiones científicas de la especie han hecho hincapié en obtener más información en la genética de las poblaciones presentes en el Pacífico oriental (Haszprunar y Spies, 2014; Haszprunar et al., 2017; Pratchett et al., 2017), como, por ejemplo, en costas mexicanas donde se distribuye esta especie.

En México, *A. cf. solaris* se distribuye en las Islas Revillagigedo, el Pacífico central mexicano y en el Golfo de California (GC) (Honey-Escandón et al., 2008; Luna-Salguero y Reyes-Bonilla, 2010; Hermosillo-Nuñez et al., 2015; Padilla-Pérez et al., 2017). Sin embargo, son pocos los trabajos que se dedican a describir la ecología y la genética de poblaciones de la especie y la mayoría de los estudios son menciones breves acerca de su abundancia en el Pacífico mexicano. Por lo tanto, entender la distribución de su diversidad genética es necesario para comprender los procesos evolutivos de dicha especie dentro del GC y en todo el Pacífico. Además, en México las COTS han recibido poca atención científica ya que normalmente se encuentra en densidades poblacionales menores a 1 ind ha⁻¹ y no representan una amenaza para las comunidades coralinas (Reyes-Bonilla et al., 2005, Luna-Salguero y Reyes- Bonilla, 2010). No obstante, recientemente se reportó el primer *outbreak* en el Pacífico mexicano y se presentó en el GC, específicamente en la Isla Espíritu Santo, La Paz, Baja California Sur (Rodríguez-Vilalobos y Ayala-Bocos, 2018). Sin embargo, al ser un hecho reciente poco se conoce sobre los factores que promovieron que las estrellas formaran este evento. El uso de marcadores moleculares podría ayudar a identificar el origen geográfico de las COTS que ocasionaron dicho evento.

Por lo anterior, en este estudio se utilizaron marcadores mitocondriales con el fin de identificar el origen del *outbreak* registrado en la Isla Espíritu Santo, La Paz, Baja California Sur. Específicamente, se analizaron los niveles de diversidad y estructuración genéticas para estimar el origen geográfico de los organismos y para inferir la historia demográfica de la especie *A. cf. solaris*. Adicionalmente se realizó un análisis filogenético integrativo para comprender las relaciones evolutivas de las COTS del GC con otras del océano Pacífico.

1.1 Biología de *Acanthaster cf. solaris*

La COTS están asociadas a arrecifes coralinos y pueden habitar en zonas rocosas en el Pacífico oriental (Reyes-Bonilla y Calderon-Aguilera, 1999). Se ha observado que en el Indo-Pacífico se alimentan principalmente de corales del género *Acropora*, *Pocillopora*, *Porites* (Moran 1986; Pratchett 2001). Mientras que, en el Pacífico oriental, por la baja cobertura coralina, su dieta es más generalista al alimentarse también de algas (calcáreas, tapetes y frondosas) (Hernández-Morales 2018).

El ciclo de vida de las COTS consiste en un estadio adulto bentónico y un estadio larvario meroplanctónico (Figura 1). Las COTS adultas presentan alta fertilización y su desove es sincrónico, donde el éxito

reproductivo depende de la cercanía entre hembras y machos durante esta actividad (Babcock et al., 1994). Los huevos fertilizados se desarrollan en la columna de agua y la duración del estado larvario planctónico es de aproximadamente 14 días hasta 6 semanas (Yamaguchi 1973). Posteriormente, se asientan sobre los arrecifes de coral, en donde llevan a cabo la metamorfosis a estado juvenil logrando alcanzar 14 cm de largo en aproximadamente dos años (Moran 1986).

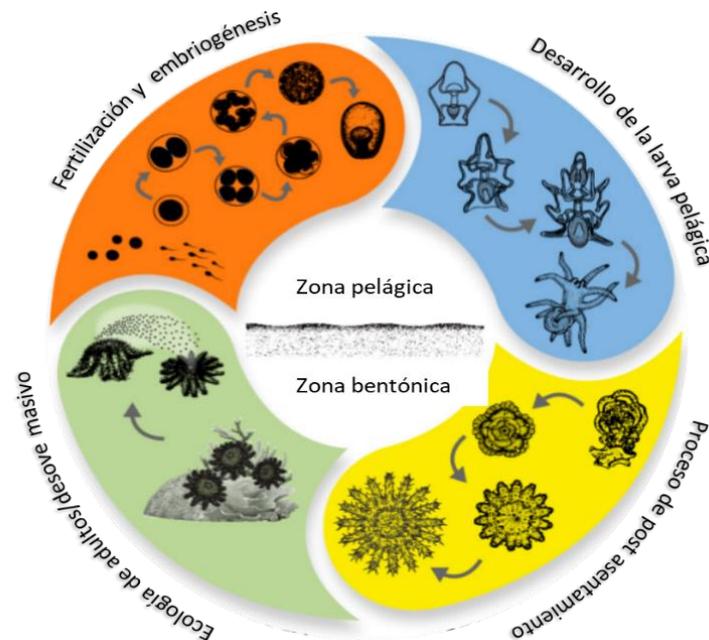


Figura 1. Esquema del ciclo de vida de *A. cf. solaris* (modificado de Pratchett et al., 2014). Los colores indican los diferentes procesos del ciclo de vida de las COTS. Verde: ecología de adultos y desove masivo en la zona bentónica. Naranja: Fertilización y embriogénesis en la zona pelágica. Azul: desarrollo de la larva pelágica. Amarillo: proceso de post asentamiento.

Aún se desconoce si las COTS tienen varios eventos de desove o si sólo presentan un evento por año (Pratchett et al., 2014). Se conoce que una hembra puede desovar hasta 60 millones de huevos en cada evento de desove (Birkeland y Lucas, 1990). Además, se ha observado que dicho evento varía geográficamente, causado por respuestas al ambiente. En zonas de altas latitudes como Hawaii, las COTS desovan cuando la temperatura de la superficie del mar comienza a aumentar. Mientras que en lugares como la Gran Barrera de Coral (GBC) Australiana hay una tendencia a que el desove ocurra cuando la temperatura llega a los 26 °C (revisado por Pratchett et al., 2014).

En cuanto a los *outbreaks* de las COTS, se sabe que un primer evento se puede formar a partir de un evento de reclutamiento masivo o simplemente de la acumulación de estrellas de mar de múltiples cohortes de

lugares cercanos al evento (Pratchett 2005; Pratchett et al., 2014). Lo anterior, se observó en la Isla Lagarto, Australia, donde las estrellas que formaron un primer *outbreak* presentaban un diámetro de entre 11 cm a 60 cm, lo que indica que pertenecen a diferentes cohortes. Además, a pesar de que no se pudo identificar la fuente de los reclutas, el autor considera que pueden ser parte de la progenie de COTS adultos que se encuentran en alrededores de la isla (Pratchett 2005).

1.2 Estudios genéticos del género *Acanthaster* en el Pacífico

Los estudios genéticos han sido importantes para el entendimiento de las relaciones filogenéticas, el potencial dispersivo larvario y los eventos demográficos históricos de las COTS en el Indo-Pacífico. Por ejemplo, en el océano Índico se identificaron tres clados que pertenecen a las especies *A. planci*, *A. mauritiensis* y *Acanthaster* sp. en el mar rojo (amarillo, azul y rojo, respectivamente en la figura 2) y un clado en el océano Pacífico *A. solaris* (verde en la figura 2) mediante el gen COI del ADNmt (Vogler et al., 2008; Haszprunar et al., 2017). Los cuales se estima que divergieron hace 3.65 y 1.65 millones de años a finales del Plioceno y principios del Pleistoceno (Vogler et al., 2008).

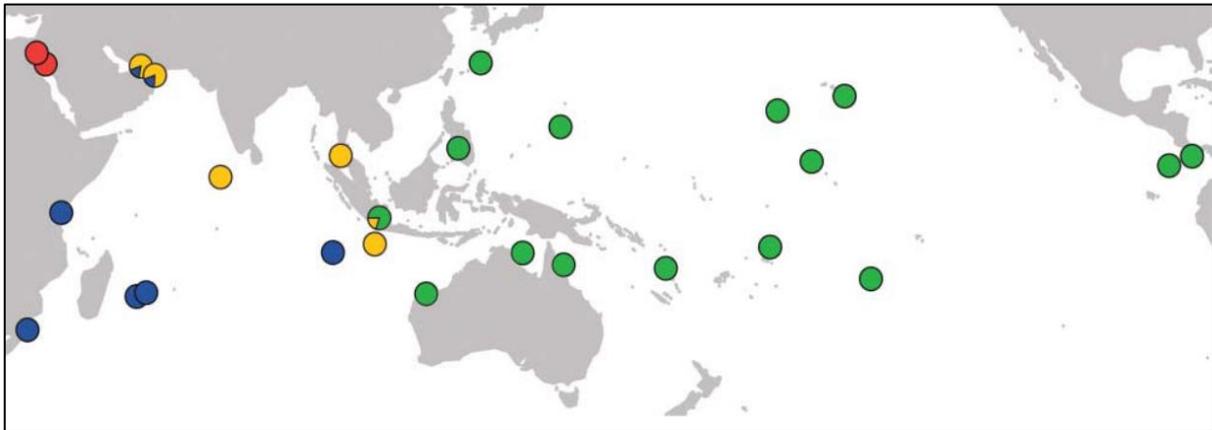


Figura 2. Distribución geográfica de 4 clados de *Acanthaster* identificados mediante el gen COI (modificado de Vogler et al., 2008). Los colores de las gráficas circulares representan cada uno de los clados. Verde= océano Pacífico (*A. solaris*), amarillo= norte del océano Índico (*A. planci*), azul= sur del océano Índico (*A. mauritiensis*) y rojo= Mar Rojo (*Acanthaster* sp.).

Con la ayuda de marcadores moleculares mitocondriales se han inferido los eventos demográficos históricos de las poblaciones de COTS en el Indo-Pacífico. Donde una baja diversidad haplotípica, podría indicar un evento de cuello de botella reciente, provocado por eventos de colonización hacia sitios

periféricos de la distribución de las COTS (Vogler et al., 2013; Liggins et al., 2014). Mientras que la alta variabilidad haplotípica se atribuye a eventos de expansión demográfica histórica posterior a eventos cuello de botella (Vogler et al., 2013).

La alta variabilidad en la RC del ADNmt ha permitido realizar análisis filogeográficos y de diferenciación genética en poblaciones de *A. cf. solaris* (Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013; Yasuda et al., 2014). En dichos estudios, se han identificado poblaciones discretas de COTS entre regiones oceanográficas del Pacífico (Pacífico occidental, Pacífico central, Pacífico oriental, Hawaii) (Timmers et al. 2012; Vogler et al. 2013). Las poblaciones de los sitios más lejanos (Polinesia Francesa, Hawaii y Pacífico oriental) presentaron mayor diferenciación genética, siguiendo un patrón de aislamiento por distancia (Yasuda et al., 2009; Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013). Además, las COTS de Hawaii y la Polinesia Francesa son las más divergentes y no presentan flujo de genes con otras poblaciones del Pacífico Occidental (Yasuda et al., 2009; Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013; Yasuda et al., 2014). Se ha propuesto que dicho aislamiento se debe a los patrones históricos de circulación de corrientes en el océano Pacífico y por la Barrera del Pacífico Oriental (BPO), que no permite el flujo de genes entre las poblaciones de COTS (Vogler et al., 2013).

Análisis realizados con microsatélites y la RC han evidenciado homogeneidad genética entre poblaciones de COTS que se encuentran separadas a escalas menores a 1000 km (Yasuda et al., 2009; Vogler et al., 2013; Tusso et al., 2016; Harrison et al., 2017). Lo cual refleja el potencial dispersivo de la especie en regiones separadas a menor escala, por ejemplo, las COTS ubicadas en el archipiélago de Hawaii (Timmers et al., 2011). Además, la dispersión larvaria a través de las corrientes marinas, la durabilidad de la larva pelágica y una dispersión de tipo *stepping stone*, ayudarían al flujo genético de las COTS, disminuyendo el efecto de la deriva génica (Yasuda et al., 2014; Tusso et al., 2016). A pesar del potencial dispersivo que tiene la especie, también se ha reportado diferenciación genética entre poblaciones de COTS separados por distancias cortas utilizando la RC y microsatélites. Por ejemplo, las COTS de la isla Tahití en la Polinesia Francesa presentaron diferenciación genética con poblaciones de estrellas separadas por 1.5km y 3.6km (Yasuda et al. 2014). El mismo patrón se observó en el Atolón Pearl y Helms, donde las COTS de la laguna del atolón se diferenciaron genéticamente de poblaciones de estrellas separadas por menos de 10km (Timmers et al., 2012).

Se han utilizado estudios genéticos para conocer la ubicación de las poblaciones fuente de COTS que forman el primer *outbreak* (Benzie y Stoddart, 1992; Timmers et al., 2012; Harrison et al., 2017). Si hay evidencia de una estructuración genética se podría determinar la población fuente de estrellas que

conforman un *outbreak* (Timmers et al., 2012). En este caso, si los organismos del evento y estrellas de mar que pertenecen a una región en específico comparten un grupo genético único, la interpretación sería que hay evidencia de una relación fuente-*outbreak* (Geller et al., 2010; Harrison et al., 2017). Por el contrario, si existe baja estructuración genética entre muestras tomadas de diferentes sitios, indicaría que los individuos que dieron origen a dicho evento pueden venir de cualquiera de las zonas muestreadas (Yasuda et al., 2014; Harrison et al., 2017). Por ejemplo, en un estudio para conocer la población fuente de *A.cf. solaris* que formaron un primer evento de *outbreak* en 13 arrecifes del GBC, se observó nula estructuración genética ($G'ST = -0.001$; $p = 0.948$), por lo que no fue posible localizar el origen de las COTS que formaron dicho fenómeno. La explicación más parsimoniosa a este resultado es que el *outbreak* se formó a partir de individuos de una población genéticamente homogénea (Harrison et al., 2017).

Finalmente, si los organismos que conforman un *outbreak* cuentan con una menor diversidad haplotípica que la de los individuos circundantes con densidad demográfica estable, la inferencia sería que se trata de un evento fundador por un número limitado de organismos. Por el contrario, si la diversidad haplotípica es mayor en los organismos que conforman el *outbreak*, sugeriría que está formada por individuos de una variedad de fuentes locales genéticamente diferenciadas y los organismos se estarían mezclando para formar dicho evento (Timmers et al., 2012).

1.3 Estudios de estructura genética y filogeografía en el Golfo de California

Se han llevado a cabo estudios utilizando marcadores moleculares para evaluar la filogeografía y estructura genética en poblaciones de especies marinas costeras del GC. Estos trabajos han sido importantes para la comprensión indirecta de la dispersión larvaria de especies marinas con estadios larvarios meroplactónicos (Riginos, 2005; Hurtado et al., 2007; Munguia-Vega et al., 2014). Por ejemplo, en algunas especies marinas se ha identificado estructura genética ocasionada por patrones de conectividad genética espacialmente asimétrica, como es el caso de *Lutjanus peru*. Donde la diferenciación genética observada se debería a que la dispersión larvaria está fuertemente afectada por las corrientes ocasionadas por los remolinos estacionales del GC (Munguía-Vega et al., 2018).

En el GC se ha observado diferenciación genética entre poblaciones de especies marinas, relacionado con los eventos de vicarianza, el aislamiento por distancia y procesos oceanográficos que impiden la dispersión larvaria dentro del GC. Por ejemplo, en cinco especies de peces asociados a arrecifes rocosos, presentaron

diferenciación genética entre poblaciones de las región norte y centro del GC (Riginos 2005). Esta concordancia genealógica con las regiones biogeográficas del GC se atribuye a un canal hipotético que separó ambas regiones durante el Mioceno tardío al Pleistoceno medio (Bernardi et al., 2003). Recientemente, utilizando 4,979 loci neutrales se observó la presencia de dos grupos poblaciones para el gobio cabeza roja (*Elacatinus puncticulatus*) en el GC, donde la diferenciación genética entre sitios se debe a aislamiento por distancia (Quintero-Grijalva 2020). Se ha reportado evidencia de una diferenciación genética en poblaciones de invertebrados marinos costeros (Hurtado et al., 2010; 2013). Como el caso de los isópodos intermareales del género *Ligia* en los que se observó divergencia filogenética entre dos linajes, uno correspondiente a individuos presentes al sur y otro perteneciente al norte del GC. Además, dentro del clado más sureño del GC se observaron diferentes linajes como resultado de eventos de vicarianza que ocurrieron por la separación de la región del cabo de la península del GC (Hurtado et al., 2010).

1.4 Diversidad genética de equinodermos en el Golfo de California

El GC presenta una alta diversidad y abundancia de equinodermos (Solís-Marín et al., 2014). Sin embargo, poco se conoce acerca del estado de diversidad genética de dichas especies. Un estudio sobre el pepino de mar (*Isostichopus fuscus*) en el GC, reveló la existencia de una posible población panmíctica mediante el análisis de 16 loci de microsatélites en muestras colectadas entre Bahía de los Ángeles y San Felipe (Ochoa-Chávez et al., 2018).

No se ha realizado ningún trabajo sobre la diversidad genética de *A. cf. solaris* en el GC. No obstante, un análisis filogenético del gen COI reveló que los individuos de dicho lugar pertenecen al clado del Pacífico (Hernández-Morales, 2018). Por esta razón, en el presente trabajo se propone realizar un análisis filogenético con un marcador molecular con mayor tasa de mutación, lo que permitirá tener mayor afinidad en las relaciones filogenéticas de la especie en un contexto del océano Pacífico.

1.5 Justificación

Los *outbreaks* esporádicos de la especie *A. cf. solaris* causan una pérdida local de corales escleractinios. Por lo que son consideradas como un factor natural que contribuye con la degradación de los ecosistemas de arrecifes de coral. En 2017, se registró el primer *outbreak* de COTS en Pacífico mexicano y en el GC. Sin

embargo, se desconoce si las COTS que conformaron el evento pertenecen únicamente a la Isla Espíritu Santo o bien está constituido por migrantes de otros sitios del GC. Para comprender el evento de *outbreak* de *Acanthaster cf. solaris*, primero es necesario identificar si existe una o más poblaciones dentro del GC. Los marcadores moleculares han permitido identificar poblaciones discretas de COTS en otras zonas del océano Pacífico. Por lo que se planteó utilizar dos marcadores mitocondriales con el objetivo principal de analizar los niveles de diversidad y estructuración genéticas, para identificar el lugar de procedencia de las COTS que conformaron el *outbreak*. Adicionalmente, dado que es una especie que es poco estudiada en el GC es importante reconocer y explorar por primera vez los procesos históricos que han moldeado la variabilidad genética de las COTS dentro de dicho lugar. La información producida contribuirá a mejorar los planes de manejo y conservación de los sistemas arrecifales habitados por esta estrella de mar dentro del GC.

1.6 Hipótesis

1. Debido a que las características oceanográficas y eventos de vicarianza en el Golfo de California han promovido una diferenciación genética entre poblaciones de especies costeras, se espera encontrar una estructuración genética en *A. cf. solaris*.
2. La constitución genética de los individuos que participaron en el *outbreak* de Corralitos en la Isla Espíritu Santo, La Paz, Baja California Sur, durante el 2017, permitirá evaluar la procedencia de las estrellas.
3. Los patrones de circulación de las corrientes y las grandes distancias entre cuencas oceanográficas pueden influir en el aislamiento de linajes genéticos de *A. cf. solaris* en el océano Pacífico. Se espera encontrar diferencias en las relaciones filogenéticas en de las COTS en el GC con respecto a los linajes genéticos de resto del Indo-Pacífico.

1.7 Objetivos

1.7.1 Objetivo general

Analizar la diversidad y estructura genéticas de la estrella de mar Corona de Espinas (*Acanthaster cf. solaris*) en el Golfo de California.

1.7.2 Objetivos específicos

- Estimar la diversidad genética (haplotípica, nucleotídica, número de haplotipos y sitios polimórficos) de *Acanthaster cf. solaris* en el Golfo de California.
- Analizar los patrones filogeográficos de *A. cf. solaris* en el Golfo de California.
- Estimar el grado de diferenciación genética de *Acanthaster cf. solaris* dentro de las regiones del Golfo de California y las estrellas provenientes del *outbreak*.
- Identificar el origen de los organismos de *Acanthaster cf. solaris* que conformaron el *outbreak* en la Isla Espíritu Santo en 2017 en el Golfo de California.
- Evaluar la historia demográfica de *Acanthaster cf. solaris* en el Golfo de California.
- Analizar las relaciones filogenéticas de la especie *A. cf. solaris* en el Pacífico central.

Capítulo 2 Materiales y métodos

2.1 Sitios de estudio y recolección de muestras

Para este trabajo, las muestras de *A. cf. solaris* se obtuvieron de 22 sitios del Golfo de California, desde la zona de las Grandes Islas hasta la costa sur de la Bahía La Paz (Figura 3). La recolecta se realizó entre los años 2015 y 2016 mediante buce autónomo, durante los cruceros de investigación “Estudio integrativo de la biodiversidad y la conservación del Golfo de California, bajo un enfoque de paisaje genético marino y conectividad (Convenio FON.INST. 26/2016, Fondo Fronteras de la Ciencia-CONACYT). Mientras que, para los años 2017 y 2018, las muestras fueron recolectadas en diferentes zonas de Bahía de La Paz.

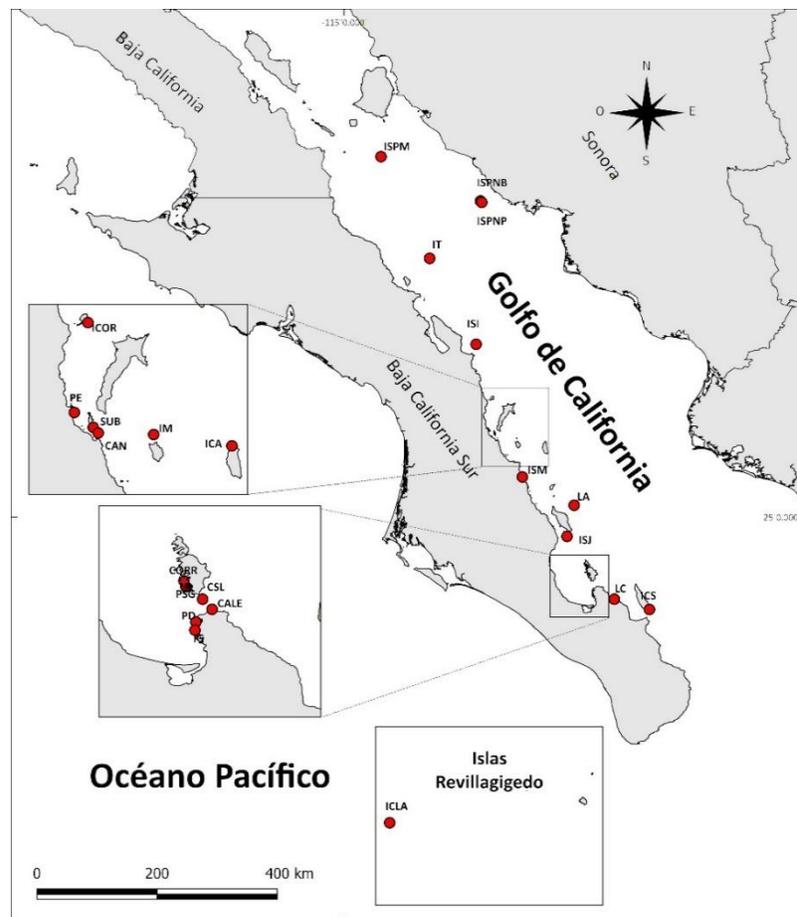


Figura 3. Localización de los sitios de muestreo. Los puntos muestran los sitios de muestreo donde se colectaron material biológico de *A. cf. solaris*. ISPM=Isla San Pedro Mártir, ISPNB= Isla San Pedro Nolasco (La Bufadora), ISPNP= Isla San Pedro Nolasco (Pirámide), IT= Isla Tortuga, ISI= Isla San Idelfonso, ICOR= Isla Coronado, PE=Puerto Escondido, SUB= Submarino, CAN= Candelero, IM= Isla Monserrat, ICA= Isla Catalana, ISM= Isla San Mateo, LA= Las ánimas, ISJ= Isla San José, PSG =Punta San Gabriel (Isla Espíritu Santo), CORR= Corralito (Isla Espíritu Santo), CSL=Canal de San Lorenzo, CALE= Calerita, PD= Punta Diablo, IG= Isla Gaviotas, LC= Las cruces, ICS= Isla Cerralvo Sur, FAR= Farallón, ICLA= Islas Clarión (Islas de Revillagigedo).

Un fragmento del brazo (2-8cm) de 181 individuos fue recolectado y preservado en etanol absoluto o en solución DMSO (Seutin et al., 1991), de los cuales 100 formaron parte de las estrellas que se encontraban en el *outbreak* que se presentó en El Corralito, Isla Espiritu Santo en La Paz, Baja California Sur. Adicionalmente, se utilizaron los brazos de 5 individuos recolectados en la Isla Clarión, de Las Islas Revillagigedo, con la finalidad ampliar la escala geográfica. Dado a que en algunas localidades se recolectó solo una estrella, se decidió agrupar sitios cercanos en regiones del GC para aumentar el tamaño de muestra. Como resultado, los sitios de colecta se agruparon en cuatro regiones Golfo de California Central (GCC), Peninsular central (PC), Peninsular sur (PS) y Sinaloa. Las 100 estrellas pertenecientes al *outbreak* se consideraron como una muestra aparte para probar las hipótesis pertinentes (Tabla 1). Dichos agrupamientos fueron los utilizados para los análisis de diversidad y estructura genéticas.

Tabla 1. Número de individuos analizados de *A.cf solaris* para su caracterización genética por región de colecta dentro del GC.

Regiones	n
Golfo de California Central (GCC)	9
Peninsular Central (PC)	29
Peninsular Sur (PS)	37
El Farallón (Sinaloa)	1
Corralitos (<i>outbreak</i>)	100
Isla Clarión (ICLA)	5
Total	181

2.2 Trabajo de laboratorio

2.2.1 Extracción de ADN

Para realizar la extracción de ADN, se separaron los pies ambulacrales de los brazos pertenecientes a 181 individuos de *A. cf. solaris* (Tabla 11 del anexo). Dicho material biológico fue depositado en tubos de 2ml y preservado en etanol al 96%. El aislamiento de ADN se realizó utilizando el kit de extracción Dneasy Blood & Tissue (QIAGEN®) siguiendo el protocolo del fabricante. Se visualizó la presencia y calidad del ADN en geles de agarosa al 1% con redgel mediante la técnica de electroforesis. Finalmente, se cuantificó el ADN extraído mediante espectrofotometría utilizando NanoDrop (Thermo Science, Madison, WI, USA).

2.2.2 Amplificación y análisis de fragmentos de ADNmt

Se amplificaron los genes de COI y la RC del ADNmt mediante la técnica de PCR. Para el gen COI se utilizaron los cebadores COTS_COI_F4734 (5'-GCCTGAGCAGGAATGGTTGGAAC-3') y COTS_COI_R5433 (5'-CGTGGGATATCATTCCAAATCCTGG-3', Volger et al., 2008). Mientras que, para la RC se utilizarán los cebadores COTS-ctrl-fwd (5'-CAAAAGCTGACGGGTAAGCAA-3') y COTS-ctrl-rvs (5'-TAAGGAAGTTTGCGA-CCTCGAT-3', Timmers et al., 2011).

Las reacciones de PCR para amplificar el gen COI se llevaron a cabo con un volumen final de 15µl por muestra, las cuales estuvieron compuestas de 1.5 µl de Buffer taq (1.5X), 0.9µl de MgCl₂ (3mM), 0.45 µl de dNTPs (0.3mM), 0.45 µl de cada cebador (1.8mM), 10.5µl de H₂O milli-Q, 0.20 µl de Taq polimerasa (1U/µl) y 1 µl de ADN (50 ng µl⁻¹). El protocolo de amplificación fue el siguiente: un periodo inicial de 3 min a 95 °C, seguido de 35 ciclos de alineamiento (45s a 94°C, 45 s a 59°C y 45 s a 72°C) y una extensión final a 72°C por 5 min.

Para la RC del ADNmt, el volumen final de la reacción fue de 15µl, que contenía 1.5µl de Buffer taq (1.5X), 0.6µl de MgCl₂ (2mM), 0.45 µl de dNTPs (0.3mM), 0.45 µl de cada cebador (1.8mM), 10.35µl de H₂O milli-Q, 0.20 µl de Taq polimerasa (1U µl⁻¹) y 1 µl de ADN (50 ng µl⁻¹). El protocolo de amplificación fue 94°C a 3min para desnaturalizar, posteriormente se llevaron a cabo 35 ciclos para el alineamiento (94°C por 45 s, 50°C por 1min y 72°C por 45 s). Finalmente se llevó a cabo una extensión final a 72°C durante 5min. Los productos de los PCR fueron visualizados con redgel en gel de agarosa al 1%.

Los productos de PCR amplificados fueron secuenciados por el método de Sanger en dirección *reverse* para la RC y *forward* para el gen COI, en un ABI 3130XL de las instalaciones de la Universidad Estatal de Louisiana. Las secuencias obtenidas fueron revisadas, editadas y alineadas utilizando el programa Codon-Code Aligner.

2.3 Análisis de datos

2.3.1 Análisis de la diversidad genética

Con el propósito de evaluar la diversidad genética de *A. cf. solaris*, se estimó el número de haplotipos (H), número de haplotipos únicos (Hu), diversidad haplotípica (*h*), diversidad nucleotídica (π) y sitios segregativos (S) en cada una de las regiones utilizando el programa DnaSP V 5.10.1 (Librado y Rozas, 2009).

2.3.2 Análisis filogeográfico

Para comparar las relaciones evolutivas de las COTS a lo largo del Golfo de California, se realizó un análisis filogenético utilizando las secuencias obtenidas de COI y RC. Mediante el criterio de Inferencia bayesiana se seleccionaron los modelos evolutivos que mejor se ajustaron a ambos genes, para ello se utilizó el programa jModelTest V2.0 (Darriba et al., 2012) en el servidor CIPRES (Miller et al., 2010). Los modelos evolutivos resultantes fueron HKY+G y K80, para la RC y el gen COI, respectivamente, los cuales se utilizaron para los posteriores análisis.

Los análisis filogenéticos de las COTS del GC e ICLA se realizaron de forma separada con el método de inferencia bayesiana en el programa Mr. Bayes (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) en XSEDE V. 3.2.6 en el servidor CIPRES (Miller et al., 2010) y ambos análisis se enraizó con una secuencia de *Acanthaster planci* (HE608359 para la RC y M174593 para el gen COI). Las cadenas de Markov Monte Carlo (MCMC por sus siglas en inglés *Markov Chain Monte Carlo*) de los análisis consistieron en dos corridas independientes de ocho cadenas con 10 000 000 de generaciones con una frecuencia de muestreo de 1000 generaciones. Se descartaron el 50% de los árboles como fase de precalentamiento (*burn-in*) y el resto de los árboles con una desviación estándar <0.001 se utilizaron para reconstruir el árbol consenso del análisis filogenético. Además, en el programa Tracer v1.7.1 (Rambaut et al., 2018) fue utilizado para visualizar si las MCMC de cada análisis presentaron convergencia y si el tamaño de muestra efectiva (ESS por sus siglas en inglés *Effective Sample Size*) fue mayor a 200. Finalmente, el árbol filogenético resultante fue visualizado en el programa Figtree v. 1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Para ilustrar la relación entre haplotipos de *A. cf. solaris* y su distribución a lo largo del Golfo de California, se construyeron redes de haplotipos por gene en el programa Haploviewer (Salzburger et al., 2011). La construcción de estas redes se basaron en las genealogías resultante de los árboles filogenéticos de inferencia bayesiana (Salzburger et al., 2011).

2.3.3 Estructura genética

Para examinar si hay estructura poblacional jerárquica en *A. cf. solaris* dentro del GC, se realizó un análisis de diferenciación genética, basado en un análisis de varianza molecular (AMOVA) para probar la hipótesis nula de homogeneidad genética entre las regiones del GC (GCC, PC, PS, Corralitos) e ICLA. El mismo análisis se realizó utilizando como grupos separados a las estrellas presentes en el *outbreak* y COTS que no

pertenecieron al evento. Para ello se utilizó la matriz de distancias inter-haplotípicas basado en el modelo de sustitución nucleotídica de los haplotipos de la RC (HKY+G). Para estimar diferencias genéticas entre regiones del GC e ICLA, se realizaron comparaciones pareadas de índices de fijación ϕ_{st} análogo al F_{st} . En ambos casos, se probó la significancia estadística utilizando 10,000 permutaciones y para las comparaciones pareadas se ajustó la significancia estadística utilizando la corrección de Bonferroni. Ambos análisis se llevaron a cabo en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

2.3.4 Historia demográfica

Para evaluar la historia demográfica de *A. cf. solaris* en el GC, se realizaron pruebas de neutralidad en la RC. Dichos estimadores indican si las variaciones moleculares corresponden una reciente expansión poblacional o se encuentran bajo neutralidad. Para lo anterior, se empleó la prueba de D de Tajima (Tajima 1989), la cual consiste en la cuantificación de las diferencias entre el valor θ (basado en los sitios segregativos en un grupo de secuencias) y π . Si D resulta igual a cero, los loci se encontrarían bajo un equilibrio neutro. Si D resulta ser negativa significaría que una población podría haber presentado una expansión demográfica (Tajima 1989). También se estimó la prueba de neutralidad de F_s , la cual se basa en la desviación de la neutralidad bajo escenarios caracterizados por un exceso de alelos raros y mutaciones recientes. Donde los valores significativos y negativos de F_s indican un exceso de mutaciones recientes y rechazan la hipótesis de estabilidad poblacional (Fu 1997). Finalmente, se estimó la prueba de R_2 el cual es considerado el más robusto para tamaños de muestras pequeñas y se basa en la diferencia entre el número de mutaciones únicas (*singletons*) y el promedio de diferencias nucleotídicas. Así, bajo modelo de expansión poblacional, dicho estimador presentaría valores bajos (Ramos-Onsins y Rozas, 2002). Para calcular las significancias estadísticas de los tres estimadores, se utilizaron simulaciones coalescentes usando los sitios segregantes y 10,000 réplicas. Estas pruebas de neutralidad se llevaron a cabo en el programa DnaSP V 6. (Librado y Rozas, 2009).

Con el fin de conocer los patrones de la demografía histórica de *A. cf. solaris* en el Golfo de California, se realizó un análisis de distribución de diferencias pareadas entre todas las secuencias de ADN mitocondrial (*Mismatch distribution*), y se ajustaron a un a un modelo de expansión demográfica y espacial. Estos modelos permiten detectar el efecto de eventos demográficos históricos sobre la genética de las poblaciones, dichos eventos dejan señales que se ven reflejadas en la forma olas (o diferencias modales) en la distribución de las diferencias pareadas entre secuencias (Rogers y Harpending, 1992). De esta

manera, en ambos modelos una distribución multimodal refleja una población en equilibrio, por lo contrario, una distribución unimodal representa una población que ha pasado por una expansión demográfica y espacial (Rogers y Harpending, 1992). Para probar estadísticamente los procesos de expansión demográfica y espacial, se utilizó una prueba de bondad de ajuste basado en las desviaciones cuadradas (SSD) de los valores observados y simulados de diferencias pareadas entre secuencias, además se estimó el índice “*Raggedness*” (Rag) (Harpending 1994). Estos análisis se realizaron a partir de 10,000 re muestreos y se llevaron a cabo en el programa Arlequin 3.5 (Excoffier y Lischer, 2010).

Finalmente, para conocer los cambios en el tamaño efectivo de las COTS utilizadas para este trabajo a través del tiempo bajo una aproximación coalescente, se realizó un modelo Bayesiano *bayesian skyline plot* con el programa BEAST v.2.6.2 (Bouckaert et al., 2014). Para la RC se utilizó el modelo de sustitución HKY+G, donde la frecuencia de las bases fue establecida empíricamente. Dado que solo se ha estimado previamente la tasa de sustitución del gen COI en equinodermos (1.85×10^{-8} sustituciones por sitio por año; Lessios 2008; Vogler et al., 2012; García-Cisneros et al., 2016); la tasa de sustitución de la RC para el análisis se estimó de la forma siguiente. En primera instancia, se calculó la razón de divergencias genéticas promedio de las secuencias observadas de la RC y del gen COI en los mismos organismos (dRC/dCOI). Bajo la premisa de que la razón de distancias genéticas promedio debe ser equivalente a la razón de tasas de sustitución de ambos genes ($dRC/dCOI = tRC/tCOI$, donde t son las tasas evolutivas o de sustitución), se estimó la tasa de sustitución de la RC multiplicando la tasa publicada del gen COI por la razón de distancias genéticas promedio. De esa forma se calculó una tasa de sustitución para la RC promedio de 1.57×10^{-7} sustituciones por sitio por año. Para el análisis, se utilizó como reloj molecular estricto y se realizaron tres corridas independientes de 30,000,000 de generaciones, donde los parámetros y los árboles fueron muestreados cada 1000 iteraciones y se hizo un precalentamiento *burn-in* de 25%. Los archivos de los parámetros y los árboles de las corridas fueron combinados en un solo archivo con el programa LogCombiner 1.7.4 (Drummond y Rambaut, 2007), el cual fue visualizado en el programa Tracer 1.5.0 para asegurarse de que todas las distribuciones previas y posteriores alcanzaran un ESS >200 y los parámetros calculados estuvieran estabilizados.

2.3.5 Análisis filogenéticos de *A. cf. solaris* en el Pacífico

Se realizó un análisis filogenético de inferencia bayesiana utilizando las secuencias de RC de *A. cf. solaris* del presente trabajo y con secuencias obtenidas en el banco de genes de estudios previos dentro del

océano Pacífico (Tabla 12 del anexo). Se seleccionó el modelo de sustitución nucleotídica TrN+I+G mediante el método de inferencia bayesiana en jModelTest V2.0 (Darriba et al., 2012) en el servidor CIPRES (Miller et al., 2010). El análisis filogenético se realizó en el programa Mr. Bayes (Ronquist y Huelsenbeck, 2003) en XSEDE V. 3.2.6 en el servidor CIPRES (Miller et al., 2010) y se enraizó con una secuencia de *Acanthaster planci*. Las MCMC del análisis consistieron en dos corridas independientes de ocho cadenas con 30 000 000 de generaciones con una frecuencia de muestreo de 1000 generaciones. Se descartaron el 50% de los árboles como fase de *burn-in* y el resto de los árboles con una desviación estándar <0.01 se utilizaron para reconstruir el árbol consenso del análisis filogenético. Además, en el programa Tracer v1.7.1 (Rambaut et al., 2018) se visualizó si las MMC de cada análisis presentaron convergencia y el ESS fuera mayor a 200. Finalmente, el árbol filogenético y los valores de soporte estadístico fueron visualizados en Figtree v. 1.4.4 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>)

Capítulo 3. Resultados

3.1 Diversidad genética

Se aisló el ADN genómico de 181 individuos de *A. cf. solaris* recolectados a lo largo del Golfo de California, de los cuales se obtuvieron 147 secuencias de RC con una longitud de 585 pb. Posterior a la edición, 114 secuencias de la RC presentes en 19 sitios fueron analizadas. En cuanto al gen COI, las secuencias fueron de una longitud de 630pb, donde solo se utilizó una submuestra de individuos ($n= 50$), debido a que se observó una baja variabilidad genética en este gen.

Los genes mitocondriales presentaron niveles contrastantes de variación genética (Tabla 13 del anexo). Para la RC, se identificaron 94 sitios polimórficos y 65 haplotipos donde 41 fueron únicos, de los cuales se obtuvo una diversidad haplotípica cercana a 1 ($h=0.978$; Figura 4A). Mientras que para el gen COI se encontraron 10 sitios polimórficos, 10 haplotipos, de los cuales 6 fueron únicos y presentó una baja diversidad haplotípica ($h=0.528$), como también nucleotídica (Figura 4B). Por lo que los análisis de las COTS en el GC fueron realizados únicamente con la RC.

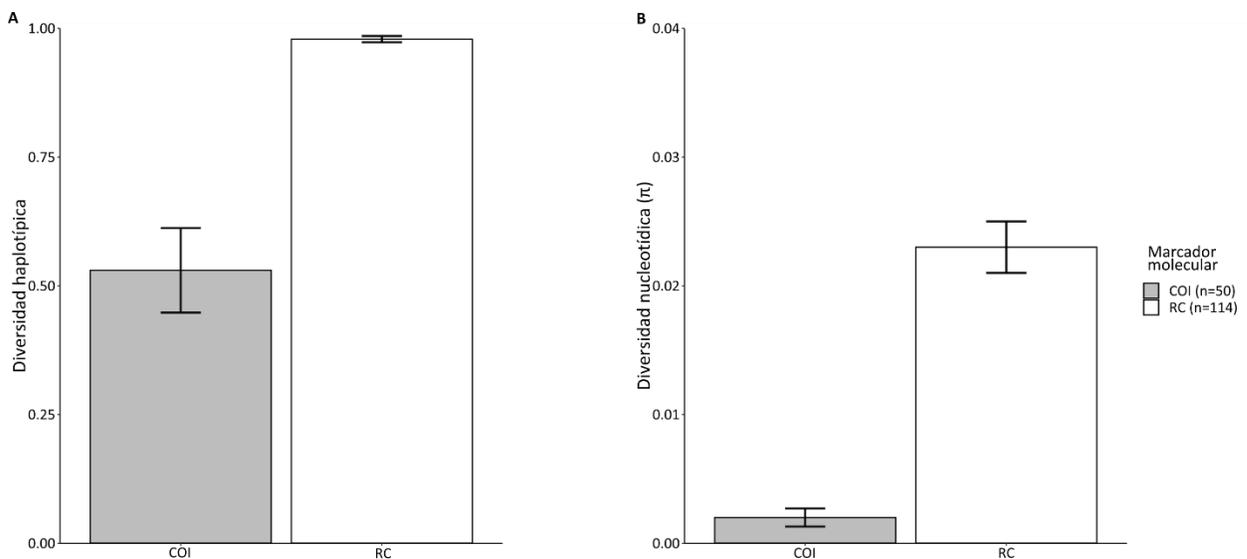


Figura 4. Comparación de la diversidad genética de los marcadores moleculares amplificados. A, Diversidad haplotípica (\pm DE). B, Diversidad nucleotídica (\pm DE). Cada barra representa el marcador molecular amplificado, las líneas negras representan la desviación estándar y el número de muestras se encuentra entre paréntesis.

La diversidad haplotípica ($h= 0.98 \pm 0.006$) y nucleotídica ($\pi= 0.02 \pm 0.002$) de la RC en las COTS de toda el área de estudio fue alta. De acuerdo con los análisis, las estrellas de mar que pertenecen a cada una de las

regiones del GC tienen niveles altos de diversidad haplotípica (Tabla 14 del anexo). Cabe mencionar que los tamaños de muestra de la región GCC (n=6) e ICLA (n=4) son bajos y por lo tanto el valor de h fue igual a 1. A pesar de ello, las regiones donde se obtuvieron mayor número de organismos (PC, PS) y en las estrellas presentes en el *outbreak* (Corralitos), tuvieron valores de diversidad haplotípica cercanos a 1 ($h = 0.94-0.99$) (Figura 5A). Además, se observaron mayores valores de diversidad nucleotídica (π) en las regiones donde se encontraron estrellas que pertenecen a dos linajes mitocondriales identificados con la RC (PC, PS, Corralitos e ICLA; ver abajo sección 3.2), en comparación de la región GCC donde se identificaron valores bajos de diversidad nucleotídica (Figura 5B).

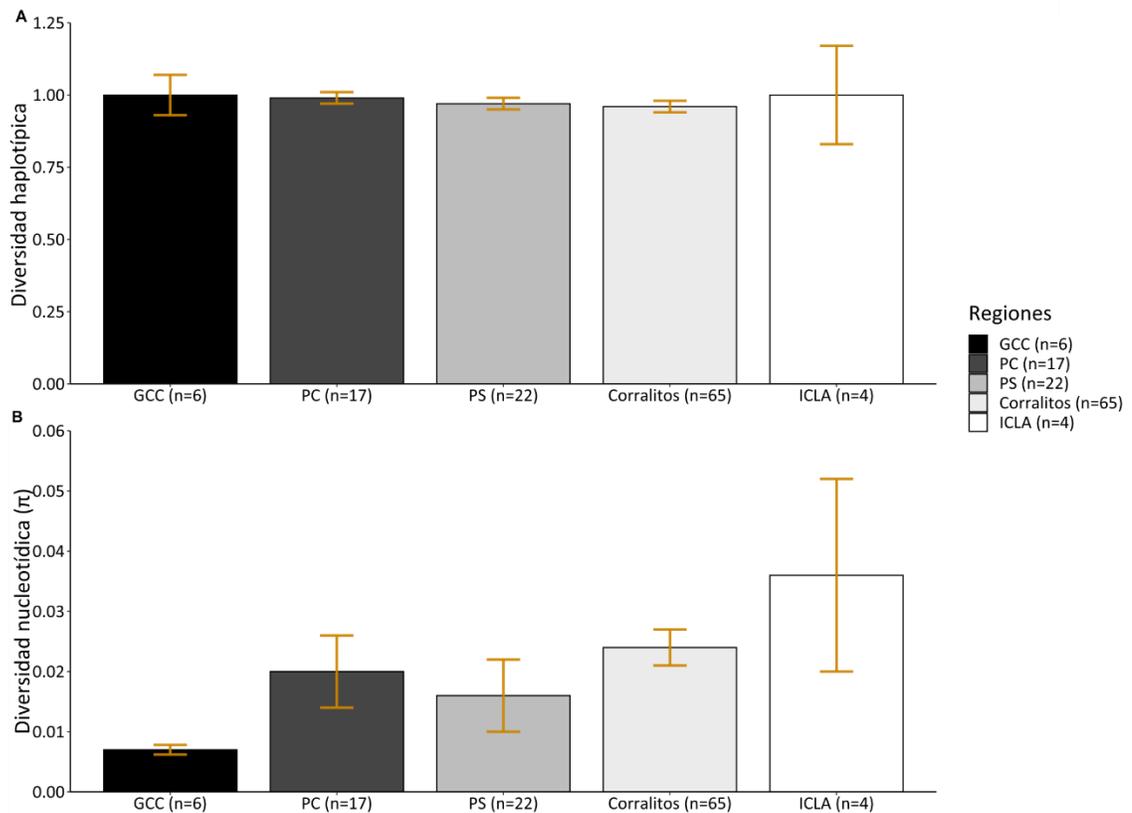


Figura 5. Diversidad genética de la RC en las COTS de cada región del Golfo de California. A, Diversidad haplotípica (\pm DE). B, Diversidad nucleotídica (\pm DE). Cada barra representa una región dentro del GC, las líneas amarillas representan la desviación estándar y el número de muestras se encuentra entre paréntesis.

3.2 Análisis filogeográfico

De acuerdo con los análisis filogenéticos y las redes de haplotipos, los individuos de *A. cf. solaris* analizados en el GC pertenecen a dos linajes divergentes, sin un patrón geográfico claro, donde el linaje 1 se encuentra

en mayor abundancia que el linaje 2 (Figura 6A). La reconstrucción filogenética de la RC por inferencia bayesiana resolvió con alto soporte estadístico la presencia de dos clados monofiléticos (Linaje 1 en rojo y linaje 2 en cian, Figura 6B). Donde el primer clado está apoyado por una probabilidad posterior (PP) del 100% y está constituido por haplotipos distribuidos en todas las regiones del GC y un solo haplotipo distribuido en la Isla Clarión. Así mismo, este clado está constituido por cuatro sub clados con moderado soporte estadístico (PP>60%): uno basal presente en la región PS; un segundo clado presente en PC y PS; un tercero que incluye solo un haplotipo correspondiente a PS; un cuarto que incluye haplotipos de todas las regiones de la zona de estudio. El segundo clado se resolvió con un PP del 99% y únicamente presentó haplotipos distribuidos en las regiones de PC, PS e ICLA.

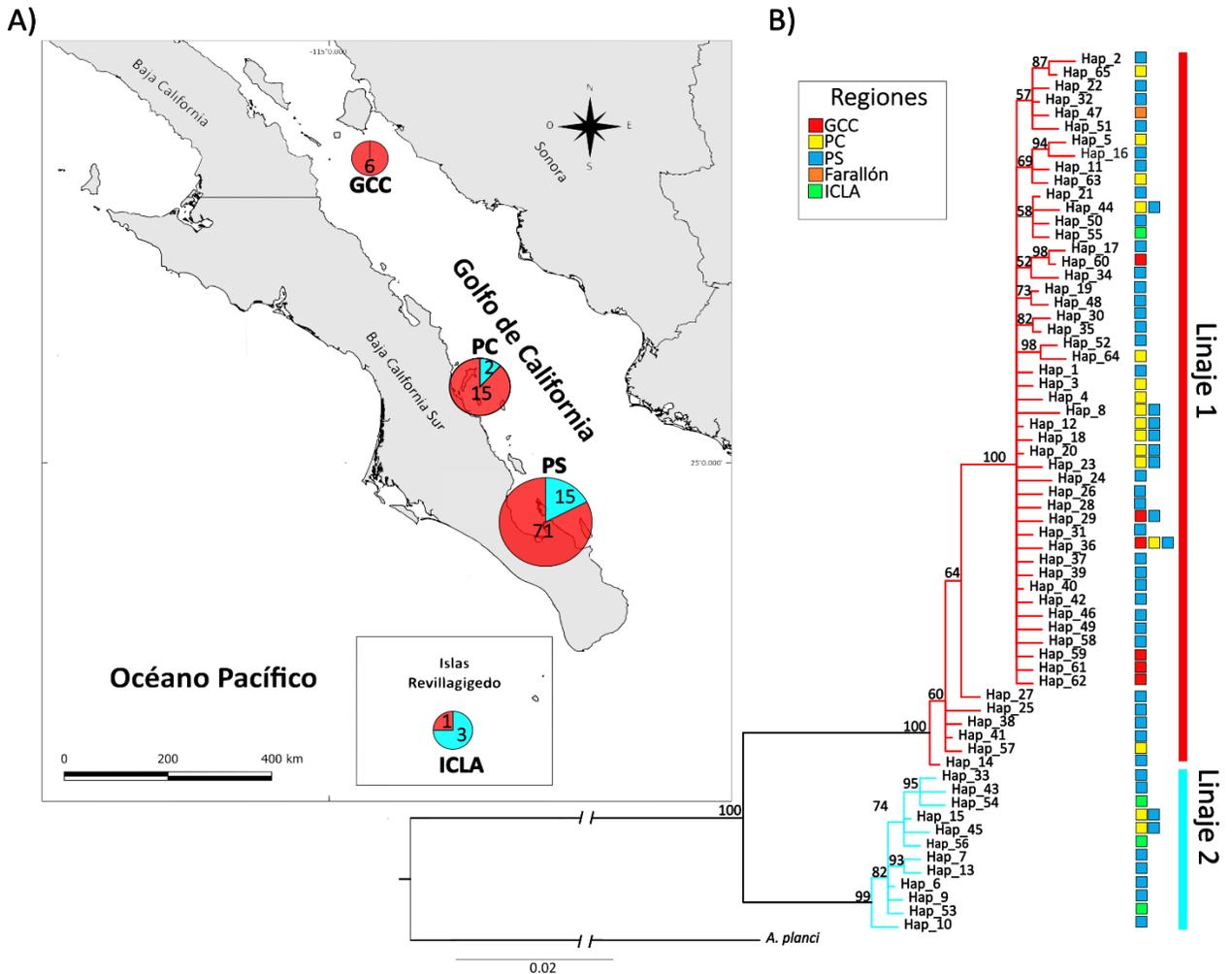


Figura 6. Abundancia y distribución de los dos linajes de *A. cf. solaris* en el GC (A) y árbol filogenético bayesiano enraizado de los 65 haplotipos generados con la RC (B). Regiones: GCC, Golfo de California Central; PC, Peninsular Central; PS, Peninsular Sur; ICLA, Isla Clarión.

La presencia de dos linajes también se observó en la red de haplotipos del gen COI con una separación de cinco mutaciones (Figura 14 del anexo). Además, los dos linajes descritos anteriormente también fueron evidentes en la red de haplotipos de la RC, los cuales están separados por 34 mutaciones (Figura 7). El

primer linaje está constituido por 53 haplotipos distribuidos en todas las regiones del GC y en la Isla Clarión, donde 55% de los haplotipos de este grupo son únicos. Los haplotipos de la región más norteña del GC (GCC) y del Farallón se encuentran únicamente en este linaje, por lo tanto, el linaje 1 está ampliamente distribuido dentro del GC. El Hap_36 fue el único haplotipo que se distribuyó en 3 regiones del GC (GCC, PC, PS) y los haplotipos con mayor frecuencia fueron Hap_12 y Hap_20, que estuvieron presentes en 13 y 7 individuos respectivamente. El Hap_12 está formado por 11 estrellas que pertenecen al *outbreak* y 2 distribuidos en la región PC. Mientras que el Hap_20 está constituido por 6 COTS del *outbreak* y una estrella que se encontraba en la región PC (Figura 7). El segundo linaje está compuesto por 12 haplotipos de las regiones PS, PC y ICLA, donde el haplotipo más dominante se encontró en 4 individuos de PS y RC. Cabe resaltar, que 3 de los 4 haplotipos de ICLA se encuentran en el linaje 2 los cuales son únicos, por lo que es más probable encontrar haplotipos de este linaje al sur del GC y en ICLA (Figura 7). Finalmente, la mayor proporción de estrellas que participaron en la explosión demográfica poseen haplotipos del primer linaje (82% de los 41 haplotipos) (Figura 8).

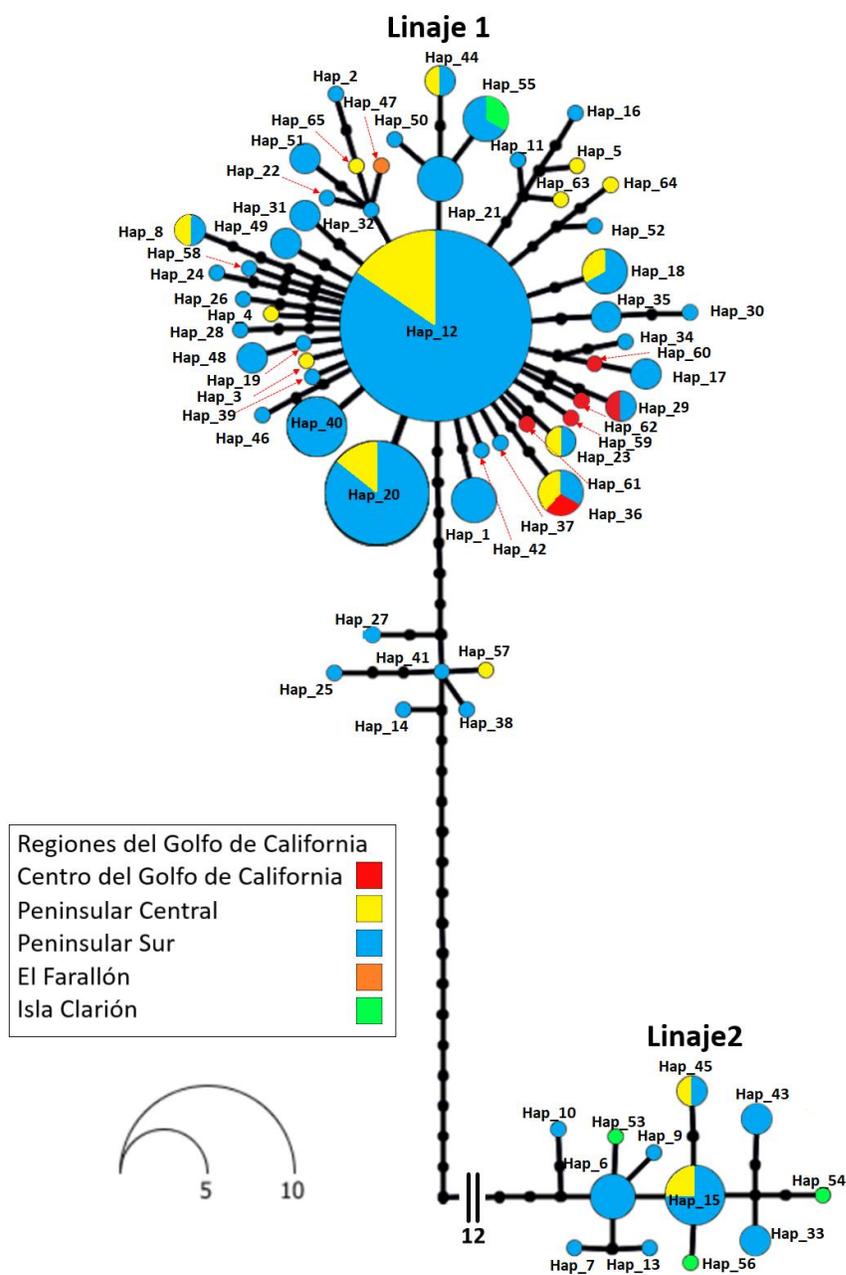


Figura 7. Red que muestra la genealogía de haplotipos de la RC en *A. cf. solaris* en las regiones del GC e ICLA. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red. En colores se muestran las distintas regiones a las que pertenecen cada uno de los haplotipos.

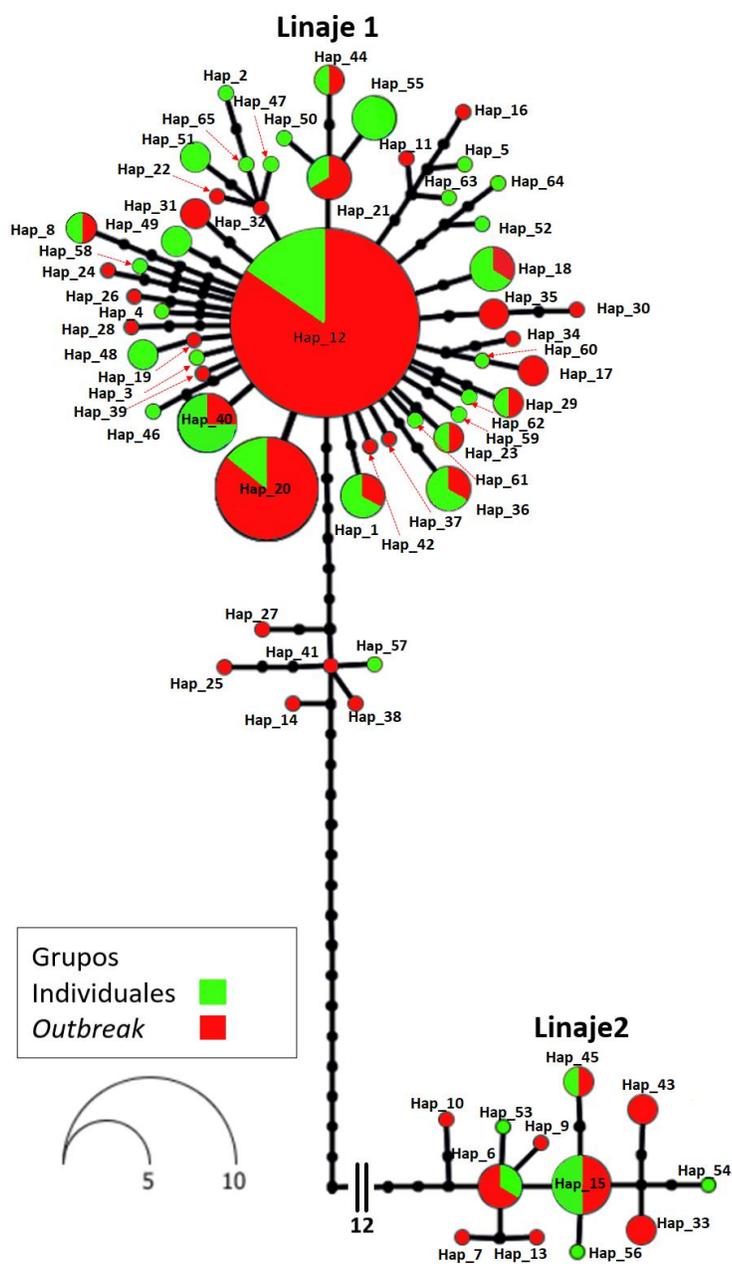


Figura 8. Red que muestra la genealogía de haplotipos de la RC en *A. cf. solaris*. Estrellas que no pertenecieron al *outbreak* (verde) y los que están presentes en el *outbreak* (rojo). El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red.

3.3 Diferenciación genética poblacional

3.3.1 Diferenciación genética entre linajes

La comparación de los dos linajes de *A.cf. solaris* encontrados en el GC, reveló una diferenciación genética altamente significativa ($\phi_{ST}=0.92$, $p<0.001$), donde la mayor variación genética fue explicada entre los linajes con un 92.12% (Tabla 2).

Tabla 2. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en *A. cf. solaris*, entre los linajes encontrados de las COTS dentro del GC.

Fuente de Variación	g.l	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de Variación	Índices de fijación
Entre linaje 1 y linaje 2					
Entre linajes	1	1.385	0.042	92.12	$\phi_{ST} = 0.92^{***}$
Dentro de linajes	112	0.401	0.004	7.88	
Total	113	1.786	0.050		

Valores con significancia estadística * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

3.3.2 Diferenciación genética entre regiones

De acuerdo con el AMOVA realizado entre las regiones analizadas (GCC, PC, PS, Corralitos e ICLA), se rechazó la hipótesis de panmixia. Por lo que hay evidencia de heterogeneidad genética en las COTS analizadas dentro de la zona de estudio ($\phi_{ST} = 0.09$, $p=0.02$) donde el 9% de la variación genética fue explicado por las diferencias entre regiones (Tabla 3).

Tabla 3. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en *A. cf. solaris*, entre todas las regiones.

Fuente de Variación	g.l	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de variación	Índices de fijación
Entre todas las regiones del GC e ICLA					
Entre regiones	4	0.162	0.001	9	$\phi_{ST} = 0.09^*$
Dentro de regiones	108	1.619	1.015	91	
Total	112	7.751	0.016		

Valores con significancia estadística, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Si bien en el AMOVA revela una heterogeneidad genética entre las COTS analizadas, las comparaciones pareadas de los índices de fijación (ϕ_{ST}) entre regiones no fueron significativas después de la corrección de

Bonferroni (Tabla 4). Pese a ello, destacan los índices de fijación de las COTS de ICLA con respecto a las otras regiones del GC, ya que presentan los valores mayores ($\phi_{st}=0.376-0.648$), sin embargo, dichas comparaciones no fueron significativas después la corrección de Bonferroni.

Tabla 4. Índices de fijación (ϕ_{ST}) para las tres regiones del GC, Corralitos e ICLA, de la RC. Debajo de la diagonal los valores pareados de ϕ_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p.

Regiones	GCC (n=6)	PC (n=17)	PS (n=22)	Corralitos (n=65)	ICLA (n=4)
GCC	-	0.23	0.50	0.12	0.02 ^{ns}
PC	-0.008	-	0.75	0.46	0.02 ^{ns}
PS	-0.021	-0.036	-	0.19	0.009 ^{ns}
Corralitos	0.046	-0.014	0.012	-	0.020 ^{ns}
ICLA	0.648	0.480	0.562	0.376	-

ns= Valores no significativos después de la corrección de Bonferroni.

3.3.3 Diferenciación genética entre regiones del linaje 1

No se encontraron diferencias significativas entre las COTS del linaje1 en las distintas regiones GCC, PC, PS y Corralitos ($\phi_{ST} = -0.002$, $p = 0.48$), (Tabla 15 del anexo), por lo que se aceptó la hipótesis nula de panmixia en las COTS del linaje1 en el GC. Además, las comparaciones pareadas de los índices de fijación (ϕ_{ST}) indican que las COTS del linaje 1 en las cuatro regiones dentro del GC no están diferenciados genéticamente (Tabla 16 del anexo). Por lo que tampoco hay evidencia de la existencia de poblaciones discretas de COTS de dicho linaje dentro del GC.

3.3.4 Diferenciación genética entre el *outbreak* y estrellas circundantes dentro del GC con densidad poblacional estable

En cuanto al AMOVA que compara el grupo de las COTS que conformaron el *outbreak* (Corralitos) contra el grupo de las estrellas circundantes dentro del GC con densidad poblacional estable (GCC, PC y PS), no tuvieron diferencias genéticas ($\phi_{CT} = 0.050$, $p=0.25$) (Tabla 5). También, se aceptó la hipótesis nula de panmixia entre las regiones (Corralitos, GCC, PC, PS) dentro de los grupos asignados ($\phi_{SC} = -0.041$, $p=0.56$). Estos resultados indican que las estrellas que se encuentran en el *outbreak* son una fracción de una población panmíctica presente en el GC.

Tabla 5. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en *A. cf. solaris*, entre las COTS presentes en el *outbreak* vs individuos de otras regiones que no estuvieron en el evento

Fuente de Variación	g.l	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de Variación	
Entre las COTS presentes en el <i>outbreak</i> vs estrellas circundantes dentro del GC con densidad poblacional estable					
Entre grupos	1	0.032	0.0007	5	$\phi_{CT} = 0.050$
Entre regiones dentro de grupos	2	0.014	-0.0006	-3.91	$\phi_{SC} = -0.041$
Dentro de regiones	105	1.541	0.015	98.91	$\phi_{ST} = 0.015$
Total	108	1.588	0.015		

Valores con significancia estadística * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

3.4 Historia demográfica

Considerando la presencia de dos linajes en la zona de estudio, se prosiguió a realizar los análisis de historia demográfica para cada uno por separado. La mayoría de las pruebas indican que ambos linajes presentaron signos de expansión demográfica. Para el linaje 1 todas las pruebas de neutralidad fueron significativas indicando que han pasado por un proceso de expansión poblacional demográfica (Tabla 6). En cuanto al linaje 2, las pruebas de neutralidad de F_s y R_2 fueron significativas, mientras que, la prueba D de Tajima no lo fue ($D = -1.386$, valor $p = 0.070$, Tabla 6).

Tabla 6. Pruebas de neutralidad de la RC de los linajes presentes del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).

	N	D (p_D)	F_s (p_{F_s})	R_2 (p_{R_2})
Linaje 1	94	-2.232(0.001) ***	-26.727(0.001) ***	0.02(0.001) ***
Linaje 2	20	-1.386(0.070)	-5.186 (0.020) *	0.078(0.027) *

N= número de muestras, D= D de Tajima, F_s =Prueba de Fu, R_2 = Prueba de Ramos-Onsins y Rozas. Valores con significancia estadística de las pruebas de neutralidad, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Para el análisis de diferencias pareadas del linaje 1, se realizó un primer análisis con todas las secuencias ($n=92$), sin embargo, la presencia de algunos haplotipos divergentes ocasionó que el algoritmo de mínimos cuadrados para ajustar las distribuciones observadas con las esperadas no convergiera después de los 2000 re-muestreos. Por lo anterior, se excluyeron dichos haplotipos y únicamente se utilizaron las secuencias de 86 individuos que están presentes el cuarto subclado del linaje 1 (ver sección 3.2). Dichos haplotipos presentaron una distribución unimodal en los análisis de distribución de las diferencias pareadas (Figura 9a), ajustándose al modelo de expansión demográfica (Tabla 7), pero no al modelo de

expansión espacial de acuerdo con la prueba de bondad de ajuste basado en las desviaciones cuadradas (SSD =0.005, $p=0.04$). Para el caso del linaje 2, la distribución de las diferencias pareadas observadas fue unimodal (Figura 9b) y no se desvió del modelo de expansión demográfica o espacial (Tabla 7). Por lo anterior hay evidencias de que ambos linajes han presentado eventos de expansión demográfica dentro del GC.

Tabla 7. Parámetros del análisis de distribución de diferencias pareadas de las secuencias de RC en el linaje 1 dentro de las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).

Análisis de distribución de diferencias pareadas					
	Expansión demográfica		Expansión espacial		
	N	Rag (p_{Rag})	SSD (p_{SSD})	Rag (p_{Rag})	SSD (p_{SSD})
Linaje1	88	0.022(0.096)	0.001(0.35)	0.022(0.086)	0.005(0.044) *
Linaje 2	20	0.032(0.231)	0.003(0.364)	0.032(0.382)	0.003 (0.546)

N= número de muestras, Rag= índice *Raggednes*, SSD= Prueba de desviaciones cuadradas. Valores con significancia estadística de las pruebas de bondad de ajuste, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

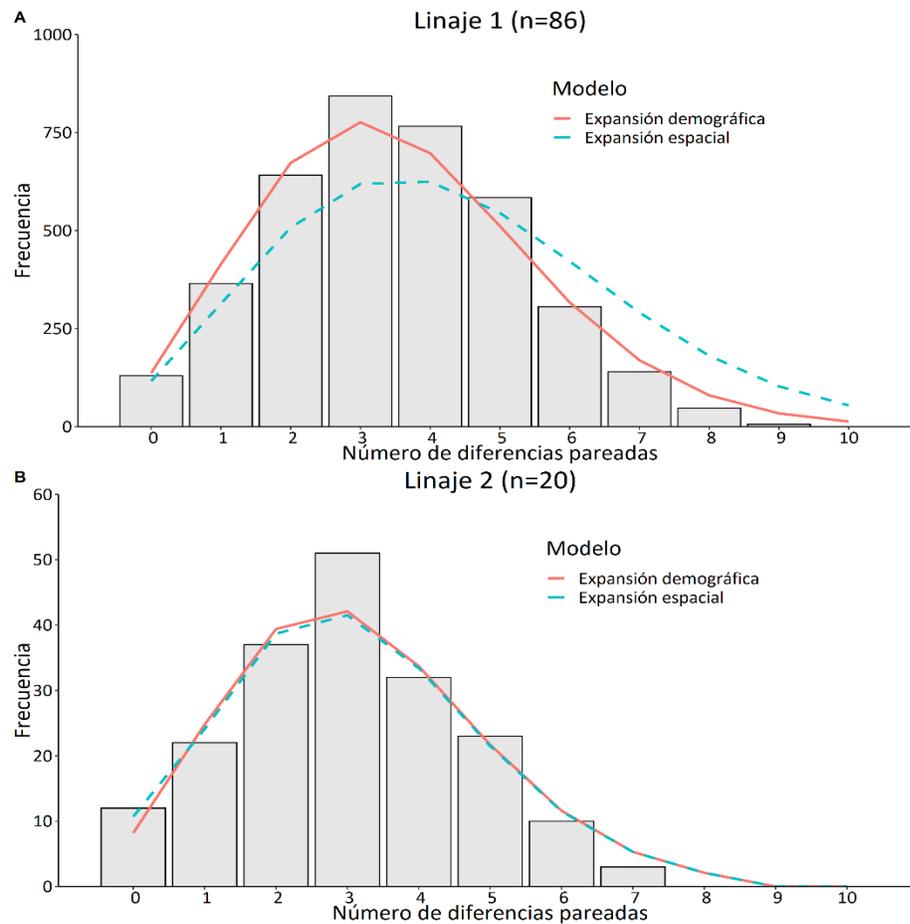


Figura 9. Análisis de distribución de las diferencias pareadas de secuencias de la RC de los linajes 1 y 2 de *A. cf. solaris* dentro del GC. Las barras representan los valores observados, la línea roja los datos esperados bajo un modelo de expansión demográfica y la línea azul recortada, los datos esperados bajo un modelo de expansión espacial.

Las pruebas de neutralidad y análisis de diferencias pareadas de los individuos presentes en cada una de las regiones del GC solo fueron realizadas para las estrellas que pertenecen al linaje 1, debido a que se trata del linaje con más individuos presentes en el GC. Para los análisis se omitieron las secuencias de las COTS presentes en el GCC por tener un bajo número de muestra ($n=6$).

Tabla 8. Pruebas de neutralidad de la RC en las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).

Regiones	N	D (p_D)	Fs (p_{Fs})	R ₂ (p_{R_2})
PC	15	-2.030 (0.540)	-9.007(0.001) ***	0.056(0.001) * **
PS	19	-1.344(0.076)	-5.498(0.014) *	0.078(0.025) *
Corralitos	52	-2.161(0.002) **	-26.730(0.001) ***	0.035(0.001) ***

N= número de muestras, D= D de Tajima, Fs=Prueba de Fu, R₂= Prueba de Ramos-Onsins y Rozas. Valores con significancia estadística de las pruebas de neutralidad, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Se encontró evidencia de que las COTS dentro del Golfo de California han presentado una expansión demográfica histórica. Las pruebas de D de Tajima no fueron significativas para las estrellas que pertenecen a la región RPC y RPS, mientras que, las COTS que formaron el *outbreak* (Corralitos), tuvieron un valor negativo y significativo (Tabla 8). Las estimaciones de las pruebas Fs de Fu fueron negativas y significativas para las COTS de las tres regiones analizadas. Así mismo, la prueba de R₂ de Ramos-Onsins y Rozas fueron significativas para las tres regiones (Tabla 8).

Tabla 9. Parámetros del análisis de distribución de diferencias pareadas de las secuencias de RC en el linaje 1 dentro de las regiones del Golfo de California (valores de significancia estadística entre paréntesis).

Análisis de distribución de diferencias pareadas					
Regiones	N	Expansión demográfica		Expansión Espacial	
		Rag (p_{Rag})	SSD (p_{SSD})	Rag (p_{Rag})	SSD (p_{SSD})
PC	15	0.014 (0.828)	0.002 (0.832)	0.014 (0.870)	0.001 (0.913)
PS	19	0.092 (0.014) *	0.056 (0.001) ***	0.092 (0.019) *	0.046 (0.001) ***
Corralitos	52	0.012 (0.588)	0.003 (0.545)	0.012 (0.790)	0.003 (0.672)

N= número de muestras, Rag= índice *Raggednes*, SSD= Prueba de desviaciones cuadradas. Valores con significancia estadística de las pruebas de bondad de ajuste, * $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$.

Los resultados de los análisis de distribución de diferencias pareadas de las secuencias de la RC para cada región del GC tienen una distribución unimodal (Figura 10), donde las regiones PC y Corralitos se ajustaron a los modelos de expansión poblacional y espacial (Tabla 9). Únicamente, las COTS presentes en la PS no se ajustaron al modelo de expansión demográfica (SSD=0.092, $p=0.05$), ni al modelo de expansión espacial (SSD=0.046, valor $p<0.05$).

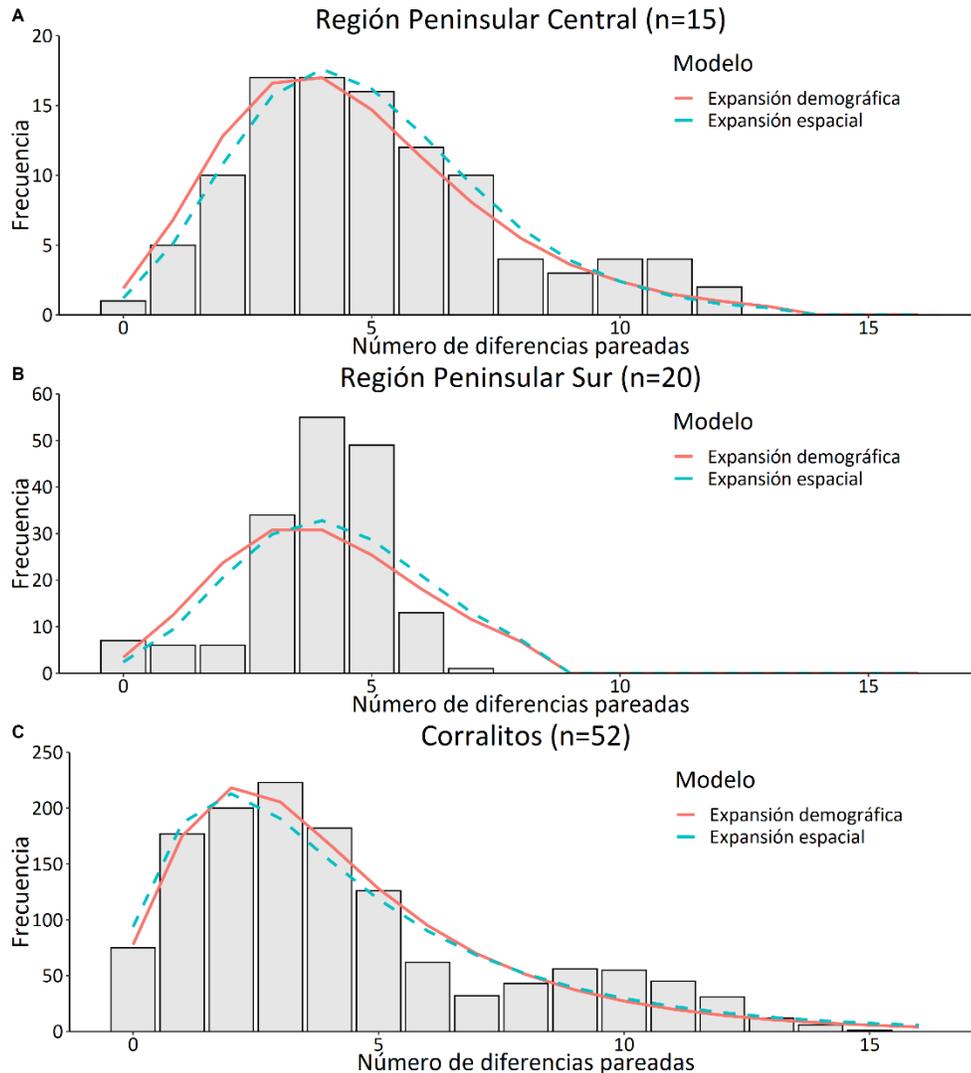


Figura 10. Análisis de distribución de las diferencias pareadas de secuencias de la RC en *A. cf. solaris* en las regiones del GC. Las barras representan los valores observados, la línea roja los datos esperados bajo un modelo de expansión demográfica y la línea azul recortada, los datos esperados bajo un modelo de expansión espacial.

Finalmente, los resultados de los modelos bayesianos *Bayesian Skyline plot* (BSKP) sugieren que el linaje 1 presentó expansión poblacional demográfica hace aproximadamente entre 10,000 y 14,000 años (Figura

11). Mientras que las estimaciones para el linaje 2 indican que el tamaño efectivo poblacional se ha mantenido constante durante los últimos 9 mil años (Figura 12).

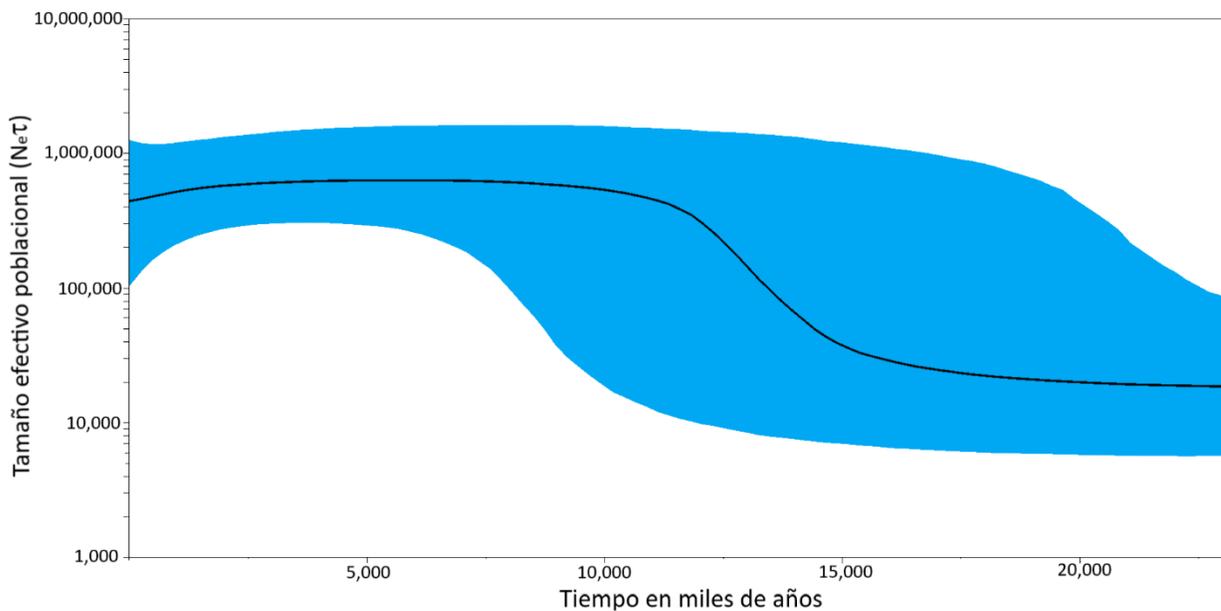


Figura 11. Bayesian Skyline plot de secuencias de la RC de *A. cf. solaris* pertenecientes al linaje 1. La línea negra representa la mediana estimada y el fondo azul los intervalos de confianza al 95%.

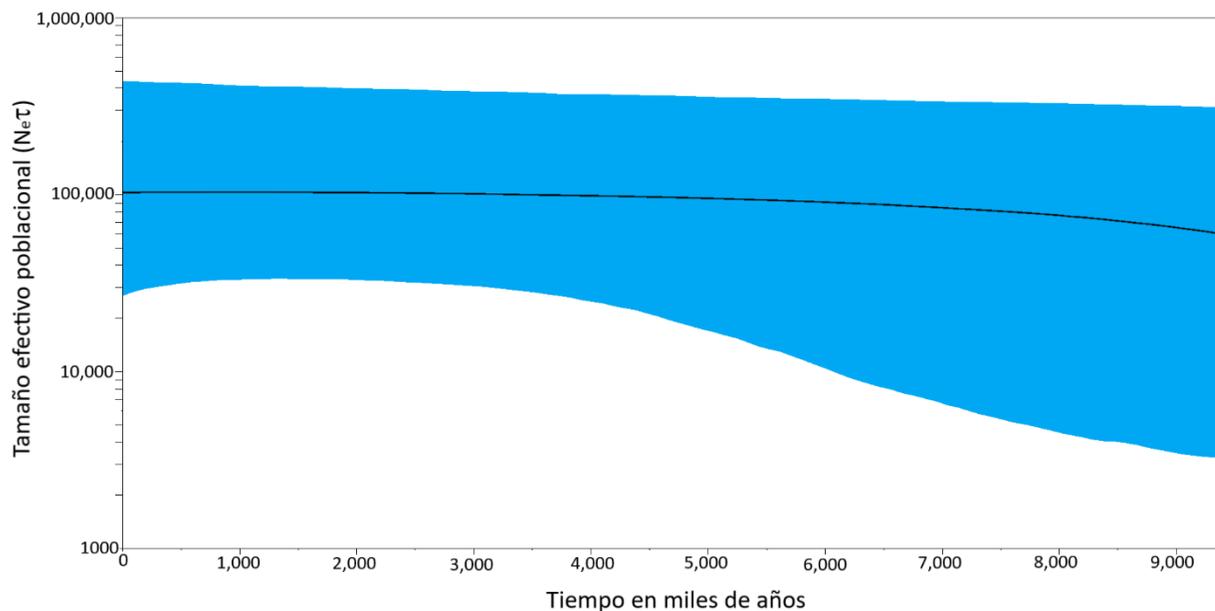


Figura 12. Bayesian Skyline plot de secuencias de la RC de *A. cf. solaris* pertenecientes al linaje 2. La línea negra representa la mediana estimada y el fondo azul los intervalos de confianza al 95%.

3.5 Filogenia de *A.cf. solaris* en el océano Pacífico

El análisis filogenético de inferencia bayesiana (Figura 13) indica que la especie *A. cf. solaris* está constituido por cinco subclados (A, B, C, D y E) distribuidos en el océano Pacífico (Figura 15 del anexo). Donde linajes mitocondriales de COTS distribuidos en el Pacífico occidental, Pacífico central, Costa Rica y Panamá en el Pacífico oriental se encuentran en una politomía basal (Clado A y B). Mientras que haplotipos de las COTS que se encuentran en regiones del Pacífico central (norte y sur) y en el Pacífico oriental (ICLA y el GC) aparecen monofiléticos con un soporte estadístico moderado (PP =69 %) y las relaciones entre ellos no se encuentran resueltas. El clado C (pp=96%) los grupos basales están compuesto por haplotipos que se encontraron en el Arrecife de Kingsman, Polinesia Francesa, mientras que los linajes mitocondriales más derivados fueron las estrellas que se distribuyeron en ICLA y el GC (linaje 2 de este trabajo). Por el contrario, en el clado D, soportado con un alto valor estadístico (pp=100%), está constituido por un grupo ancestral de COTS presentes en el GC y un grupo derivado formado por una politómia de haplotipos de las COTS del linaje 1 mencionado anteriormente (ver sección 3.2) y de haplotipos de estrellas presentes en la Polinesia Francesa. Finalmente, el clado E está constituido por linajes mitocondriales presentes únicamente en la región del Pacífico central norte (Hawaii, Atolón de Johnston).

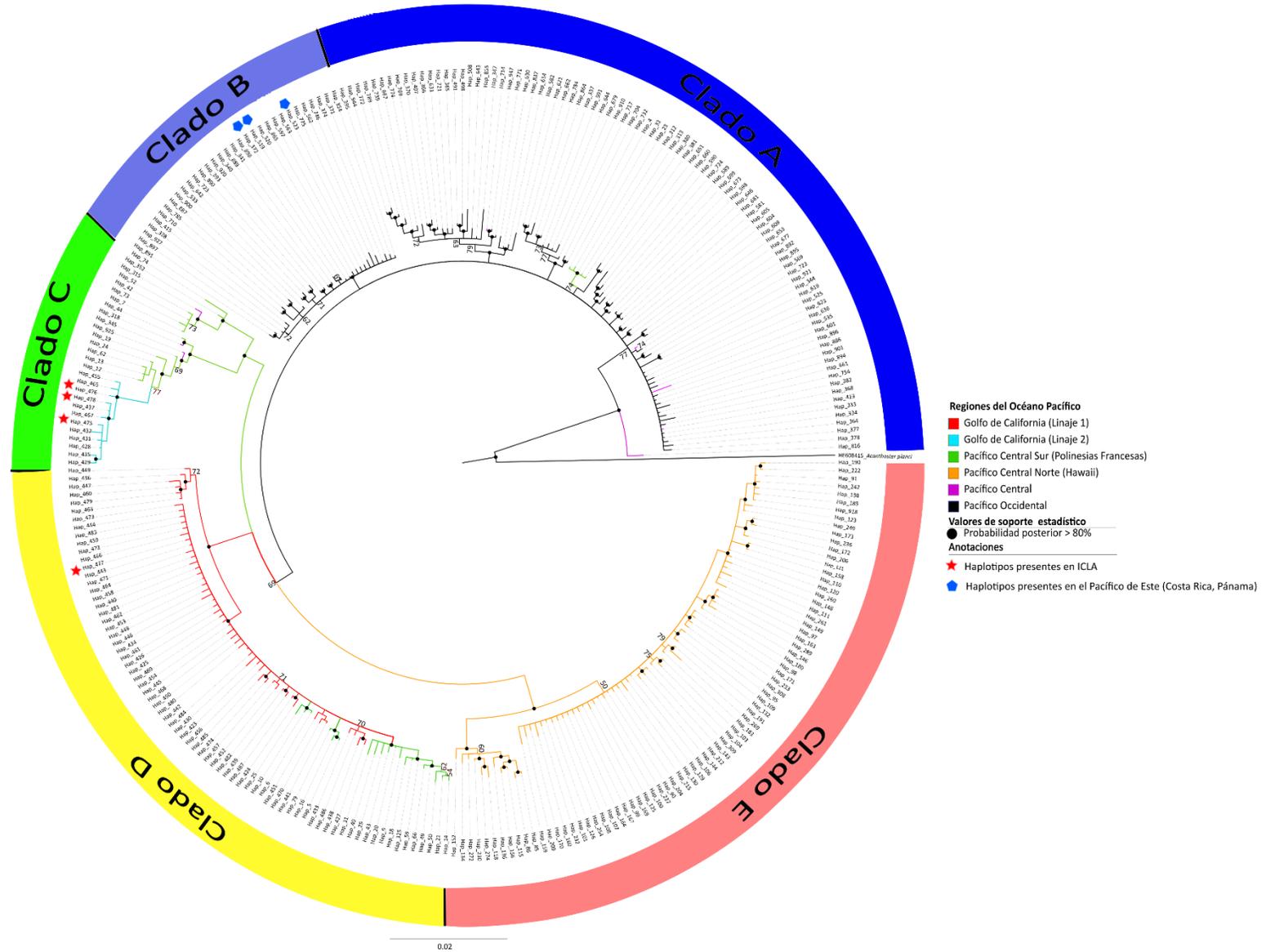


Figura 13. Árbol filogenético bayesiano enraizado. Los nodos con valores de soporte estadístico 80% se representan con círculos negros. Las ramas están coloreadas de acuerdo a las regiones a donde pertenecen las COTS. En rojo los haplotipos del linaje 1 del GC ; haplotipos del linaje 2 en GC, en cian; haplotipos de Hawaii, en naranja; haplotipos de la Polinesia Francesa, en verde; haplotipos presentes en el Pacífico occidental, en negro; haplotipos de el Pacífico central, en violeta. Las estrellas rojas representan haplotipos presentes en ICLA y los pentágonos azules, los haplotipos encontrados en Costa Rica y Panamá.

Capítulo 4. Discusión

El presente estudio es el primero en analizar la diversidad genética de una especie de la clase Asteroidea en el Pacífico mexicano utilizando marcadores moleculares del ADNmt. Se describe por primera vez la diversidad genética y los patrones filogeográficos de la especie *A. cf. solaris* dentro del GC. Además, se presenta el análisis filogenético basado en la RC de *A. cf. solaris* más completo hasta ahora. Esto se debe a que se cubrió el mayor número de regiones en el océano Pacífico ampliando el número de individuos presentes en el Pacífico oriental, con la inclusión de las COTS del GC y de ICLA. A continuación, se discuten los resultados obtenidos en cada uno de los análisis realizados para cumplir los objetivos del trabajo.

4.1 Alta variabilidad genética de *A. cf. solaris* en el GC

En el presente trabajo, se encontraron niveles altos de diversidad haplotípica con las secuencias de la RC, lo que refleja el alto grado de polimorfismo que presenta dicha región en el ADNmt. En contraste, niveles bajos de diversidad haplotípica fueron observados en el gen COI (Figura 4). La discrepancia entre estos dos marcadores era de esperarse ya que RC del ADNmt tiene una tasa de mutación mayor debido a que no se encuentra bajo selección, a comparación de las regiones codificantes como el gen COI (Yasuda et al., 2006). Por su parte, el gen COI ha sido efectivo para identificar diferentes especies del género *Acanthaster* en el Indo-Pacífico (Vogler et al. 2008). Por lo tanto, dada la rápida tasa evolutiva de la RC es útil para distinguir poblaciones de las COTS, mientras que el gen COI es idóneo para análisis interespecíficos entre asteroideos (Yasuda et al., 2006).

En cuanto a las secuencias de la RC, los valores altos de diversidad haplotípica y nucleotídica observada en la especie dentro del GC (Figura 5) coinciden con los reportados en otras especies de equinodermos con estadios larvarios meroplanctónicos (Tabla 10) (Waters y Roy, 2004; Zulliger et al., 2009; Pérez-Portela et al., 2017). Se encontraron los mismos patrones de variabilidad haplotípica con secuencias de RC reportados en poblaciones de *A. cf. solaris* ($h=0.83-1.00$) en el océano Pacífico (Timmers et al., 2011; 2012; Vogler et al., 2013), *A. planci* ($h=0.89-1.00$) y *A. mauritiensis* ($h=0.73-1.00$) en el océano Índico (Vogler et al. 2012). Estos valores de diversidad genética se asocian principalmente a tamaños poblacionales grandes y a eventos de expansión demográfica o espacial que ha presentado la especie (Vogler et al., 2013).

Tabla 10. Valores de diversidad genética observados en equinodermos con estadios larvarios meroplanctónicos.

Especie	N	Región geográfica	Diversidad haplotípica	Diversidad nucleotídica	Referencia
<i>Patiriella regularis</i>	114	Tasmania, Pacífico Occidental	0.9	na	Wates y Roy, 2004
<i>Astropecten aranciacus</i>	151	Mar mediterráneo, océano Atlántico	0.99	0.006	Zulliger et al., 2009
<i>Marthasterias glacialis</i>	55	Mar mediterráneo, océano Atlántico	0.99	0.02	Pérez-Portela et al., 2017
<i>Acanthaster cf. solaris</i>	114	Golfo de California, Pacífico Oriental	0.97	0.02	Presente estudio

N= Número de secuencias; na= no reportado por los autores

La alta diversidad genética observada en las COTS dentro de los sitios del GC pueden estar relacionados con un tamaño poblacional estable, así como expansiones demográficas históricas de la especie dentro de la región. Las poblaciones de especies marinas con un tamaño poblacional grande retienen numerosos haplotipos, porque hay menor efecto de la deriva génica (Watterson 1986). Además, una mayor diversidad haplotípica y una baja diversidad nucleotídica, es una señal de que las poblaciones han presentado expansión demográfica rápida después de un evento de cuello de botella; lo cual no permite que pase el tiempo suficiente para retener nuevas mutaciones (Zulliger et al., 2009; Otwoma y Kochzius, 2016).

La alta diversidad haplotípica observada en las COTS dentro del GC puede deberse también a la historia de vida de la especie. Equinodermos con un estadio larvario planctónico como es el caso de *A. cf. solaris*, presentan una mayor diversidad genética a diferencia de especies que presentan otras estrategia de desarrollo larval (e.g. desarrollo directo o larva bentónica) (Weber et al., 2015; Puritz et al., 2017). Por lo que tener un desarrollo larval meroplanctónica, permite que haya mayor migración de los individuos entre sitios, provocando que las poblaciones presenten mayores tamaños efectivos (Weber et al., 2015).

4.2 Dos linajes de *A. cf. solaris* a lo largo del GC

Uno de los hallazgos más importantes de este estudio es la presencia de dos linajes en el GC altamente diferenciados ($\Phi_{st}=0.92$, $p<0.001$) y recíprocamente monofiléticos (Figura 6). Lo que indica que ambos evolucionaron en respuesta a barreras extrínsecas que detuvieron el flujo de genes entre ellos por un largo periodo de tiempo (Avice 2002). No obstante, en la actualidad los dos linajes están mezclados en diferentes

proporciones dentro de la mayoría de las regiones del GC y en ICLA, a excepción de la región más norteña del GC (GCC), donde únicamente se observaron haplotipos del linaje 1 (Figura 6a). Por lo que la distribución de los dos linajes divergentes en el GC es compleja y es el resultado de la combinación de eventos históricos de la especie y un contacto contemporáneo dentro de esta zona. Esto dio como resultado la mezcla de linajes divergentes, patrón que se sigue observando en la actualidad, por ejemplo, como en la especie *Callinectes bellicosus* dentro del GC (Pfeiler et al., 2005).

En la red de haplotipos y en el análisis filogenético, se observaron haplotipos compartidos entre la región PS e ICLA (linaje 1). Dichos resultados son evidencia de flujo genético histórico de las COTS entre las dos regiones separadas por alrededor de 800 km. Esto concuerda con otros trabajos donde se ha hipotetizado que las poblaciones de COTS en el Pacífico separadas por hasta 1000 km podrían haber tenido un flujo de genes histórico entre ellas (Yasuda et al., 2009; Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013).

Es interesante observar que el linaje 1 es predominante en el golfo (82% de las COTS), mientras que el linaje 2 presenta un gradiente de abundancia que aumenta hacia las regiones más sureñas de la zona de estudio siendo el predominante en ICLA. Si este patrón no se debe a un sesgo por el muestreo (bajo tamaños de muestra en GCC), entonces posiblemente para el linaje 2 existe una barrera no identificada que impide su distribución al norte del GC. En el caso de que las estrellas que pertenecen al linaje 2 también se distribuyan en la parte norte del GC estaríamos hablando de que ambos linajes están coexistiendo en todas las regiones. Es fundamental obtener un mayor número de muestras en regiones más al norte del GC que ayudarían a esclarecer los patrones filogeográficos de esta especie al norte del GC.

4.3 El ADNmt indica que *A. cf. solaris* es una población panmíctica dentro del GC

De acuerdo con el AMOVA, *A. cf. solaris* presenta una heterogeneidad genética entre las COTS dentro de la zona de estudio (GC e ICLA) (Tabla 3). A pesar de que las comparaciones pareadas entre los índices de fijación no fueron significativas después de la corrección de Bonferroni, las estrellas presentes en ICLA tuvieron los índices de fijación más alto, indicando que posiblemente las estrellas de esta zona están aisladas genéticamente (Tabla 4). Por lo que la ausencia de significancia estadística podría deberse al bajo número de muestras obtenidas en ICLA (n=4). A pesar de esto, en especies como *Anisotremus interruptus* se ha observado diferenciación genética entre las poblaciones del GC y El Archipiélago de Revillagigedo (Palmerín-Serrano et al., 2020). Esto ocasionado por los remolinos mesoescala con sentido hacia el

suroeste que ocurren cerca de la boca del GC y reducen el transporte de larvas hacia el sur, actuando como una barrera que aísla las poblaciones de las islas del Pacífico mexicano con el GC (Kurczyn et al., 2012; Romero-Torres et al., 2018). Por tal motivo, es probable que haya una baja conectividad genética entre las poblaciones de COTS entre estas regiones, por lo que se requiere un mayor número de muestras en ICLA para obtener un resultado más robusto.

El presente trabajo se basó en marcadores mitocondriales y por tal motivo no es posible conocer si los linajes simpátricos observados se encuentran aislados reproductivamente o tienen flujo de genes entre ellos en la actualidad. Dado lo anterior, los análisis de diferenciación genética se realizaron mezclando ambos linajes (Tabla 4) y luego se excluyó el linaje 2 en las pruebas (Tabla 5A). Ambos análisis evidenciaron la existencia de una población panmíctica de las COTS dentro del GC. En *A. cf. solaris*, la presencia de dos o más linajes (separados por más de 20 mutaciones) mezclados en los sitios estudiados y la nula presencia de una diferenciación genética entre regiones ha sido atribuido principalmente a que la tasa de migración podría ser mayor a la tasa de mutación de la RC (Yasuda et al., 2014).

Para la especie *A.cf. solaris*, se han identificado poblaciones diferenciadas genéticamente entre regiones oceanográficas alejadas por más de 1000 km (Timmer et al., 2012; Vogler et al., 2013). Sin embargo, se han reportado poblaciones panmícticas en Hawaii y la Polinesia Francesa, donde los sitios analizados están separados por menos de 1000 km (Timmers et al., 2011; Yasuda et al., 2014). La ausencia de diferenciación a escalas geográficas pequeñas se ha atribuido principalmente al alto potencial dispersivo que presenta la larva y su duración en la columna de agua de aproximadamente 14 días hasta 6 semanas (Yamaguchi 1973). En el presente estudio la escala geográfica fue de ~532 km, lo cual sugiere que la homogeneidad genética observada en las COTS dentro del GC sea consecuencia de dispersión larvaria pelágica.

En el GC, se han observado diversos patrones de diferenciación genética en especies pertenecientes a arrecifes rocosos. Por ejemplo, poblaciones genéticamente diferenciadas entre regiones norte y sur del GC (Riginos, 2005; Lin et al., 2009; Bernardi 2014); entre la región del cabo del GC (Bahía La Paz y Cabo San Lucas) y el centro del GC (Lin et al., 2009). Esto como resultado de eventos vicariantes provocado por la incursión de un canal de agua hipotético que separó ambas regiones al final del Mioceno e inicios del Pleistoceno (entre 4 y 1 Ma) (Riddle et al., 2000). Sin embargo, dado que la historia evolutiva de *A. cf. solaris* podría ser más reciente, los eventos de vicarianza del GC no influyeron en los niveles de diferenciación genética de las COTS en el GC como se había hipotetizado.

Evidencia de panmixia en especies marinas como las COTS se han observado en otras especies dentro del GC, por ejemplo las especies *Callinectes bellicosus* (Pfeiler et al., 2005) y *Nerita funiculata* (Hurtado et al., 2007). Tales especies y *A. cf. solaris* poseen un alto potencial dispersivo y una larga duración de la larva pelágica. La mezcla efectiva entre poblaciones podría ser ocasionada la duración de la larva y/o por la dispersión larvaria a través de la circulación de las corrientes del GC, que en conjunto impiden que la deriva génica pueda actuar diferenciando las pozas génicas de las COTS entre las diferentes regiones del GC. Se ha observado en simulaciones de liberación de larvas, que en otoño las partículas pueden moverse en direcciones de norte hacia el sur, del lado peninsular del GC promoviendo la conectividad de larvas entre localidades de esta zona (García-De León et al., 2018; Marinone 2012). Futuros trabajos utilizando modelos langrangianos, así como también análisis de conectividad genética con marcadores moleculares con una mayor tasa de mutación como microsatélites o utilizando SNPs (por sus siglas en inglés *Single Nucleotide Polymorphisms*) neutrales a lo largo del genoma de la especie, permitirían reconocer las direcciones del flujo génico de las COTS en el GC.

Uno de los objetivos principales de este estudio fue identificar los lugares o regiones de procedencia de las estrellas que formaron el *outbreak*. Para esto era crucial distinguir poblaciones discretas entre las diferentes regiones del GC. Ya que si hay un alto grado de diferenciación genética entre regiones, teóricamente, es posible identificar con mayor precisión los sitios y/o regiones de origen de las estrellas que conformaron el evento (Geller et al., 2010; Harrison et al., 2017). Sin embargo, dado a que se observó una homogeneidad genética entre las COTS de otras regiones del GC y las que formaron parte del *outbreak* (Tabla 3), no fue posible identificar las regiones de procedencia de los organismos que conformaron el evento observado en Corralitos. Por lo tanto, la hipótesis de mayor parsimonia es que las COTS del *outbreak* forman parte de una población panmítica presente dentro del GC, por lo que su proveniencia geográfica no puede ser resuelta con estos marcadores. Es importante destacar que el marcador molecular utilizado en este trabajo podría no tener la resolución temporal suficiente para identificar una estructuración genética en la especie dentro del GC. Por lo anterior, es posible (aunque no es seguro) que el uso de marcadores moleculares como microsatélites, SNPs o todo el mitogenoma, podrían revelar una estructura genética en las COTS dentro del GC. Ya que recientemente utilizando el mitogenoma se logró observar estructuración genética en las COTS de Japón las cuales antes se consideraban como una unidad genética (Inoue et al., 2020). Esto permitiría reconocer los sitios fuentes de las estrellas que formaron parte del evento que ocurrió en Corralitos.

4.4 Reciente expansión demográfica y espacial en los dos linajes en el GC

Las COTS del linaje 1 y 2 presentaron una expansión demográfica y fue soportada por las pruebas de neutralidad, los análisis de distribución de diferencias pareadas, y la forma de estrella que presenta la red haplotípica. En el caso de las diferentes regiones del linaje 1, los análisis de distribución de las diferencias pareadas y las pruebas de neutralidad evidenciaron una expansión demográfica y espacial. Excepto la región de PS, la cual no se ajustó al modelo de expansión poblacional demográfica y espacial. Sin embargo, las pruebas de neutralidad fueron significativas en esta región, las cuales presentan mayor robustez estadística que las pruebas de bondad de ajuste (Ramos-Onsins y Rozas, 2002). Para el linaje 2 no se observó una expansión demográfica en el análisis de BSKP (figura 12). Sin embargo, las pruebas de neutralidad y análisis de distribución de las diferencias pareadas muestran lo contrario. El hecho de que el modelo bayesiano no se observara una expansión demográfica, se debe al bajo número de muestras ($n=20$), lo que no permite proporcionar el poder estadístico necesario al análisis para detectar una expansión demográfica poblacional (Grant 2015). Por lo que los resultados de las distribuciones de las diferencias pareadas pueden proporcionar un resultado más preciso para interpretar la historia demográfica de este linaje. Por tanto, para el linaje 2 es evidente que pasaron por un periodo de expansión demográfica y espacial, posterior a un cuello de botella.

El análisis BSKP estimó una reciente expansión demográfica en el linaje 1 de aproximadamente hace ~15,000 años, después del UMG en el Pleistoceno tardío (figura 11). La falta de un reloj molecular de la RC específico en *A. cf. solaris* hace que este resultado deba ser tomado con precaución. Sin embargo, durante el Pleistoceno (2.6 millones de años-11.7 miles de años), los niveles de mar fluctuaron de acuerdo con los periodos glaciares e interglaciares (Pillans et al., 1998). Estas fluctuaciones tuvieron repercusiones en los hábitats de las especies marinas, las corrientes y la temperatura superficial del mar (Ludt y Rocha, 2015). Además, estos cambios ambientales ocasionaron extinciones en las especies marinas durante periodos de glaciaciones y expansiones poblacionales durante periodos interglaciares (Marko et al., 2010; Ludt y Rocha, 2015). Por ejemplo, después del UMG aumentó el nivel del mar producto de la desglaciación y permitió la disponibilidad de hábitat para las especies marinas en todo el mundo (Marko et al., 2010). Por dicha razón se han observado signos de expansión demográfica y/o espacial posterior al UMG, como por ejemplo en las estrellas de mar del género *Echinaster* en el océano Atlántico (Fontanella 2016; Garcia-Cisneros et al., 2016). De igual manera en el género *Acanthaster*, se estimó una expansión demográfica después del UMG, específicamente las COTS distribuidas en el océano Indico (Vogler et al., 2012).

Por lo que los cambios oceánicos después del UMG fueron importantes para las COTS del linaje 1 dentro del GC. Las condiciones oceanográficas asociadas a los aumentos del nivel del mar, facilitó la expansión espacial y demográfica de las especies tropicales en el Pacífico mexicano y en el GC (Pfeiler et al., 2005; Hurtado et al., 2007; Palmerín-Serrano et al., 2020). Aunado a lo anterior, al término del UMG entre los 14,00 y 15,000 años, las condiciones oceanográficas del GC se caracterizaban por tener un aumento de nutrientes asociados a las desglaciaciones y a la dominancia de aguas tropicales al Sur del GC (Staines-Urías et al., 2015). Estas condiciones crearon hábitats que ayudaron a organismos como las COTS a expandirse demográficamente y/o espacialmente dentro del GC.

4.5 Origen *A. cf. solaris* en el GC y sus relaciones filogenéticas con COTS del Pacífico central

Los resultados sugieren que *A. cf. solaris* en el GC e ICLA tienen un origen difilético. Esto se debe a que los linajes 1 y 2 identificados en dichas regiones, formaron parte de los clados D y C, respectivamente (Figura 13). Los haplotipos basales en el clado C se distribuyeron en el Pacífico Central, mientras que en el clado D están ubicados en el GC. Por lo que la divergencia alopátrica entre estos dos clados puede deberse a los ~5000km de distancia que separa ambas cuencas oceanográficas (Pacífico central y Pacífico oriental). Ya que dicho factor aísla físicamente las poblaciones, provocando que se establezcan linajes distintivos y altamente divergentes en especies marinas con alto potencial dispersivo en el Pacífico tropical (Palumbi 1992; Vogler et al., 2013; Crandall et al., 2019).

Los dos linajes identificados en el GC y en ICLA presentaron relaciones filogenéticas cercanas con haplotipos de COTS presentes en la Polinesia Francesa al sur del Pacífico central. Esto indicaría que esta especie ocasionalmente ha presentado flujo de genes entre ambas regiones y ha sido capaz de dispersarse a través de la Barrera del Pacífico Oriental (BPO); conocida por separar el Pacífico central y el Pacífico oriental con más de 5000 km de océano abierto sin presencia de islas (Briggs 1961). Dicho resultado concuerda con los análisis filogeográficos previos de la especie, donde se observaron haplotipos compartidos entre el Pacífico occidental y el Pacífico oriental (Vogler et al., 2013). Por lo que esta barrera es permeable para las COTS, patrón que también se ha observado en especies como el ofiuero *Ophiocoma erinaceus* (Bribiesca-Contreras et al., 2019), el erizo de mar *Echinothrix diadema* (Lessios et al., 1998) y en peces arrecifales (Lessios y Robertson, 2006). Esta gran capacidad de dispersión de las COTS puede deberse a la posibilidad de retrasar la metamorfosis (Lucas 1982; Pratchett et al., 2014, 2017) o bien a la rara

estrategia de clonación larval en condiciones subóptimas (Allen et al., 2019; Uthicke et al., 2020). Además de dispersarse a través de la Contra Corriente Ecuatorial del Norte (CCEN) en condiciones de El Niño (Nishida y Lucas, 1988; Vogler et al., 2013).

El clado C está constituido por haplotipos basales de las COTS ubicadas en el centro del Pacífico, mientras que los haplotipos del linaje 2 en el GC e ICLA fueron los haplotipos más derivados. Por tanto, es congruente hipotetizar que la colonización de las COTS del linaje 2, ocurrió desde el Pacífico central hacia el GC. La cual pudo ocurrir en presencia de condiciones oceanográficas ocasionales que se presentaron en el Pacífico tropical, por ejemplo al final del Último Máximo Glaciar (UMG) hace ~15,000 años, donde hubo un aumento del nivel del mar (Ludt y Rocha, 2015) y las condiciones climáticas eran similares al evento de El Niño (Koutavas y Joanides, 2012). Esto es importante, porque en periodos cuando ocurre dicho evento, la CCEN se intensifica y promueve el movimiento de masas de agua en dirección oeste-este (Glynn 1996; Robertson et al., 2004). Esto permite la dispersión larvaria de especies con una alta durabilidad pelágica del Pacífico central hacia el Pacífico oriental tropical (Wood et al., 2016; Romero-Torres et al., 2018).

En el clado D los haplotipos más basales se distribuyen en el GC (linaje 1), la llegada de migrantes hacia esta zona también pudo ocurrir desde el Pacífico Central, sin embargo, dado a que no se resolvió la base del clado C no fue posible identificar un sitio en específico. Además, es posible que la llegada del linaje 1 al GC ocurrió antes del UMG en el pleistoceno, ya que la expansión demográfica del linaje 1 se estimó al final de este periodo (ver sección anterior). Se ha propuesto que durante los periodos glaciares, el GC fue una zona importante como refugio de distintas especies marinas, ya que se ha especulado que el descenso de la temperatura superficial del mar tuvo un menor impacto en este lugar, con respecto a otros sitios al este del Pacífico (Reyes Bonilla 1992; Jacobs et al., 2004).

Un escenario hipotético que moldeó la distribución de los linajes encontrados de las COTS en el GC es el siguiente: en primer lugar, la llegada de migrantes del Pacífico central hacia el GC donde pasó el tiempo suficiente para que divergiera y se estableciera un linaje distinto con respecto a otras poblaciones en el océano Pacífico (linaje 1 del GC). Esto ocasionado por el aislamiento provocado por la distancia que separa el GC del resto de las poblaciones en el Pacífico central y occidental. Seguido de una colonización de otro linaje divergente (linaje 2 observado en este trabajo) hacia el GC, promovido por la disponibilidad de vías de dispersión por procesos oceanográficos ocasionales como eventos El Niño. Lo que ocasionó un contacto secundario, patrón que se observa en la actualidad. Por lo anterior el uso de genes nucleares es necesario para conocer si hay introgresión entre ambos linajes en la actualidad, ya que hay evidencia de que *A. cf.*

solaris presenta introgresiones entre linajes divergentes, como lo observado en las COTS analizadas en la Polinesia francesa (Yasuda et al., 2014).

Es interesante que los linajes mitocondriales derivados del clado D se distribuyeron en la Polinesia Francesa. Esto es un indicio de que podría haber migración desde el Pacífico oriental hacia el centro del Pacífico, lo que indicaría que las COTS históricamente han sido capaces de dispersarse en ambas direcciones a través de la BPO. Esto se ha observado en especies de peces con estadios larvarios de larga duración, quienes presentaron una migración del Pacífico oriental hacia el centro del Pacífico (Lessios y Robertson, 2006). El cual puede suceder en eventos extremos de El Niño, ya que en modelos de dispersión larvaria se ha observado que las larvas pueden migrar del Pacífico oriental hacia el centro del Pacífico en estas condiciones (Romero-Torres et al., 2018). Además, las COTS en la Polinesia Francesa tienen múltiples orígenes (Yasuda et al., 2014), por lo que esta región podría ser importante para llegar hacia otros sitios del Pacífico occidental y para el Pacífico oriental (por ejemplo, el linaje 2 identificado en el GC) siguiendo un modelo *steeping stone*. Ya que se ha observado que la isla de Moorea es un sitio que conecta esporádicamente las COTS con islas más al oeste del Pacífico (Timmers et al., 2012). Es necesario obtener muestras de COTS del mayor número de sitios posibles en el Pacífico oriental tropical, para poder entender mejor la migración en ambas direcciones dentro del océano Pacífico.

Los linajes de *A. cf. solaris* más divergentes se distribuyen en el Pacífico central y en el Pacífico oriental, corroborando los resultados que indican que la población de Hawaii y la Polinesia Francesa son las poblaciones más diferenciadas en todo el Pacífico Tropical (Yasuda et al., 2009; Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013). El clado D es recíprocamente monofilético y se distribuye únicamente al norte del Pacífico central. Dicho resultado reafirma las observaciones de otros trabajos donde indican que las COTS presentes en esta región (Hawaii y Atolón de Johnston) están aisladas genéticamente del resto de poblaciones del Pacífico (Timmers et al., 2012; Vogler et al., 2013).

Los haplotipos de COTS presentes en el océano Pacífico occidental se agruparon en una politomía basal (Clado A y B), lo cual concuerda con la baja estructuración genética entre poblaciones del Pacífico Oriental (Vogler et al., 2013). Además, en los Clados A y B hay presencia de linajes que pertenecen a la Polinesia Francesa, Pacífico oriental (Costa Rica, Panamá) y Pacífico central. Lo que indica que las COTS de estas regiones han presentado flujo de genes histórico. De hecho, se ha encontrado que las poblaciones al noroeste del Pacífico aportan migrantes hacia el Centro del Pacífico y Moorea en la Polinesia Francesa a través de las Isla de Guam (Timmers et al., 2012). Mientras que la presencia de haplotipos compartidos

entre las COTS de Costa Rica y Panamá con las poblaciones del Pacífico occidental puede deberse a flujo de genes histórico entre ambas regiones (Vogler et al., 2013).

4.6 Aspectos genéticos de *A. cf. solaris* en el GC pendientes de resolver

Este es el primer análisis de la especie que utiliza las herramientas moleculares en esta región, donde la historia evolutiva de *A. cf. solaris* en el GC ha sido compleja. Si bien se confirmó la presencia de dos linajes, los análisis poblacionales de las COTS indican que forman una población panmictica en el GC. Futuros trabajos utilizando genes nucleares podrían ayudar a confirmar este resultado en *A. cf. solaris* presentes en el GC y así tener la información necesaria para seleccionar unidades de manejo de la especie, donde ya ocurrió el primer evento de *outbreak* (Rodríguez-Vilalobos y Ayala-Bocos, 2018).

La homogeneidad genética observada en las COTS no permitió conocer los lugares de procedencia de las COTS que conformaron el *outbreak*. Aunado a esto, usualmente una ausencia de la diferenciación genética también ha sido utilizada como un proxy de conectividad genética de las especies marinas entre sitios (Cowen y Sponaugle, 2009; Hellberg 2009). Es probable que las larvas de las estrellas presentes en el *outbreak* de Corralitos puedan propagarse a cualquier de las regiones analizadas en este estudio en el GC y con menor probabilidad hacia ICLA, como se ha observado en otras poblaciones de COTS con ausencia de estructuración genética (Yasuda et al., 2009; Harrison et al., 2017). Esto es importante porque se ha hipotetizado que a partir de un primer *outbreak* se puede generar un segundo evento (Pratchett et al., 2014, 2017), lo cual traería problemas ecológicos en otras colonias de corales hermátipicos del GC. Dicho esto, es crucial realizar monitoreos ocasionales, no sólo en Bahía La Paz, sino también en el resto del GC donde también hay colonias de corales, lugares donde se pueden formar agregaciones de COTS hasta ser considerado como un *outbreak*.

Capítulo 5. Conclusiones

- Las COTS dentro del área de estudio tienen alta diversidad genética, en términos de diversidad haplotípica y nucleotídica, lo que es reflejo de una población con tamaño efectivo grande, favorecido por el tipo de reproducción de *A. cf. solaris*.
- Se identificaron dos linajes mitocondriales en el área de estudio, los cuales coexisten en las regiones de PC, PS y en ICLA. Mientras que las COTS del GCC únicamente pertenecen al linaje 1. Este patrón filogeográfico puede deberse a una barrera geográfica no identificada o por un artefacto del muestreo. Por lo que se necesita un mayor esfuerzo de muestreo en el norte del GC para esclarecer los patrones filogeográficos de la especie.
- Los análisis genéticos indican que las COTS en el área de estudio presentan una heterogeneidad genética, donde las estrellas de ICLA podrían formar una población discreta. Sin embargo, son necesarias más muestras en esta zona para tener un resultado más robusto. Las COTS del GC forman parte de una población panmíctica, como consecuencia de su alto potencial dispersivo que promueve la homogeneidad genética en la región.
- Las estrellas que formaron parte del *outbreak* no se diferenciaron genéticamente de los individuos circundantes de otras regiones del GC, por lo que las COTS del evento forman parte de la misma población panmíctica. Marcadores moleculares con mayor tasa de mutación podría ayudar a distinguir poblaciones discretas de la especie en el GC, en caso de que exista aislamiento no detectado por el ADN mitocondrial.
- Se detectó que tanto los linajes 1 y 2 han sufrido expansiones demográficas repentinas posteriores a cuellos de botella o efecto fundador durante los periodos glaciares del Pleistoceno. Para el linaje 1 dicha expansión demográfica pudo ocurrir posterior al UMG (~15,000 años) ya que las condiciones permitieron crear hábitats para las COTS dentro del GC. Mientras que la expansión del linaje 2 pudo ocurrir posterior a los eventos del pleistoceno.
- Los análisis filogenéticos revelaron que ha habido flujo genético entre las COTS del Pacífico oriental y Pacífico central, logrando atravesar la BPO. El cual pudo ocurrir ocasionalmente en ambas direcciones posiblemente en condiciones El Niño.

- Las COTS del GC tienen un origen difilético, ya que pertenecieron al Clado C y D, donde la divergencia observada entre ambos clados podría deberse a la distancia que hay entre cuencas oceanográficas (GC y Pacífico Central) que aisló los linajes genéticos. Sin embargo, una migración del Pacífico central hacia el GC del linaje 2 pudo haber provocado un segundo contacto con COTS que se encontraban en el GC, lo que concuerda con la simpatría de linajes observada en la actualidad.
- Se observó un patrón filogenético en la especie de *A. cf. solaris*, donde las COTS del Pacífico Occidental formaron de una politomía basal, indicando que al oeste del Pacífico las poblaciones presentan una baja estructuración genética.

Literatura citada

- Allen, J. D., Richardson, E. L., Deaker, D., Agüera, A., Byrne, M. 2019. Larval cloning in the crown-of-thorns sea star, a keystone coral predator. *Marine Ecology Progress Series*, 609, 271–276. doi:10.3354/meps12843
- Avice, J. C. 2002. *Phylogeography: the history and formation of species*. Harvard University Press, Cambridge.
- Babcock, R. C., Mundy, C. N., Whitehead, D. 1994. Sperm diffusion models and in situ confirmation of long-distance fertilization in the free-spawning asteroid *Acanthaster planci*. *Biological Bulletin*, 186, 17–28. doi:10.2307/1542033
- Benzie, J. A. H., Stoddart, J. A. 1992. Genetic structure of outbreaking and non-outbreaking crown-of-thorns starfish (*Acanthaster planci*) populations on the Great Barrier Reef. *Marine Biology*, 112(1), 119–130. doi:10.1007/BF00349735
- Bernardi, G., Findley, L., Rocha-Olivares, A. 2003. Vicariance and dispersal across Baja California in disjunct marine fish populations. *Evolution*, 57(7), 1599–1609. doi:10.1111/j.0014-3820.2003.tb00367.x
- Bernardi, G. 2014. Baja California disjunctions and phylogeographic patterns in sympatric California blennies. *Frontiers in Ecology and Evolution*, 2(53), 1–10. doi:10.3389/fevo.2014.00053
- Birkeland, C. 1989. The Faustian traits of the crown-of-thorns starfish. *American Scientist*, 77, 154–163.
- Birkeland, C., Lucas, J. S. 1990. *Acanthaster planci*: Major Management Problem of Coral Reefs. In *CRC, Boca Raton*.
- Blackett, M. J., Malipatil, M. B., Semeraro, L., Gillespie, P. S., Dominiak, B. C. 2017. Screening mitochondrial DNA sequence variation as an alternative method for tracking established and outbreak populations of Queensland fruit fly at the species southern range limit. *Ecology and Evolution*, 7(8), 2604–2616. doi:10.1002/ece3.2783
- Bribiesca-Contreras, G., Verbruggen, H., Hugall, A. F., O’Hara, T. D. 2019. Global biogeographic structuring of tropical shallow-water brittle stars. *Journal of Biogeography*, 46(7), 1287–1299. doi:10.1111/jbi.13620
- Briggs, J. C. 1961. The East Pacific Barrier and the Distribution of Marine Shore Fishes. *Evolution*, 15, 545–554. doi:10.2307/2406322
- Bouckaert, R., Heled, J., Kü Hnert, D., Vaughan, T., Wu, C.-H. 2014. BEAST 2: A Software Platform for Bayesian Evolutionary Analysis. *PLoS Comput Biol*, 10(4), 1003537. doi:10.1371/journal.pcbi.1003537
- Cowen, R. K., Sponaugle, S. 2009. Larval Dispersal and Marine Population Connectivity. *Annual Review of Marine Science*, 1(1), 443–466. doi:10.1146/annurev.marine.010908.163757

- Crandall, E. D., Riginos, C., Bird, C. E., Liggins, L., Treml, E., Beger, M., Barber, P. H., Connolly, S. R., Cowman, P. F., DiBattista, J. D., Eble, J. A., Magnunson, S. F., Horne, J. B., Kochzius, M., Lessios, H. A., Liu, S. Y.V., Ludt, W. B., Madduppa, H., Pandolfi, J. M., Toonen, R. J., Gaither, M. R. 2019. The molecular biogeography of the Indo-Pacific: Testing hypotheses with multispecies genetic patterns. *Global Ecology and Biogeography*, 28(7), 943–960. doi:10.1111/geb.12905
- Darriba, D., Taboada, G. L., Doallo, R., Posada, D. 2012. JModelTest 2: More models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods*, 9(8), 772. doi:10.1038/nmeth.2109
- De'ath, G., Fabricius, K. E., Sweatman, H., Puotinen, M. 2012. The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(44), 17995–17999. doi:10.1073/pnas.1208909109
- Drummond, A. J., Rambaut, A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evolutionary Biology*, 7(214). doi:10.1186/1471-2148-7-214
- Excoffier, L., Lischer, H. E. L. 2010. Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3), 564–567. doi:10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x
- Fontanella, F. M. 2016. Mitochondrial DNA panmixia in the little brown seastar *Echinaster spinulosus* suggests a recent population expansion. *Mitochondrial DNA Part A: DNA Mapping, Sequencing, and Analysis*, 27(6), 4503–4509. doi:10.3109/19401736.2015.1101539
- Fu, Y. X. 1997. Statistical Tests of Neutrality of Mutations Against Population Growth, Hitchhiking and Background Selection. *Genetics*, 147, 915–925.
- García-Cisneros, A., Palacín, C., Ben Khadra, Y., Pérez-Portela, R. 2016. Low genetic diversity and recent demographic expansion in the red starfish *Echinaster sepositus* (Retzius 1816). *Scientific Reports*, 6. doi:10.1038/srep33269
- García-De León, F. J., Galván-Tirado, C., Velasco, L. S., Silva-Segundo, C. A., Hernández-Guzmán, R., Barriga-Sosa, I. D. L. A., Píndaro, D. J., Canino, M., Cruz-Hernández, P. 2018. Role of oceanography in shaping the genetic structure in the North Pacific hake *Merluccius productus*. *PLoS ONE*, 13(3). doi:10.1371/journal.pone.0194646
- Geller, J. B., Darling, J. A., Carlton, J. T. 2010. Genetic perspectives on marine biological invasions. *Annual Review of Marine Science*, 2(1), 367–393. doi:10.1146/annurev.marine.010908.163745
- Glynn, P. W. 1996. Coral reefs of the eastern Pacific. *Coral Reefs*, 15(2), 69–69. doi:10.1007/bf01771896
- Grant, W. S. 2015. Problems and cautions with sequence mismatch analysis and Bayesian skyline plots to infer historical demography. *Journal of Heredity*, 106(4), 333-346.
- Harpending, H. C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66(4), 591–600
- Harrison, H. B., Pratchett, M., Messmer, V., Saenz-Agudelo, P., Berumen, M. L. 2017. Microsatellites Reveal Genetic Homogeneity among Outbreak Populations of Crown-of-Thorns Starfish (*Acanthaster cf. solaris*) on Australia's Great Barrier Reef. *Diversity*, 9(1), 16. doi:10.3390/d9010016

- Haszprunar, G., Spies, M. 2014. An integrative approach to the taxonomy of the crown-of-thorns starfish species group (Asteroidea: *Acanthaster*): A review of names and comparison to recent molecular data. *Zootaxa*, 3841(2), 271–284. doi:10.11646/zootaxa.3841.2.6
- Haszprunar, G., Vogler, C., Wörheide, G. 2017. Persistent gaps of knowledge for naming and distinguishing multiple species of crown-of-thorns-seastar in the *Acanthaster planci* species complex. *Diversity*. doi:10.3390/d9020022
- Hellberg, M. E. 2007. Footprints on water: the genetic wake of dispersal among reefs. *Coral Reefs*, 26, 463–473. doi:10.1007/s00338-007-0205-2
- Hellberg, M. E. 2009. Gene Flow and Isolation among Populations of Marine Animals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1), 291–310. doi:10.1146/annurev.ecolsys.110308.120223
- Hellberg, M. E., Burton, R. S., Neigel, J. E., Palumbi, S. R. 2002. Genetic Assessment of Connectivity Among Marine Populations. *BULLETIN OF MARINE SCIENCE*, 70(1), 273–290.
- Henry, L. A., Hart, M. 2005. Regeneration from injury and resource allocation in sponges and corals a review. *International Review of Hydrobiology*, 90(2), 125–158. doi:10.1002/iroh.200410759
- Hermosillo-Nunez, B., Rodríguez-Zaragoza, F., Ortiz, M., Galván-Villa, C., Cupul-Magana, A., Ríos-Jara, E. 2015. Effect of habitat structure on the most frequent echinoderm species inhabiting coral reef communities at Isla Isabel National Park (Mexico). *Community Ecology*, 16(1), 125–134. doi:10.1556/168.2015.16.1.14
- Hernández-Morales, A. 2018. Estudio de la estrella de mar “Corona de espinas” *Acanthaster planci* (Echinodermata: Acanthasteridae) en las comunidades arrecifales del Golfo de California. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz. B.C. S., México.
- Honey-Escandón, M., Solís-Marín, F. A., Laguarda-Figueras, A. 2008. Equinodermos (Echinodermata) del Pacífico Mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 56(Suppl.3), 57–73.
- Hughes, T. P., Anderson, K. D., Connolly, S. R., Heron, S. F., Kerry, J. T., Lough, J. M., Baird, A. H., Baum, J. K., Berumen, M. L., Bridge, T. C., Claar, D. C., Eakin, C. M., Gilmour, J. P., Graham, N. A. J., Harrison, H., Hobbs, J.P.A, Hoey, A. S., Hoogenboom, M., Lowe, R. J., McCulloch, M. T., Pandolfi, J. M., Pratchett, M., Schoepf, V., Torda, G., Wilson, S. K. 2018. Spatial and temporal patterns of mass bleaching of corals in the Anthropocene. *Science*, 359(6371), 80–83. doi:10.1126/science.aan8048
- Hughes, T. P., Barnes, M. L., Bellwood, D. R., Cinner, J. E., Cumming, G. S., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., van de Leemput I. A., Lough, J. M., Morrison, T. H., Palumbi, S. R., van Nes, E. H., Scheffer, M. 2017. Coral reefs in the Anthropocene. *Nature*, 546(7656), 82–90. doi:10.1038/nature22901
- Hurtado, L. A., Frey, M., Gaube, P., Pfeiler, E., Markow, T. A. 2007. Geographical subdivision, demographic history and gene flow in two sympatric species of intertidal snails, *Nerita scabricosta* and *Nerita funiculata*, from the tropical eastern Pacific. *Marine Biology*, 151(5), 1863–1873. doi:10.1007/s00227-007-0620-5
- Hurtado, L. A., Mateos, M., Santamaria, C. A. 2010. Phylogeography of supralittoral rocky intertidal *Ligia* isopods in the Pacific region from Central California to Central Mexico. *PLoS ONE*, 5(7), e11633. doi:10.1371/journal.pone.0011633

- Hurtado, L. A., Lee, E. J., Mateos, M. 2013. Contrasting Phylogeography of Sandy vs. Rocky Supralittoral Isopods in the Megadiverse and Geologically Dynamic Gulf of California and Adjacent Areas. *PLoS ONE*, 8(7), e67827. doi:10.1371/journal.pone.0067827
- Inoue, J., Hisata, K., Yasuda, N., Satoh, N. 2020. An Investigation into the Genetic History of Japanese Populations of Three Starfish, *Acanthaster planci*, *Linckia laevigata*, and *Asterias amurensis*, Based on Complete Mitochondrial DNA Sequences. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 10(7), 2519–25. doi: 10.1534/g3.120.401155
- Jacobs, D. K., Haney, T. A., Louie, K. D. 2004. Genes, diversity, and geologic process on the Pacific Coast. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 32, 601–652. doi:10.1146/annurev.earth.32.092203.122436
- Kayal, M., Vercelloni, J., Lison de Loma, T., Bosserelle, P., Chancerelle, Y., Geoffroy, S., Stievernath, C., Michonneau, F., Penin, L., Planes, Adjeroud, M. 2012. Predator Crown-of-Thorns Starfish (*Acanthaster planci*) Outbreak, Mass Mortality of Corals, and Cascading Effects on Reef Fish and Benthic Communities. *PLoS ONE*, 7(10), 47363. doi:10.1371/journal.pone.0047363
- Koutavas, A., Joanides, S. 2012. El Niño-Southern Oscillation extrema in the Holocene and Last Glacial Maximum. *Paleoceanography*, 27(4). doi:10.1029/2012PA002378
- Kurczyn, J. A., Beier, E., Lavín, M. F., Chaigneau, A. 2012. Mesoscale eddies in the northeastern Pacific tropical-subtropical transition zone: Statistical characterization from satellite altimetry. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 117, 1–17. doi:10.1029/2012jc007970
- Lapointe, B. E., Brewton, R. A., Herren, L. W., Porter, J. W., Hu, C. 2019. Nitrogen enrichment, altered stoichiometry, and coral reef decline at Looe Key, Florida Keys, USA: a 3-decade study. *Marine Biology*, 166(8), 108. doi:10.1007/s00227-019-3538-9
- Lessios, H. A., Kessing, B. D., Robertson, D. R. 1998. Massive gene flow across the world's most potent marine biogeographic barrier. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 265(1396), 583–588.
- Lessios, H. A., Robertson, D. R. 2006. Crossing the impassable: Genetic connections in 20 reef fishes across the eastern Pacific barrier. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273(1598), 2201–2208. doi:10.1098/rspb.2006.3543
- Lessios, H. A. 2008. The Great American Schism: Divergence of Marine Organisms After the Rise of the Central American Isthmus. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 39(1), 63–91. doi:10.1146/annurev.ecolsys.38.091206.09581
- Librado, P., Rozas, J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11), 1451–1452. doi:10.1093/bioinformatics/btp187
- Liggins, L., Gleeson, L., Riginos, C. 2014. Evaluating edge-of-range genetic patterns for tropical echinoderms, *Acanthaster planci* and *Tripneustes gratilla*, of the Kermadec Islands, southwest Pacific. *Bulletin of Marine Science*, 90(1), 379–397. doi:10.5343/bms.2013.101
- Lin, H. C., Sánchez-Ortiz, C., Hastings, P. A. 2009. Colour variation is incongruent with mitochondrial lineages: Cryptic speciation and subsequent diversification in a Gulf of California reef fish (Teleostei: Blennioidei). *Molecular Ecology*, 18(11), 2476–2488. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04188.x

- Lucas, J. S. 1982. Quantitative studies of feeding and nutrition during larval development of the coral reef asteroid *Acanthaster planci* (L.). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 65(2), 173–193. doi:10.1016/0022-0981(82)90043-0
- Ludt, W. B., Rocha, L. A. 2015. Shifting seas: The impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. *Journal of Biogeography*, 42(1), 25–38. doi:10.1111/jbi.12416
- Luna-Salguero, B. M., Reyes-Bonilla, H. 2010. Estructura comunitaria y trófica de las estrellas de mar (echinodermata: Asteroidea) en arrecifes rocosos de Loreto, Golfo de California, México. *Hidrobiologica*, 20(2), 127–134.
- Lunt, D. H., Whipple, L. E., Hyman, B. C. 1998. Mitochondrial DNA variable number tandem repeats (VNTRs): utility and problems in molecular ecology. *Molecular Ecology*, 7(11), 1441–55. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9819900>
- Marinone, S. G. 2012. Seasonal surface connectivity in the Gulf of California. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 100, 133–141. doi:10.1016/j.ecss.2012.01.003
- Marko, P. B., Hoffman, J. M., Emme, S. A., McGovern, T. M., Keever, C. C., Nicole Cox, L. 2010. The “Expansion-Contraction” model of Pleistocene biogeography: Rocky shores suffer a sea change? *Molecular Ecology*, 19(1), 146–169. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04417.x
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for Inference of Large Phylogenetic Trees. *Gateway computing environments workshop (GCE), 2010*. 1–8. doi: 10.1109/GCE.2010.5676129
- Moran, P. J. 1986. The *Acanthaster* phenomenon. *Oceanography and Marine Biology, An Annual Review*, 24, 379–480. doi:10.5962/bhl.title.60630
- Munguia-Vega, A., Jackson, A., Marinone, S. G., Erisman, B., Moreno-Baez, M., Girón-Nava, A., Pfister, T., Aburto-Oropeza, O. A., Torre, J. 2014. Asymmetric connectivity of spawning aggregations of a commercially important marine fish using a multidisciplinary approach. *PeerJ*, 2, e511. doi:10.7717/peerj.511
- Munguia-Vega, A., Marinone, S. G., Paz-García, D. A., Giron-Nava, A., Plomozo-Lugo, T., Gonzalez-Cuellar, O., Weaver, A. H., García-Rodríguez, F., Reyes-Bonilla, H. 2018. Anisotropic larval connectivity and metapopulation structure driven by directional oceanic currents in a marine fish targeted by small-scale fisheries. *Marine Biology*, 165(1). doi:10.1007/s00227-017-3267-x
- Nishida, M., Lucas, J. S. 1988. Genetic differences between geographic populations of the crown-of-thorns starfish throughout the Pacific region. *Marine Biology*, 98(3), 359–368.
- Ochoa-Chávez, J. M., Del Río-Portilla, M. Á., Calderón-Aguilera, L. E., Rocha-Olivares, A. 2018. Genetic connectivity of the endangered brown sea cucumber *Isostichopus fuscus* in the northern Gulf of California revealed by novel microsatellite markers. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 89(2), 563–567. doi:10.22201/ib.20078706e.2018.2.229
- Otwoma, L. M., Kochzius, M. 2016. Genetic population structure of the coral reef sea star *Linckia laevigata* in the western indian ocean and indo-west pacific. *PLoS ONE*, 11(10). doi:10.1371/journal.pone.0165552

- Padilla-Pérez, M. S., Rodríguez-Troncoso, A. P., Sotelo-Casas, R. C., Cupul-Magaña, A. L. 2017. Equinodermos del Parque Nacional Islas Marietas: Generalidades, importancia e identificación visual como herramienta para su protección. *Áreas Naturales Protegidas Scripta*, 3(2), 51–92. doi:10.18242/anpscripta.2017.03.03.02.0003
- Palmerín-Serrano, P. N., Tavera, J., Espinoza, E., Angulo, A., Martínez-Gómez, J. E., González-Acosta, A. F., Domínguez-Domínguez, O. 2020. Evolutionary history of the reef fish *Anisotremus interruptus* (Perciformes: Haemulidae) throughout the Tropical Eastern Pacific. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*. doi:10.1111/jzs.12392
- Palumbi S.R. 1992. Marine speciation on a small planet. *Trends in Ecology and Evolution*, 7(4), 114–118.
- Pérez-Portela, R., Rius, M., Villamor, A. 2017. Lineage splitting, secondary contacts and genetic admixture of a widely distributed marine invertebrate. *Journal of Biogeography*, 44(2), 446–460. doi:10.1111/jbi.12917
- Pfeiler, E., Hurtado, L. A., Knowles, L. L., Torre-Cosío, J., Bourillón-Moreno, L., Márquez-Farías, J. F., Montemayor-López, G. 2005. Population genetics of the swimming crab *Callinectes bellicosus* (Brachyura: Portunidae) from the eastern Pacific Ocean. *Marine Biology*, 146(3), 559–569. doi:10.1007/s00227-004-1463-y
- Pillans, B., Chappell, J., Naish, T. R. 1998. A review of the Milankovitch climatic beat: Template for Plio-Pleistocene sea-level changes and sequence stratigraphy. *Sedimentary Geology*, 122(1–4), 5–21. doi:10.1016/S0037-0738(98)00095-5
- Pratchett, M. S. 2001. Influence of coral symbionts on feeding preferences of crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* in the western pacific. *Marine Ecology Progress Series*, 214, 111–119. doi:10.3354/meps214111
- Pratchett, M. S. 2005. Dynamics of an outbreak population of *Acanthaster planci* at Lizard Island, northern Great Barrier Reef (1995-1999). *Coral Reefs*, 24(3), 453–462. doi:10.1007/s00338-005-0006-4
- Pratchett, M. S. 2010. Changes in coral assemblages during an outbreak of *Acanthaster planci* at Lizard Island, northern Great Barrier Reef (1995-1999). *Coral Reefs*, 29(3), 717–725. doi:10.1007/s00338-010-0602-9
- Pratchett, M. S., Caballes, C. F., Rivera-Posada, J. A., Sweatman, H. P. A. 2014. Limits to understanding and managing outbreaks of crown-of-thorns starfish (*Acanthaster* Spp.). *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*, 52(August), 133–199. doi:10.1201/b17143
- Pratchett, M. S., Caballes, C. F., Wilmes, J. C., Matthews, S., Mellin, C., Sweatman, H. P. A., Nadler, L. E., Bodie, J., Thompson A., Hoey, J., Bos, A., R, Byrne, M., Messmer, V., Fortunato, S. A. V., Chen, C. C. M., Buck, A. C. E., Babcock, R.C, Uthicke, S. 2017. Thirty years of research on crown-of-thorns starfish (1986-2016): Scientific advances and emerging opportunities. *Diversity*, 9(4), 1–49. doi:10.3390/d9040041
- Puritz, J. B., Keever, C. C., Addison, J. A., Barbosa, S. S., Byrne, M., Hart, M. W., Grosberg, R. K., Toonen, R. J. 2017. Life-history predicts past and present population connectivity in two sympatric sea stars. *Ecology and Evolution*, 7(11), 3916–3930. doi:10.1002/ece3.2938

- Quintero-Grijalva, A. 2020. GENÓMICA POBLACIONAL DEL GOBIO *Elacatinus puncticulatus* (Ginsburg, 1938) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA. Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste. La Paz. B.C. S., México
- Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G., Suchard, M. A. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*, 67(5), 901–904. doi:10.1093/sysbio/syy032
- Ramos-Onsins, S. E., Rozas, J. 2002. Statistical properties of new neutrality tests against population growth. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 2092–2100. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a004034
- Reyes Bonilla, H. 1992. New records for hermatypic corals (Anthozoa: Scleractinia) in the gulf of california, mexico, with an historical and biogeographical discussion. *Journal of Natural History*, 26(6), 1163–1175. doi:10.1080/00222939200770671
- Reyes-Bonilla, H., Calderon-Aguilera, L. 1999. Population density, distribution and consumption rates of three corallivores at Cabo Pulmo reef, Gulf of California, Mexico. *Marine Ecology*, 20(3–4), 347–357. doi:10.1046/j.1439-0485.1999.2034080.x
- Reyes-Bonilla, H., Azcárraga, G., Sierra, R. 2005. Estructura de las asociaciones de las estrellas de mar (Asteroidea) en arrecifes rocosos del Golfo de California, México Héctor. *Revista de Biología Tropical*, 53(3), 233–244.
- Rice, M. M., Ezzat, L., Burkepile, D. E. 2019. Corallivory in the anthropocene: Interactive effects of anthropogenic stressors and corallivory on coral reefs. *Frontiers in Marine Science*, 5(525). doi:10.3389/fmars.2018.00525
- Riddle, B. R., Hafner, D. J., Alexander, L. F., Jaeger, J. R. 2000. Cryptic vicariance in the historical assembly of a Baja California Peninsular Desert biota. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(26), 14438-14443.
- Riginos, C. 2005. Cryptic vicariance in Gulf of California fishes parallels vicariant patterns found in Baja California mammals and reptiles. *Evolution*, 59(12), 2678–2690.
- Robertson, D. R., Grove, J. S., McCosker, J. E. 2004. Tropical transpacific shore fishes. *Pacific Science*, 58(4), 507–565. doi:10.1353/psc.2004.0041
- Rodríguez-Vilalobos, J. C., Ayala-Bocos, A. 2018. Coral colonies in the eastern tropical Pacific: predation by *Acanthaster* cf. *solaris*. *Pacific Conservation Biology*, 24(4), 419–420. Retrieved from <https://doi.org/10.1071/PC18040>
- Rogers, A. R., Harpending, H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular Biology and Evolution*, 9(3), 552–569. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a040727
- Romero-Torres, M., Trembl, E. A., Acosta, A., Paz-García, D. A. 2018. The Eastern Tropical Pacific coral population connectivity and the role of the Eastern Pacific Barrier. *Scientific Reports*, 8(1), 9354. doi:10.1038/s41598-018-27644-2
- Ronquist, F., Huelsenbeck, J. P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12), 1572–1574. doi:10.1093/bioinformatics/btg180

- Salzburger, W., Ewing, G. B., Von Haeseler, A. 2011. The performance of phylogenetic algorithms in estimating haplotype genealogies with migration. *Molecular Ecology*, 20(9), 1952–1963. doi:10.1111/j.1365-294X.2011.05066.x
- Saponari, L., Montalbetti, E., Galli, P., Strona, G., Seveso, D., Dehnert, I., Montano, S. 2018. Monitoring and assessing a 2-year outbreak of the corallivorous seastar *Acanthaster planci* in Ari Atoll, Republic of Maldives. *Environmental Monitoring and Assessment*, 190(6). doi:10.1007/s10661-018-6661-z
- Seutin, G., White, B. N., Boag, P. T. 1991. Preservation of avian blood and tissue samples for DNA analyses. *Canadian Journal of Zoology*, 69(1), 82–90. doi:10.1139/z91-013
- Solís-Marín, F. A., Laguarda-Figueras, A., Honey-Escandón, M. 2014. Biodiversidad de equinodermos (Echinodermata) en México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 85(SUPPL.), S441–S449. doi:10.7550/rmb.31805
- Staines-Urías, F., González-Yajimovich, O., Beaufort, L. 2015. Reconstruction of past climate variability and ENSO-like fluctuations in the southern Gulf of California (Alfonso Basin) since the last glacial maximum. *Quaternary Research*, 83(3), 488–501. doi:10.1016/j.yqres.2015.03.007
- Tajima, F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* 123, 585–595.
- Timmers, M. A., Andrews, K. R., Bird, C. E., DeMaintenton, M. J., Brainard, R. E., Toonen, R. J. 2011. Widespread Dispersal of the Crown-of-Thorns Sea Star, *Acanthaster planci*, across the Hawaiian Archipelago and Johnston Atoll. *Journal of Marine Biology*, 2011, 1–10. doi:10.1155/2011/934269
- Timmers, M. A., Bird, C. E., Skillings, D. J., Smouse, P. E., Toonen, R. J. 2012. There's no place like home: Crown-of-thorns outbreaks in the central pacific are regionally derived and independent events. *PLoS ONE*, 7(2), e31159. doi:10.1371/journal.pone.0031159
- Tusso, S., Morcinek, K., Vogler, C., Schupp, P. J., Caballes, C. F., Vargas, S., Wörheide, G. 2016. Genetic structure of the crown-of-thorns seastar in the Pacific Ocean, with focus on Guam. *PeerJ*, 4(e1970). doi:10.7717/peerj.1970
- Uthicke, S., Pratchett, M. S., Messmer, V., Harrison, H. 2020. Limited genetic signal from potential cloning and selfing within wild populations of coral-eating crown-of-thorns seastars (*Acanthaster cf. solaris*). *Coral Reefs*, (3). doi:10.1007/s00338-020-02022-5
- Uthicke, S., Schaffelke, B., Byrne, M. 2009. A boom–bust phylum? Ecological and evolutionary consequences of density variations in echinoderms. *Ecological Monographs*, 79(1), 3–24.
- Van De Vossenbergh, B. T. L. H., Warbroek, T., Ingerson-Mahar, J., Waalwijk, C., Van Der Gouw, L. P., Eichinger, B., Loomans, A. J. M. 2019. Tracking outbreak populations of the pepper weevil *Anthonomus eugenii* (Coleoptera; Curculionidae) using complete mitochondrial genomes. *PLoS ONE*, 14(8). doi:10.1371/journal.pone.0221182
- Vogler, C., Benzie, J. A. H., Tenggardjaja, K., Ambariyanto, Barber, P. H., Wörheide, G. 2013. Phylogeography of the crown-of-thorns starfish: Genetic structure within the Pacific species. *Coral Reefs*, 32(2), 515–525. doi:10.1007/s00338-012-1003-z

- Vogler, Catherine, Benzie, J., Barber, P. H., Erdmann, M. V., Ambariyanto, Sheppard, C., Tenggardjaja, K., Gérard, K., Wörheide, G. 2012. Phylogeography of the crown-of-thorns starfish in the Indian ocean. *PLoS ONE*, 7(8). doi:10.1371/journal.pone.0043499
- Vogler, Catherine, Benzie, J., Lessios, H., Barber, P., Wörheide, G. 2008. A threat to coral reefs multiplied? Four species of crown-of-thorns starfish. *Biology Letters*, 4(6), 696–699. doi:10.1098/rsbl.2008.0454
- Waters, J. M., Roy, M. S. 2004. Phylogeography of a high-dispersal New Zealand sea-star: Does upwelling block gene-flow? *Molecular Ecology*, 13(9), 2797–2806. doi:10.1111/j.1365-294X.2004.02282.x
- Watterson, G. A. 1986. The homozygosity test after a change in population size. *Genetics*, 112(4), 899–907.
- Weber, A. A. T., Mérigot, B., Valière, S., Chenuil, A. 2015. Influence of the larval phase on connectivity: Strong differences in the genetic structure of brooders and broadcasters in the *Ophioderma longicauda* species complex. *Molecular Ecology*, 24(24), 6080–6094. doi:10.1111/mec.13456
- Wood, S., Baums, I. B., Paris, C. B., Ridgwell, A., Kessler, W. S., Hendy, E. J. 2016. El Niño and coral larval dispersal across the eastern Pacific marine barrier. *Nature Communications*, 7. doi:10.1038/ncomms12571
- Yamaguchi, M. 1973. Early life histories of coral reef asteroids, with special reference to *Acanthaster planci* (L.). En O. A. Jones y R. Endeam (Eds.), *Biology and Geology of Coral Reefs* (pp. 369–387). New York: academic Press. doi:10.1016/b978-0-12-395526-5.50019-5
- Yasuda, N., Hamaguchi, M., Sasaki, M., Nagai, S., Saba, M., Nadaoka, K. 2006. Complete mitochondrial genome sequences for Crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* and *Acanthaster brevispinus*. *MBC Genomics*, 7(17). doi:10.1186/1471-2164-7-17
- Yasuda, N., Nagai, S., Hamaguchi, M., Okaji, K., Gérard, K., Nadaoka, K. 2009. Gene flow of *Acanthaster planci* (L.) in relation to ocean currents revealed by microsatellite analysis. *Molecular Ecology*, 18(8), 1574–1590. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04133.x
- Yasuda, N., Taquet, C., Nagai, S., Yoshida, T., Adjeroud, M. 2014. Genetic connectivity of the coral-eating sea star *Acanthaster planci* during the severe outbreak of 2006-2009 in the Society Islands, French Polynesia. *Marine Ecology*, 36(3), 668–678. doi:10.1111/maec.12175
- Zapata, F. A., del Mar Palacios, M., Zambrano, V., Rodríguez-Moreno, M., Palacios, M. del M., Zambrano, V., Rodríguez-Moreno, M. 2017. Filling the gaps: First record of the crown-of-thorns starfish *Acanthaster planci* (Spinulosida: Acanthasteridae) at Gorgona Island, Colombia, Tropical Eastern Pacific. *Check List*, 13(3), 1–4. doi:10.15560/13.3.2112
- Zulliger, D. E., Tanner, S., Ruch, M., Ribí, G. 2009. Genetic structure of the high dispersal atlanto-mediterranean sea star *Astropecten aranciacus* revealed by mitochondrial DNA sequences and microsatellite loci. *Marine Biology*, 156(4), 597–610. doi:10.1007/s00227-008-1111-z

Anexos

Tabla 11. Número de individuos seleccionados para la extracción de ADN y para amplificación de COI y RC.

Localidad	Región	N	Latitud (N)	Longitud (O)	Fecha de colecta
Isla Espiritu Santo (Corralitos)	Corralitos	100	24°26'48.60"	110°22'34.45"	30-ago-18
Isla San Pedro Mártir	CGC	3	28°23'2.90"	112°19'4.08"	nov-16
Isla San Pedro Nolasco	CGC	5	27°58'7.14"	111°23'8.99"	oct-16
Isla Tortuga	CGC	1	27°25'48.61"	111°51'43.56"	-
Isla San Idelfonso	PC	2	26°37'27.44"	111°25'34.18"	oct-16
Isla Catalana	PC	4	25°42'8.63"	110°47'13.87"	18-oct-16
Isla Monserrat	PC	2	25°44'23.22"	111° 2'41.03"	jun-15
Isla Coronado	PC	2	26° 6'31.23"	111°15'39.95"	jun-15
Submarino	PC	3	25°45'47.35"	111°14'36.91"	jun-15
Candelero	PC	5	25°44'40.90"	111°13'37.90"	jun-15
Puerto Escondido	PC	1	25°48'45.08"	111°18'21.43"	jun-15
Las Ánimas	PC	5	25° 6'48.89"	110°30'27.97"	oct-16
San Mateo	PC	5	25°22'43.54"	110°59'34.26"	oct-15
Isla San José	PS	1	24°49'16.47"	110°34'25.99"	21-oct-15
Bahía San Gabriel	PS	3	24°25'39.42"	110°22'8.92"	may-15
Canal de San Lorenzo	PS	2	24°23'12.80"	110°18'54.20"	may-15
Calerita	PS	2	24°21'14.44"	110°17'4.14"	jun-15
Punta Diablo	PS	9	24°18'45.87"	110°20'14.26"	8-sep-18
Isla Gaviotas	PS	14	24°17'10.39"	110°20'24.04"	nov-17
Isla Cerralvo Sur	PS	1	24°49'16.47"	110°34'25.99"	oct-16
Las Cruces	PS	5	24°13'56.39"	110° 7'53.45"	4-may-15
Farallón	-	1	25°26'8.482"	109°22'27.77"	oct-16
Islas Clarión	ICLA	5	18°22'15.238"	114°42'40.56"	ene-2018

* indica los individuos que estaban presentes en la explosión demográfica de El Corralito, Isla Espiritu Santo en La Paz, Baja California Sur.

Tabla 12. Regiones y referencias donde pertenecen las secuencias utilizadas para el análisis filogenético en el océano Pacífico.

Región	Número de secuencias	Sitio	Latitud (N)	Longitud (O)	Referencia
PO	264	Norte de las Islas Marianas	145.39	19.70	Vogler et al., 2013
		Norte de las Islas Marianas	145.74	18.09	Vogler et al., 2013
		Guam	144.79	13.44	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Kaimana	133.78	-3.66	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Flores	121.41	-8.52	Vogler et al., 2013
		Palau	134.55	7.48	Vogler et al., 2013
		Pohnpei	158.21	6.87	Vogler et al., 2013
		Majuro	171.25	7.12	Vogler et al., 2013
		Pulau Seribu	106.60	-5.71	Vogler et al., 2013
		Australia: Isla de Lord Howe	159.08	-31.55	Vogler et al., 2013
		Australia: Rib	146.87	-18.48	Vogler et al., 2013
		Australia: Stanley	148.14	-19.30	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Halmahera Sur	128.34	-0.88	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Lombok	116.05	-8.35	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Karimunjawa	110.40	-5.89	Vogler et al., 2013
		Australia: Arrecife Swains	152.60	-22.17	Vogler et al., 2013
		Australia: Islas Caimán	145.44	-14.68	Vogler et al., 2013
		Okinawa	127.98	26.47	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Halmahera North	127.79	2.10	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Isla Talaud	125.46	3.15	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Sulawesi Sur	119.29	-5.11	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Fakfak	132.33	-2.94	Vogler et al., 2013
		Isla Salomón	160.20	-9.53	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Biak	136.08	-1.19	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Manokwari	134.08	-0.89	Vogler et al., 2013
		Indonesia: Teluk Cenderawasih	134.55	-2.39	Vogler et al., 2013
Indonesia: Manokwari	134.08	-0.89	Vogler et al., 2013		
Philippines	123.27	9.08	Vogler et al., 2013		
Yap	138.12	9.53	Vogler et al., 2013		
Indonesia: Raja Ampat	130.47	-0.41	Vogler et al., 2013		
Indonesia: Bali	115.55	-8.75	Vogler et al., 2013		
PC	55	Fiji	179.41	-16.58	Vogler et al., 2013
		Kingsman	138.12	9.53	Timmer et al., 2012; Vogler et al., 2013
		Samoa americana: Swains	-171.08	-11.06	Timmer et al., 2012; Vogler et al., 2013

PCS	123	Polinesia Francesa	-151.44	-16.65	Timmer et al., 2012; Vogler et al., 2013; Yasuda et al., 2015
PCN	324	Hawaii	-156.89	20.73	Timmers et al., 2011, 2012; Vogler et al., 2013
		Atolón de Jonston	-169.53	16.76	Timmers et al., 2011, 2012; Vogler et al., 2014
POT	126	Costa Rica	-87.06	5.53	Vogler et al., 2013
		Pánama	-82.24	7.47	Vogler et al., 2013
		Isla Clarión	-114.71	18.37	Presente trabajo
		Golfo de California	-110.37	24.44	Presente trabajo
Total	892				

Tabla 13. Diversidad genética del ADNmt (COI y RC) de *Acanthaster cf. Solairs* en el Golfo de California.

Gen	N	H	Hu	S	$h \pm DE$	$\pi \pm DE$
RC	114	65	41	94	0.978 ± 0.006	0.023 ± 0.002
COI	50	10	6	13	0.528 ± 0.082	0.003 ± 0.0007

N= tamaño de muestra, H=número de haplotipos, S=número de sitios segregativos, h=diversidad haplotípica, π =diversidad nucleotídica.

Tabla 14. Diversidad genética de la RC en COTS en las regiones del Golfo de California

Regiones	N	H	Hu	S	$h \pm DE$	$\pi \pm DE$
GCC	6	6	5	11	1 ± 0.0096	0.00684 ± 0.00083
PC	17	16	7	59	0.993 ± 0.023	0.02073 ± 0.00672
PS	22	16	5	50	0.970 ± 0.022	0.01623 ± 0.00550
Corralitos (Explosión demográfica)	65	41	22	78	0.962 ± 0.015	0.02470 ± 0.00334
ICLA	4	4	4	41	1 ± 0.0177	0.03623 ± 0.01602
Total	114	65	41	94	0.978 ± 0.006	0.02321 ± 0.002

N= tamaño de muestra, H=número de haplotipos, S=número de sitios segregativos, h=diversidad haplotípica, π =diversidad nucleotídica.

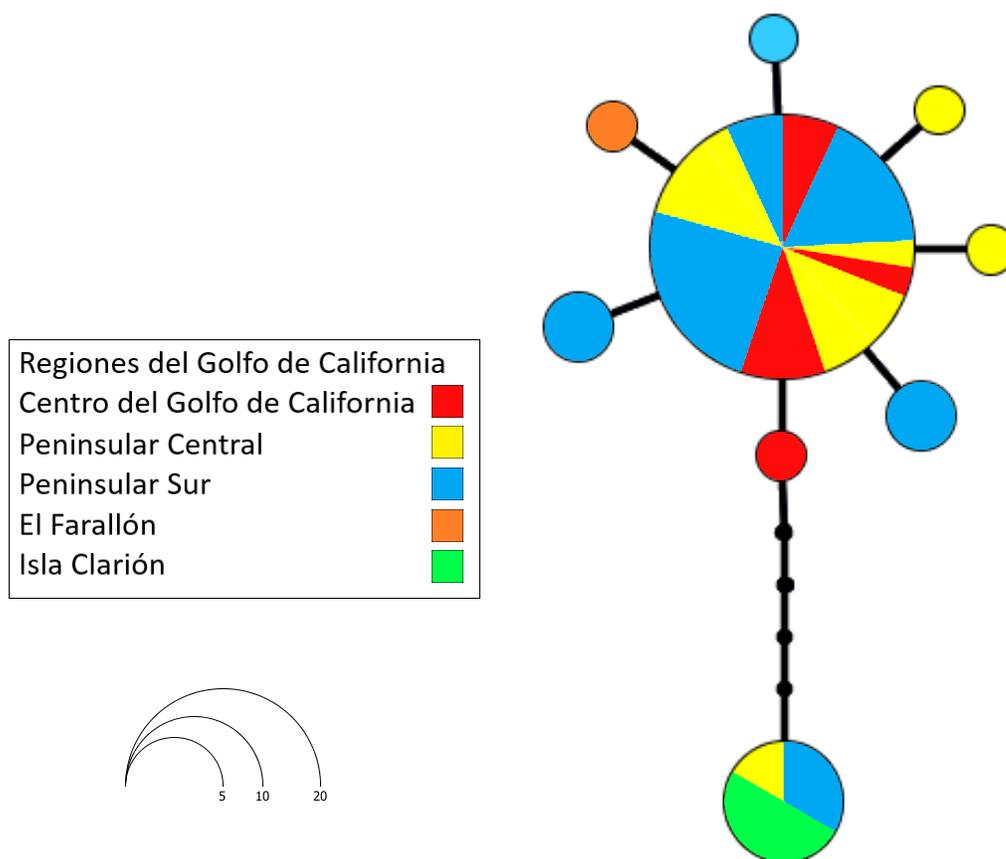


Figura 14. Red que muestra la genealogía de haplotipos del gen COI en *A. cf. solaris* en las regiones del GC e ICLA. El tamaño de los círculos representa la frecuencia de los haplotipos. Los pasos mutacionales entre haplotipos son mostrados como puntos pequeños en la red. En colores se muestran las distintas regiones a las que pertenecen cada uno de los haplotipos.

Tabla 15. Análisis de Varianza Molecular (AMOVA) con el marcador mitocondrial de la RC en *A. cf. solaris* del linaje 1, entre todas las regiones.

Fuente de Variación	g.l	Suma de cuadrados	Componentes de variación	Porcentaje de Variación	Índices de fijación
Entre todas las regiones incluyendo las estrellas presentes en el <i>outbreak</i>					
Entre regiones	3	0.012	-0.001	0	$\phi_{ST} = -0.002$
Dentro de regiones	88	0.374	0.004	100	
Total	91	0.384	0.004		

Tabla 16. Índices de fijación (ϕ_{ST}) para las COTS del linaje 1 en las regiones del GC, Corralitos e ICLA, de la RC. Debajo de la diagonal los valores pareados de ϕ_{ST} y por encima de la diagonal los valores de p , en negrita los valores significativos después de la corrección de Bonferroni.

Regiones	GCC(n=6)	PC(n=15)	PS(n=19)	Corralitos (n=52)
GCC	-	0.97	0.28	0.23
PC	-0.065	-	0.71	0.77
PS	0.015	-0.011	-	0.16
Corralitos	0.014	-0.014	0.012	-

Valores con significancia estadística * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

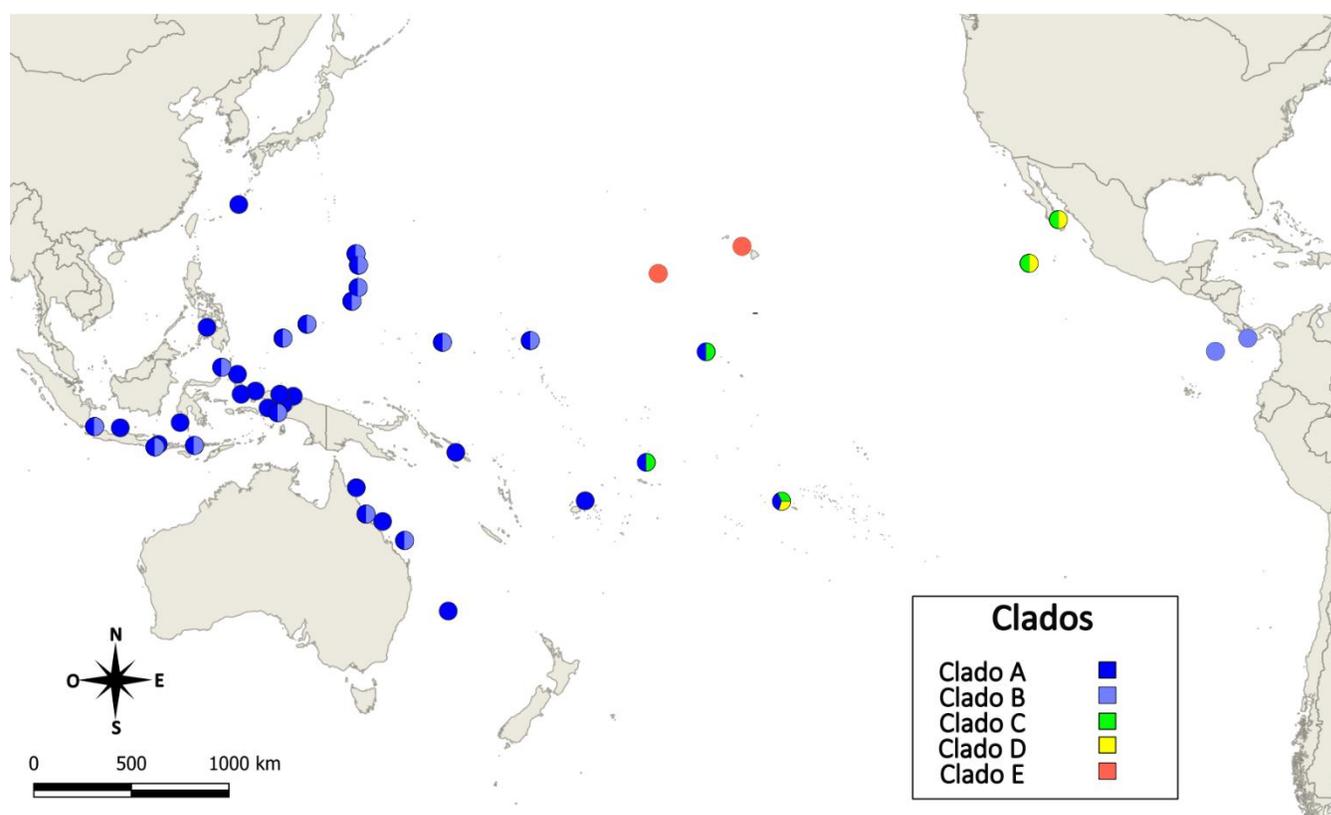


Figura 15. Mapa de la presencia de los clados de *A. cf. solaris* en el océano Pacífico.