



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS  
DEL NOROESTE, S.C.

---

---

Programa de Estudios de Posgrado

REGISTRO DE LA ASCIDIA  
*Distaplia stylifera* KOWALEVSKY, 1874 Y SU EFECTO  
EPIBIONTE SOBRE LA POBLACIÓN DE *Atrina maura*  
(SOWERBY I, 1835) EN LA ENSENADA DE LA PAZ, BCS,  
MÉXICO

T E S I S

Que para obtener el grado de

Doctora en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales  
(Orientación Biología Marina)

P r e s e n t a

**Betzabé Berenice Moreno Dávila**

La Paz, Baja California Sur, agosto de 2022

## ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 14:00 horas del día 18 del mes de agosto del 2022, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

**Registro de la ascidia *Distaplia stylifera* Kowalevsky, 1874 y su efecto epibionte sobre la población de *Atrina maura* (Sowerby I, 1835) en la Ensenada de La Paz, BCS, México**




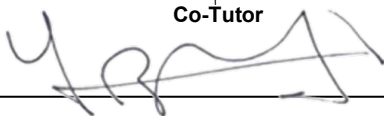


Presentada por el alumno:

**Betzabé Berenice Moreno Dávila**

Aspirante al Grado de DOCTOR EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Biología Marina

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

### LA COMISIÓN REVISORA

 _____ Dr. Leonardo Huato Soberanis Director de Tesis	 _____ Dr. Carlos Sánchez Ortiz Co-Tutor
 _____ Dra. Teresa Alcoverro Pedrola Co-Tutor	 _____ Dr. Eduardo Balart Páez Co-Tutor
 _____ Dr. Jaime Gómez Gutiérrez Co-Tutor	
 _____ Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro, Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos	

La Paz, Baja California Sur, a 22 de agosto de 2022.

Los miembros del comité de tesis del (la) estudiante Betzabé Berenice Moreno Dávila del Programa de Doctorado Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales (Orientación Biología Marina), revisamos el contenido de la tesis y otorgamos el Vo.Bo. dado que la tesis no representa un plagio de otro documento como lo muestra el reporte de similitud realizado:

- Herramienta antiplagio: iThenticate
- Filtros utilizados:  
Citas excluidas  
Bibliografía excluida
- Porcentajes de similitud: 5%  
Máximo 20% para tesis Posgrado  
Se muestra captura de pantalla

		Citas excluidas	5%
		Bibliografía excluida	
<b>Resumen de Coincidencias</b>			
1	Crossref Betzabé Moreno Dávila, Jaime Gómez-Gutiérrez, Teresa A. Kovner, Silvia Ramírez-Luna et al. "Mass mortality of pen"	150 palabras Copiado el 17-Jul-2021	1%
2	Internet tesis.ipn.mx	147 palabras Copiado el 29-May-2020	1%
3	Internet revistas.lap.ac.pa	93 palabras Copiado el 29-May-2020	1%
4	Internet es.slideshare.net	89 palabras Copiado el 09-Abr-2022	1%
5	Internet docplayer.es	62 palabras Copiado el 29-May-2020	<1%
6	Internet scielo.com.uy	55 palabras Copiado el 29-May-2020	<1%
7	Internet es.scribd.com	37 palabras Copiado el 25-Jul-2016	<1%
8	Internet www.researchgate.net	35 palabras Copiado el 04-Jun-2015	<1%
9	Internet core.ac.uk	34 palabras Copiado el 24-Ago-2021	<1%
10	Internet www.consebo.gob.mx	31 palabras Copiado el 23-Jun-2013	<1%
11	Internet repositorio.upi.edu.pe	24 palabras Copiado el 19-Jul-2022	<1%
12	Internet scielo.sa.cr	23 palabras Copiado el 29-Mar-2003	<1%
13	Internet pt.slideshare.net	22 palabras Copiado el 01-May-2021	<1%
14	Crossref G. Cerdaneros-Ladron de Guevara, E. Morales-Bajonquet, S. Ramos-Camilo, G. Gonzalez-Medina. "Variation in resist"	21 palabras Copiado el 19-Jun-2021	<1%
15	Internet diaricoficial.gob.mx	19 palabras Copiado el 16-Jun-2021	<1%
16	Internet rdu.unc.edu.ar	18 palabras Copiado el 16-Jul-2020	<1%
17	Internet docs.wixstatic.com	17 palabras Copiado el 08-Abr-2022	<1%

## Firmas del comité



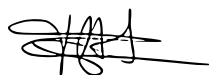
Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Director de Tesis



Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez  
Co-Tutor de Tesis



Dr. Carlos Sánchez Ortiz  
Co-Tutor de Tesis



Dra. Teresa Alcoverro Pedrola  
Co-Tutor de Tesis



Dr. Eduardo Francisco Balart Páez  
Co-Tutor de Tesis

## **Conformación de Comités**

### **Comité Tutorial**

Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Director de Tesis

Dr. Jaime Gómez Gutiérrez  
Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional  
Co-Tutor de Tesis

Dr. Carlos Sánchez Ortiz  
Universidad Autónoma de Baja California Sur  
Co-Tutor de Tesis

Dra. Teresa Alcoverro Pedrola  
Centro de Estudios Avanzados de Blanes  
Co-Tutora de Tesis

Dr. Eduardo Francisco Balart Páez  
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.  
Co-Tutor de Tesis

### **Comité Revisor de Tesis**

Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez  
Dr. Carlos Sánchez Ortiz  
Dra. Teresa Alcoverro Pedrola  
Dr. Eduardo Francisco Balart Páez

### **Jurado de Examen**

Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Dr. Jaime Gómez-Gutiérrez  
Dr. Carlos Sánchez Ortiz  
Dra. Teresa Alcoverro Pedrola  
Dr. Eduardo Francisco Balart Páez

### **Suplentes**

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez  
Dr. Raúl Octavio Martínez Rincón

## Resumen

Este estudio presenta el análisis de un evento de mortalidad masiva en la población del hacha *Atrina maura* durante 2016 en la Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México asociado a la rápida expansión de una ascidia colonizadora del género *Distaplia*. Dicha población de hacha se encontraba en moratoria de concesión de pesca y se recuperaba rápidamente. Se realizó un estudio morfológico y genético para determinar la taxonomía de la ascidia; los análisis indican que la ascidia que se encuentra en la Ensenada de La Paz morfológicamente coincide con organismos descritos para el Indo-Pacífico y Caribe descrita como *Distaplia stylifera*. Se discute la problemática en la identificación taxonómica específica de esta ascidia asociada a la incertidumbre inherente a los criterios de diagnóstico morfológicos originales y a un genoma mitocondrial *Cox1* inusualmente divergente registrado en las especies del género *Distaplia*. Para analizar el evento de mortalidad se utilizaron censos anuales de otoño en 2015, 2016 y 2017 (noviembre-diciembre) y un censo adicional de verano en 2016 (junio) que indicaron bajas densidades del tunicado y presencia en escasos sitios de muestreo durante 2015 así como una rápida expansión a lo largo de los bancos de las hachas en 2016. Las mortalidades masivas de *A. maura* detectadas en 2016 y 2017 resultaron en una gran pérdida económica para los pescadores. Un modelo aditivo generalizado (GAM) indicó que el sustrato provisto por *A. maura* fue el único factor significativo asociado a la rápida expansión (medida como la proporción de cobertura) de *D. stylifera*. Paradójicamente, el éxito de la recuperación en la población de *A. maura* aumentó la disponibilidad de sustrato para el epibionte tunicado, lo que facilitó un proceso de colonización abrupto y rápido en los bancos de hachas. Esto resultó en eventos de mortalidad masiva de *A. maura* en 2016 y 2017. El modelo predice que los efectos de mortalidad en hachas asociados a la cobertura de *D. stylifera* comienzan a ocurrir cuando la densidad de *A. maura* es  $>47$  inds./250 m<sup>2</sup>. Un segundo GAM demostró que el principal impulsor de la mortalidad de *A. maura* fue cuando la cobertura de ascidias fue  $>8\%$ . La salinidad  $>37.3$  PSU, SST  $<26.9$  °C y OD  $>5.06$  mg O<sub>2</sub>/L fueron factores impulsores secundarios. La cosecha temprana de *A. maura*, orientada a disminuir la disponibilidad de sustrato, ante los primeros signos de crecimiento de la población de *D. stylifera* puede evitar pérdidas económicas significativas de *A. maura* en el futuro.

**Palabras clave:** bivalvo, Golfo de California, hacha china, mortalidad masiva, secuenciación molecular.

ORCID: 0000-0002-1149-5761

Vo.Bo.



---

Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Director de Tesis

## Summary

This study presents the analysis of a massive mortality event of pen shell *Atrina maura* during 2016 in the Ensenada de La Paz, BCS, Mexico associated with the rapid expansion of colonizing ascidian of the genus *Distaplia*. This pen shell population was in a fishing concession moratorium and was rapidly recovering. A morphological and genetic study was carried out to determine the taxonomy of the sea squirt; the analyzes indicate that the sea squirt found in Ensenada de La Paz morphologically fit with organisms described for the Indo-Pacific and Caribbean as *Distaplia stylifera*. The problem in the specific taxonomic identification of this ascidian associated with the uncertainty inherent in the original morphological diagnostic description criteria, an unusually divergent *Cox1* mitochondrial genome observed in species of the genus *Distaplia*. To explain the mass mortality event in a restored population of *A. maura*. Annual fall censuses in 2015, 2016 and 2017 (Nov-Dec) and an additional summer census in 2016 (Jun) showed that tunicate was first observed at low densities at few sampling sites during 2015 and expanded rapidly along pen shells banks in 2016. Manual removal of tunicates in two small areas during Sep-Nov 2016 and Jan-Mar 2017 had negligible positive effect in pen shell population. The massive mortalities of *A. maura* detected in 2016 and 2017 resulted in a great economic loss for regional fishers. A generalized additive model (GAM) indicated that the substrate provided by *A. maura* was the only significant factor associated with the rapid expansion (measured as the proportion coverage) of *D. stylifera*. Paradoxically, successful recovery in *A. maura* population increased substrate availability for the tunicate epibiont, which facilitated an abrupt and rapid colonization process in pen shells banks, resulting in mass mortality events of *A. maura* in 2016 and 2017. The model predicts that the coverage effects of *D. stylifera* begin to occur when the density of *A. maura* is  $>47$  inds./250 m<sup>2</sup>. A second GAM showed that the main driver of *A. maura* mortality was ascidian coverage when it is  $>8\%$ . Salinity  $>37.3$  PSU, SST  $<26.9$  °C and DO  $>5.06$  mg O<sub>2</sub>/L were secondary driving factors. The early harvest of *A. maura*, aimed at reducing the availability of substrate, at the first signs of growth of the population of *D. stylifera* can avoid significant economic losses of *A. maura* in the future.

**Keywords:** bivalve, Gulf of California, pen shell, mass mortality, molecular sequencing.

**ORCID:** 0000-0002-1149-5761

Vo.Bo.



---

Dr. Leonardo Huato Soberanis  
Director de Tesis

**Dedicatoria**

*A mi familia... porque mi corazón está  
dividido entre cada uno de ellos*

## Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada de Doctorado (#263861) con la cual realicé mis estudios de Doctorado en el Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR). Así como al personal del Departamento de Posgrado: la Dra. Gracia Gómez Anduro, Lic. Osvelia Ibarra Morales, Tania Núñez Valdez y al Ing. Horacio Sandoval Gómez por su asesoría y tiempo brindado.

A los miembros del Comité Tutorial: Dr. Leonardo Huato Soberanis, Dra. Teresa Alcoverro (Centro de Estudios Avanzados de Blanes, España), Dr. Carlos Armando Sánchez Ortiz (UABCS), Dr. Eduardo F. Balart Páez y Dr. Jaime Gómez Gutiérrez (CICIMAR-IPN). Agradezco profundamente las críticas y los comentarios proporcionados por los miembros del comité de tesis de doctorado que ayudaron a para mejorar la claridad, fluidez, precisión y legibilidad de la presente tesis de Doctorado.

También agradezco a Noroeste Sustentable A.C. (NOS), particularmente a la Dra. Silvia Ramírez-Luna, por brindarnos acceso a su base de datos y a todos los pescadores del Manglito que forman parte de la Organización de Pescadores al Rescate de la Ensenada (OPRE), por el intenso trabajo de los censos anuales de densidad y cobertura del área de *Atrina maura* y *Distaplia stylifera* durante 2011–2017.

Agradezco inmensamente a la Dra. Rosana M. Rocha (Universidade de Federal do Paraná, Brasil) por su apoyo y comentarios en el proceso de identificación taxonómica de la ascidia, así como, sus valiosos comentarios. De igual manera al Dr. Xavier Turon (Centro de Estudios Avanzados de Blanes, España), por sus comentarios y críticas en los detalles de la identificación de la ascidia, y parte del proceso en el análisis molecular. Agradezco infinitamente a la Dra. Carolina Galván Tirado (UABCS) por su tiempo y apoyo brindado en los análisis moleculares de las ascidias.



## Contenido

<b>Resumen</b> .....	i
<b>Summary</b> .....	ii
<b>Dedicatoria</b> .....	iii
<b>Agradecimientos</b> .....	iv
<b>Contenido</b> .....	v
<b>Lista de figuras</b> .....	vii
<b>Lista de tablas</b> .....	x
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	5
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	13
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	14
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	15
5.1 Objetivo general.....	15
5.2 Objetivos particulares .....	15
<b>6. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	16
6.1. Área de estudio .....	16
6.2. Identificación taxonómica de la ascidia .....	16
6.2.1. Identificación morfológica .....	17
6.2.2. Identificación molecular.....	17
6.3. Monitoreo espacial de <i>Atrina maura</i> y la ascidia <i>Distaplia</i> cf. <i>stylifera</i> .....	18
6.4. Variables ambientales obtenidas por satélite Landsat 8 OLI/TIRS C1 Level-1.....	21
6.4.1. Procesamiento de imágenes del satélite Operational Land Imager (OLI) .....	22
6.4.2. Procesamiento de imágenes del sensor Thermal Infrared Sensor (TIRS).....	23
6.4.3. Obtención de valores ambientales para la Ensenada de La Paz .....	24
6.5. GAM para explorar el efecto de la disponibilidad de sustrato y las variables ambientales en la proporción de cobertura de <i>Distaplia</i> cf. <i>stylifera</i> .....	24
6.6. GAM para explorar los efectos de la proporción de cobertura de <i>Distaplia</i> cf. <i>stylifera</i> y variables ambientales sobre la mortalidad de <i>Atrina maura</i> .....	26
6.7. Efectos en la población de <i>Atrina maura</i> a consecuencia de la invasión de <i>Distaplia</i> cf. <i>stylifera</i> .....	26
<b>7. RESULTADOS</b> .....	29
7.1. Identificación taxonómica de la ascidia encontrada en la Ensenada de La Paz .....	29
7.1.1. Identificación morfológica .....	29
7.1.2. Identificación molecular.....	34
7.2. Cobertura relativa de <i>Distaplia stylifera</i> durante 2015 a 2017.....	39
7.3. Densidad de <i>Atrina maura</i> muerta y viva durante 2015 a 2017.....	43
7.4. Series de tiempo de variables ambientales obtenidas de Landsat 8 2013 a 2018 .....	47
7.5. Cobertura de <i>Distaplia stylifera</i> asociada con la densidad de <i>Atrina maura</i> y las condiciones ambientales durante el verano de 2016 .....	50
7.6. Densidad de <i>Atrina maura</i> relacionada con la cobertura de <i>Distaplia stylifera</i> durante el verano de 2016.....	51
7.7. Efecto que tuvo la población de <i>Atrina maura</i> a consecuencia de la invasión de <i>Distaplia stylifera</i> .....	54

<b>8. DISCUSIÓN</b> .....	58
<b>9 CONCLUSIONES</b> .....	65
9.1 Perspectivas .....	65
<b>10 LITERATURA CITADA</b> .....	67
<b>11. ANEXOS</b> .....	77
Anexo A. Lista de secuencias disponibles .....	77
Anexo B. Distancias estimadas entre haplotipos del género <i>Distaplia</i> .....	78
Anexo C. Artículo publicado en Estuarine Coastal of Marine Sciece .....	81
Anexo D. Artículo Sometido a Zookeys .....	114

## Lista de figuras

- Figura 1.** A-B) *Atrina maura* invadida por epibiosis de *D. cf. stylifera*; C) tapetes de *D. cf. stylifera*, cubriendo un banco de hachas durante 2016 en Ensenada de La Paz, BCS, México. ....4
- Figura 2.** A) Concha de *Atrina maura*; B) Anatomía interna de *A. maura* (imagen tomada y editada de Coronel, 1981). .....8
- Figura 3.** Captura en peso de callo del hacha *Atrina maura*, de las tres entidades con mayor producción (Tomada de Diario Oficial de la Federación, 2018). .....10
- Figura 4.** Modelo de crecimiento poblacional. — = Proyección de crecimiento de tamaño poblacional • = Valores estimados de la población a partir de los monitoreos no extractivos que se han realizado con los pescadores de OPRE (NOS, 2015). .....11
- Figura 5.** Zona sombreada es el área de concesión a OPRE para la pesca y zona azul: bancos naturales de hachas en La Ensenada de La Paz. ....12
- Figura 6.** A) Bahía y Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. B) Ambos cuerpos de agua están ubicados en la costa suroeste del Golfo de California, México. C) Área de concesión a pescadores para la protección y eventual aprovechamiento de *Atrina maura* que muestra siete muelles cercanos en la ciudad de La Paz, que podrían ser fuentes potenciales de dispersión de tunicados [FONATUR (Fidepaz) (24 ° 07'29 "N, -110 ° 20 '47 "O), del Palmar (24 ° 09'10" N, -110 ° 19'41 "W), Abaroa (24 ° 09'15" N, -110 ° 19'39 "W), La Paz ( 24 ° 09'21 "N, -110 ° 19'35" W), Cortéz (24 ° 09'21 "N, -110 ° 19'27" W), Palmira (24 ° 10'58 "N, -110 ° 18'09 "W) y Costa Baja (24 ° 13'07" N, -110 ° 18'12 "W)]. D) Representación del método de muestreo de 2015 a 2017 para estimar la densidad de *A. maura* y área de cobertura de *Distaplia cf. stylifera* (modificado de NOS, 2015). Los rectángulos muestran las áreas de eliminación de tunicados durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017. ....20
- Figura 7.** *Distaplia stylifera*; A) colonia anaranjada en vivo; B) colonia morada en vivo; C) colonia con típica forma de hongo; D) Colonia con tallos ramificados de manera que diferentes cabezas provienen de la misma base. Escalas: A, B = 1 cm; C, D = 0.25 cm; E = 1 mm. ....36
- Figura 8.** *Distaplia stylifera*; A) zooide (tórax y abdomen); B, C) tórax; D, E) estómago; F) gónadas; G) dos vesículas sensoriales pigmentadas; H) larva) colonia con tallos ramificados de manera que diferentes "cabezas" provienen de la misma base. Escalas: A = 1 cm; B, C = 0.5 mm; D = 0.25 mm. ....37
- Figura 9.** *Distaplia stylifera*; A) zooide (tórax y abdomen); B) abdomen; C) larva. Escalas: A = 1 cm; B, C = 0.5 mm; D = 0.25 mm. Abreviaturas: a. ano; am. ampollas ectodermales; ap. papilas adhesivas; oc. ocelo; o. oocito; pv. vasos parastigmáticos; pg. glándula pilórica; sc. estatocisto; sg. estigmas; st. estómago; t. folículos masculinos. ....38
- Figura 10.** Sitios de registros previos de *Distaplia stylifera*: 1) Kowalevsky 1874 (localidad tipo); Océano Atlántico. 2) Van Name 1921; 1945. 3) Monniot y Monniot 1984. 4) Cole y Lambert 2009. 5) Rocha *et al.*, 2010. 6) Villalobos *et al.*, 2017. 7) Rocha *et al.*, 2011. 8) Streit *et al.*, 2021. 9) Dias *et al.*, 2013. En el Mediterráneo. 10) Mastrototaro, 2010. Océano Indico. 11) Shenkar, 2012. Océano Indico Occidental. 12) Monniot, 2012. 13) Indonesia (Lee *et al.*, 2016). Filipinas. 14) Millar, 1975. 15) Monniot y Monniot, 2001. Australia. 16) Brewin, 1953. 17) Millar, 1963, 1966. 18) Monniot, 1988. 19) Kott, 1990; 2002). Localidad tipo en el Mar Rojo y el registro del presente estudio se muestran en rojo. ....39
- Figura 11.** A) Área de cobertura (%) observada de *Distaplia stylifera* sobre *Atrina maura*. Otoño de 2015 (2015-A), verano de 2016 (2016-S), otoño de 2016 (2016-A) y otoño de 2017 (2017-A)

- en Ensenada de La Paz, Golfo de California. B) Densidad de individuos muertos observados de *A. maura* y C) Densidad de individuos vivos observados de *A. maura*. Densidad expresada en inds./250 m<sup>2</sup>. Las flechas indican una operación de remoción de ascidias (sep-nov de 2016 y ene-feb de 2017). .....40
- Figura 12.** Distribución espacial del área de cobertura de *Distaplia stylifera* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017. ....42
- Figura 13.** Distribución espacial de la abundancia de organismos muertos (inds./250 m<sup>2</sup>) de *Atrina maura* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017. ....45
- Figura 14.** Distribución espacial de la abundancia de organismos vivos (inds./250 m<sup>2</sup>) de *Atrina maura* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017. ....46
- Figura 15.** Series de tiempo mensuales de 2013 a 2018 de parámetros ambientales estimados a partir de imágenes Landsat 8 en el área de estudio. A) Temperatura superficial del mar, B) pH, C) Concentración superficial de clorofila-*a*, D) Salinidad, E) Concentración de oxígeno disuelto. Rectángulos grises indican la ocurrencia de una onda de calor regional entre enero y agosto de 2014 y un evento de El Niño de 2015 entre enero de 2015 y febrero de 2016. Rectángulos vacíos = Períodos de eliminación de *D. stylifera* durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017; Los triángulos negros indican monitoreos; s15 = monitoreo 2015; s16S = monitoreo 2016-verano; s16A = monitoreo 2016-otoño; s17 = monitoreo 2017. ....48
- Figura 16.** Anomalías de las series de tiempo mensuales de 2013 a 2018 de parámetros ambientales estimados a partir de imágenes Landsat 8 en el área de estudio. A) Temperatura de la superficie del mar, B) pH, C) Concentración de clorofila-*a* en la superficie del mar, D) Salinidad, E) Concentración de oxígeno disuelto. Rectángulos grises indican la ocurrencia de una onda de calor regional entre enero y agosto de 2014 y un evento de El Niño de 2015 entre enero de 2015 y febrero de 2016. Rectángulos vacíos = Períodos de eliminación de *D. stylifera* durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017; Los triángulos negros indican monitoreos; s15 = monitoreo 2015; s16S = monitoreo 2016-verano; s16A = monitoreo 2016-otoño; s17 = monitoreo 2017. ....49
- Figura 17.** Modelo aditivo generalizado ajustado (línea continua) con intervalo de confianza del 95% (área gris) para el efecto de la disponibilidad del sustrato en la proporción de cobertura de *D. stylifera*. Los grados de libertad se dan en la etiqueta del eje y. El modelo ajustado fue: [(proporción de cobertura) ~ f (sustrato disponible + A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_TSM + A\_Chla)]. El eje Y está en la escala de la variable de predicción lineal. Las líneas de marca en el interior del eje X indican la presencia de valores observados de la variable predictora. ....50
- Figura 18.** Modelos aditivos generalizados ajustados (líneas continuas) con intervalos de confianza del 95% (área gris) para el efecto de la cobertura de *D. stylifera* sobre la mortalidad de *A. maura*. El modelo mejor ajustado fue [(*A. maura* muerta) ~ f (proporción de cobertura por *D. stylifera* + Valores mensuales de las variables ambientales)]. Se muestran los efectos de las variables sobre la mortalidad del hacha A) Cobertura de la ascidia; B) Salinidad; C) temperatura de la superficie del mar; y D) concentración de oxígeno disuelto. Los ejes Y están en la escala de la variable de predicción lineal. Las líneas de marca en el interior del eje X indican la presencia de valores observados de la variable predictora. Los números en la etiqueta del eje Y indican los grados de libertad. ....53
- Figura 19.** Gráficas de probabilidad de log-normalidad de Anderson-Darling (AD) con un valor de crítico (AD<sub>crítico</sub>) de 0.752 para muestras de la población de *Atrina maura* viva de la Ensenada de La Paz, durante 2015, 2016-S, 2016-A y 2017. ....54

<b>Figura 20.</b> Gráficas de probabilidad de log-normalidad de Anderson-Darling (AD) con un valor de crítico ( $AD_{crítico}$ ) de 0.752 para muestras de la población de <i>Atrina maura</i> muerta de la Ensenada de La Paz, durante 2016-S, 2016-A y 2017. ....	55
<b>Figura 21.</b> Gráficas con máximos y mínimos de la estimación poblacional de <i>Atrina maura</i> viva y muerta de la ensenada de La Paz durante 2015 a 2017. El círculo y triangulo indican la media estimada para cada caso. ....	57

## Lista de tablas

<b>Tabla I.</b> Lista de primers utilizados para amplificar el gen Cox1 de ejemplares de <i>Distaplia</i> colectados durante 2017 y 2021 en Ensenada de La Paz .....	18
<b>Tabla II.</b> Longitud de onda espectral y resolución espacial de las bandas del satélite Landsat 8.	22
<b>Tabla III.</b> Modelos de regresión múltiple utilizados para estimar variables de agua de mar: concentración de oxígeno disuelto, pH, salinidad, temperatura superficial del mar y concentración superficial de Clorofila- <i>a</i> de Landsat 8 en la Ensenada de La Paz, BCS. México (de Matus-Hernández <i>et al.</i> , 2019). .....	24
<b>Tabla IV.</b> Modelo aditivo generalizado para probar los efectos de la disponibilidad de sustrato y las variables/anomalías ambientales registradas durante 2016 sobre el porcentaje de cobertura de <i>Distaplia stylifera</i> en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México. Modelo 1: [(proporción de cobertura) ~ f (sustrato disponible + OD + pH + Sal + TSM + Chl- <i>a</i> )]. Modelo 2: [(cobertura proporcional) ~ f (sustrato disponible) + (A_OD + A_pH + A_Sal + A_TSM + A_ChI- <i>a</i> )]. A_ representan anomalías.....	51
<b>Tabla V.</b> Resumen estadístico del Modelo Aditivo Generalizado de la densidad de <i>A. maura</i> muerta y variables/anomalías ambientales registradas durante el verano de 2016 en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México. Modelo 1: [( <i>A. maura</i> muerta) ~ f (proporción de cobertura por <i>D. stylifera</i> + OD + pH + Sal + TSM + Chl- <i>a</i> )]. Modelo 2: [( <i>A. maura</i> muerta) ~ f (proporción de cobertura por <i>D. cf. stylifera</i> + A_DO + A_pH + A_Sal + A_TSM + A_ChI- <i>a</i> )]. A_ representan anomalías.....	52
<b>Tabla VI.</b> Estimación de la densidad poblacional (ind./250 m <sup>2</sup> ) para <i>Atrina maura</i> viva y muerta antes, durante y después de la invasión de <i>Distaplia stylifera</i> en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México.....	56

## 1. INTRODUCCIÓN

Las especies marinas pueden establecer diferentes tipos de relaciones entre ellas. Por ejemplo, las relaciones intraespecíficas que ocurren entre organismos de la misma especie (formación de colonias, gregarismo, etc.) o interespecíficas ocurren entre organismos de especies diferentes (depredación, simbiosis, mutualismo, comensalismo, parasitismo, competencia por el espacio, epibiosis, etc.). En todos los casos se tratan de relaciones ecológicas basadas siempre en las características evolutivas de la especie. Por ejemplo, en especies sésiles el asentamiento exitoso y la deriva y dispersión de larvas planctónica depende de factores intrínsecos o genéticos que son característicos de cada especie, y extrínsecos, que se dividen en factores abióticos y bióticos. Los factores abióticos son los factores fisicoquímicos; pueden ser físicos climáticos (temperatura, luz, humedad, pluviosidad, presión atmosférica) y físicos no climáticos (salinidad, pH, turbidez) (Stachowicz *et al.*, 2002). En cuanto a los factores bióticos; las relaciones intraespecíficas como asociaciones coloniales pueden generar ventajas en su éxito de colonización. Otro factor biótico son las relaciones interespecíficas de las cuales se distinguen: el mutualismo, amensalismo, comensalismo, parasitismo, competencia, depredación y epibiosis. La epibiosis es el fenómeno en el que un organismo (epibionte) ya sea planta (epífita) o animal (epizoo), vive sobre un sustrato vivo (basibionte). La epibiosis es una estrategia competitiva para usar el espacio disponible en ambientes marinos bentónicos, donde el espacio es recurso limitado (Wahl, 1989). Los competidores exitosos a menudo exhiben tasas de crecimiento rápido y se expanden lateralmente a lo largo de un sustrato; además, suelen crecer sobre organismos solitarios (Ricciardi *et al.*, 1995).

La epibiosis es benéfica para el epibionte al tener más sustrato en cual fijarse y crecer, así como facilidad para filtrar el alimento de la columna de agua (Gutt y Schickan, 1998). Para el basibionte, también puede ser benéfico cuando el epibionte le brinda protección y le permite mimetizarse en el fondo marino, pero usualmente es dañina para el basibionte, que generalmente sufren disminución de peso por escases de alimento (Wahl, 1989). También puede ocurrir lo conocido como “fatalidad compartida” en la cual el epibionte es atractivo para un depredador y en consecuencia el basibionte también se convierte en presa (Wahl *et al.*, 1997). La mortalidad no depredadora puede ser atribuida a la sofocación (respiración) o inanición (alimentación) del basibionte por el epibionte causando una “carga letal” al

basibionte, forzándolo a reasignar energía destinada a las funciones de crecimiento o reproductivas a compensar el crecimiento excesivo del epibionte. Aquellos basibiontes que sobreviven a la epibiosis pueden mostrar una disminución en el crecimiento somático (Wahl *et al.*, 1997; Thieltges, 2005). La reproducción del basibionte también puede verse afectada de varias formas por la epibiosis excesiva, desde la disminución de la capacidad reproductiva en adultos a la disminución de asentamiento de larvas, también puede provocar una disminución del tejido gonadal (Chan y Chan, 2005) y en la cantidad de huevos o larvas producidos durante el desove (tamaño de puesta) (Saier y Chapman, 2004).

Una notable interacción epibiotica positiva ocurre cuando la presencia de un epibionte inhibe la depredación sobre el basibionte al servir como camuflaje; como el caso de los caracoles *Tegula brunnea* (Philippi, 1849), donde aquellos cubiertos con el alga incrustante *Peyssonnelia meridionalis* Hollenberg & Abbott, 1968, son menos visibles y depredados por la estrella de mar de los géneros *Pycnopodia* Stimpson, 1862 y *Pisaster* Müller & Troschel, 1840 (Thornber, 2007).

Si la presencia del epibionte es altamente perjudicial para el basibionte, el epibionte presenta un comportamiento invasor. Las invasiones biológicas son de especial importancia, tanto por las repercusiones ecológicas y económicas. Existen diversas definiciones de especies invasoras, donde la mayoría coinciden en dos puntos (1) introducción de una especie exótica en un área nueva ya sea de manera intencional o accidental, a causa de actividades humanas, y (2) proliferación de la especie. En general, una especie invasora es una especie exótica cuya introducción y/o propagación amenaza a la diversidad biológica nativa (CBD, 2022). Cuando no es demostrable la procedencia de la especie (nativa o introducida) se consideran especies criptogénicas (Carlton, 1996).

La invasión biológica es un proceso dinámico no lineal, que una vez iniciada se va a perpetuar por sí misma. Durante el proceso de invasión se pueden distinguir diferentes fases (Blackburn *et al.*, 2011). Para que una especie exótica llegue a causar problemas ecológicos y/o económicos, en primer lugar, tiene que ser transportada fuera de su área de distribución biogeográfica natural y ser liberada lejos de ésta (Lockwood *et al.*, 2005). Asimismo, ésta debe ser capaz de formar propágulos que sean transportados a la nueva región, sobrevivir al proceso y ser capaz de establecerse y expandirse en el nuevo hábitat con una población

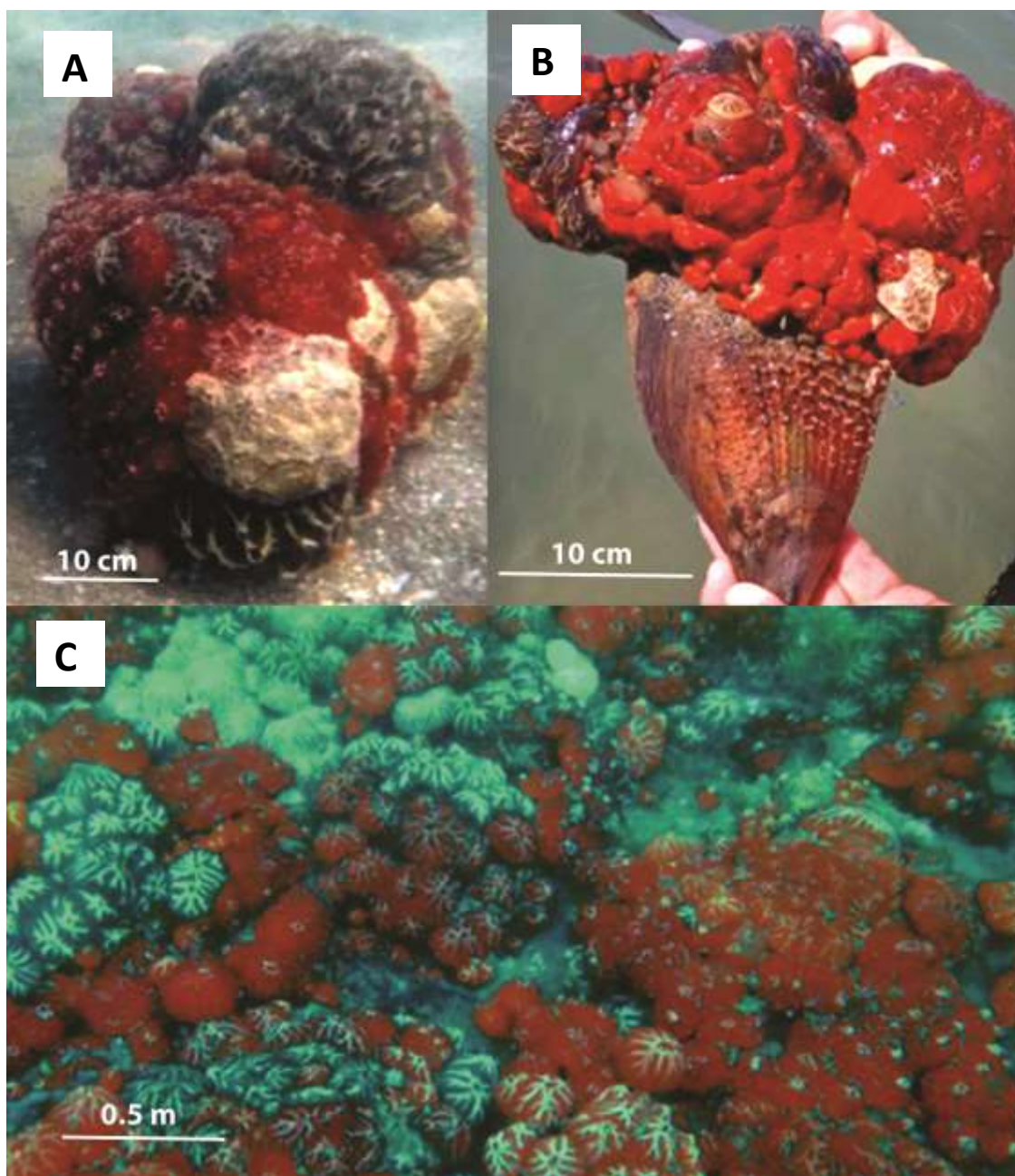


auto-sustentable. Algunas especies exóticas no causan invasiones justo después de su introducción, sino que mantienen una fase de latencia caracterizada por un crecimiento discreto mientras se adaptan a las nuevas condiciones ambientales, creciendo luego exponencialmente llegando a ser ampliamente invasivas cuando las condiciones ambientales se vuelven favorables (Crooks, 2005). Se ha encontrado que algunas especies introducidas poseen una alta diversidad genómica, indicativa de un alto potencial de adaptación al nuevo hábitat (Hudson *et al.*, 2021). Es importante comentar que no todas las especies introducidas sobreviven, ya que algunas no se adaptan al nuevo ambiente o son depredadas por las especies nativas. Si logran establecerse, la especie puede expandirse y reproducirse con éxito (Sakai *et al.*, 2001). Es posible que la especie introducida requiera de múltiples eventos de introducción para establecerse de manera definitiva (Crooks, 2005). Aquellas especies que logren establecerse con éxito interactuarán con las especies nativas, ya sea por competencia, depredación, parasitismo u otra interacción simbiótica (Torchin *et al.*, 2002).

A partir de 2015 se detectó la presencia de una ascidia que coloniza sustratos duros con facilidad con un crecimiento repentino y exponencial, con un comportamiento invasor en la Ensenada de La Paz BCS, México. Algunos de estos sustratos son organismos con concha dura, como las especies de hacha *Atrina maura* (Sowerby, 1835), *A. tuberculosa* (Sowerby, 1835) y *Pinna rugosa* Sowerby, 1835 en donde la ascidia frecuentemente cubre más del 50% de la concha; principalmente de *A. maura* la especie numericamente dominante en la ensenada (Fig. 1). Esta colonización podría disminuir el crecimiento corporal o poblacional de las especies de hacha, debilitar sus valvas, limitar considerablemente su ingesta de alimento (Rodríguez e Ibarra-Obando, 2009) y posiblemente incremente su mortalidad.

La ocurrencia de la ascidia en la Ensenada de La Paz está afectando directamente a pescadores miembros la Organización de Pescadores al Rescate de la Ensenada (OPRE) de la comunidad del Manglito, La Paz, BCS. Desde el 2011, junto con Noroeste Sustentable A.C. (NOS), iniciaron un programa de restauración natural y resiembra de hacha para repoblar la zona en donde estas poblaciones habían disminuido a consecuencia de una intensa sobreexplotación pesquera. El proceso de restauración logró resultados favorables durante el periodo 2011-2014. La estimación del tamaño poblacional en la zona de restauración (1,330 hectáreas aproximadamente) aumentó de 74,706 organismos a 1,121,749 individuos

de *A. maura*; de 24,572 organismos a 301,910 para *P. rugosa*; y de 1,303 organismos a 47,149 para *A. tuberculosa* (NOS, 2015).



**Figura 1.** A-B) *Atrina maura* invadida por epibiosis de *D. cf. stylifera*; C) tapetes de *D. cf. stylifera*, cubriendo un banco de hachas durante 2016 en Ensenada de La Paz, BCS, México.

El presente trabajo de tesis doctoral se investiga la interacción interespecífica entre *A. maura* y *D. cf. stylifera*, particularmente la función que tuvo *A. maura* como un facilitador del comportamiento invasivo de *D. cf. stylifera*, y su impacto epibiótico en la población de *A. maura* en la Ensenada de La Paz, BCS, México.

## 2. ANTECEDENTES

Actualmente, en diversas partes del mundo se ha visto la presencia de ascidias, o tunicados, invadiendo ecosistemas y ocasionando un daño o impacto notable al hábitat, llegando a desplazar a otras especies o acabando con granjas acuícolas (Lambert y Lambert, 2003; Bryon y Scavia, 2008; Lambert, 2009).

Rodríguez e Ibarra-Obando (2009) realizaron un estudio de la cobertura y colonización de organismos incrustantes sobre el ostión comercial *Crassostrea gigas* en la bahía de San Quintín Baja California, México. Ellos encontraron que la mayoría de los organismos incrustantes fueron 13 especies de ascidias de las cuales 10 especies concluyeron son especies introducidas. Al final de los 12 meses de muestreo registraron que las ascidias cubrieron un 40% del área total estudiada, y el 60% restante estuvo dividido en 7 taxas de epibiontes. Además, ellos observaron que la colonización de ascidias tuvo una correlación significativamente positiva con temperatura (Rodríguez e Ibarra-Obando, 2009).

En el Golfo de California se han registrado cinco especies exóticas de ascidias (Salgado-Barragán *et al.*, 2004; Carver *et al.*, 2006; Tovar-Hernández *et al.*, 2010; 2012). En 2004 se registró a *Styela canopus* en un manglar del Estuario de Urías, Sinaloa (Salgado-Barragán *et al.*, 2004). Otras cuatro especies (*Botrylloides violaceus*, *Botryllus schlosseri*, *Lissoclinum fragile* y *Polyclinum constellatum*) fueron registrados en puertos de Mazatlán y una granja ostionera en Topolobampo, Sinaloa (Tovar-Hernández *et al.*, 2010; 2013). *Botrylloides violaceus* y *P. constellatum* son las dos principales especies que crecen sobre ostiones; sin embargo, hasta el momento no se ha evaluado su impacto como especie invasora en México (Carver *et al.*, 2006).

A principios de los 2000 se consideraba a la acuicultura como principal vía de introducción de especies exóticas marinas (36.2%) en México (Okolodkov *et al.*, 2007). La acuicultura ha sido un vector importante debido al alto crecimiento económico de esta actividad productiva; no solo por la introducción de especies comerciales, sino también por la epibiota asociada (Naylor y Burke, 2005). Otra vía de introducción es el agua de lastre de las embarcaciones (32.6%) debido al incremento del tránsito marítimo, así como la epibiota incrustada sobre los cascos de barcos (25%) (Okolodkov *et al.*, 2007). Las bioincrustaciones

de organismos sésiles son otra vía de introducción de especies exóticas e invasoras (esponjas, cirrípedos, ascidias, etc.) que colonizan diferentes estructuras duras que se encuentran en contacto permanente con el agua de mar, como: plataformas petroleras, muelles, boyas, artes de pesca entre otros sustratos (Lambert y Lambert, 2003). Independientemente del medio de introducción, los problemas que pueden generar no sólo son ecológicos, sino también económicos por el costo que implica la limpieza de los cascos de barcos, pilares de muelle, así como las limpiezas de infraestructura asociada a la acuicultura, pesca y transporte marítimo.

Las ascidias son altamente competitivas por espacio y con un comportamiento epibionte que pueden incrementar rápidamente el tamaño de la población, al punto de inhibir la colonización de otras especies creando densas agregaciones monoespecíficas (Lamber, 2009). Las ascidias son cordados debido a la presencia de una notocorda durante su fase larval. Los organismos de la familia Holozoidae son especies hermafroditas con reproducción sexual y asexual, pudiendo reproducirse de forma alterna o simultánea (Svane y Young 1989). Esta característica biológica provee una ventaja adaptativa en comparación con otros organismos que solo se reproducen sexualmente. En los bivalvos en general, el desarrollo gonádico implica un crecimiento de la gónada, a partir de un epitelio germinal indiferenciado de origen mesodérmico, que permanece latente en el tejido conjuntivo, después de cada periodo reproductivo (Thompson *et al.*, 1996).

Las ascidias se distribuyen principalmente en sitios someros <5 m de profundidad en ambientes templados y tropicales. Se pueden encontrar en sustratos naturales (rocas, rodolitos, madera, etc.) y sustratos artificiales (pilares de muelle, trozos de pvc, boyas, etc) (Berrill, 1935).

Las ascidias del género *Distaplia* miembros de la familia Holozoidae, tienen una fecundación interna y las larvas se desarrollan en el saco peribranchial; una vez maduras las larvas son liberadas a la columna de agua permaneciendo en las corrientes de agua durante aproximadamente 1 día, posteriormente ellas tienen una metamorfosis para asentarse y formar parte del bentos marino (Berrill, 1935). En aguas templadas y subtropicales el desove de diferentes especies de ascidias se limita a los meses de verano y la mayoría tiene uno o dos picos de reproducción durante el ciclo anual (Berrill, 1935; Sabbadin, 1960). Svane y

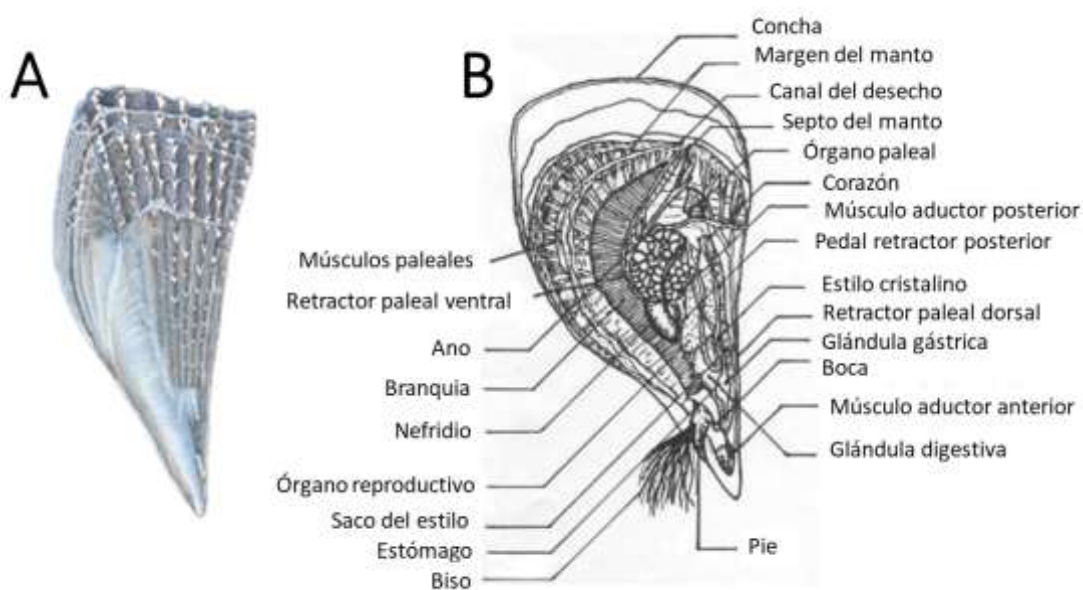
Young (1989) consideran otros factores reguladores del ciclo reproductivo como la temperatura, el fotoperíodo, las fases de la luna, las mareas y la concentración y tipo del fitoplancton.

Las ascidias son uno de los miembros dominantes en la macrofauna bentónica. Al igual que otros organismos filtradores, éstas se alimentan de seston (García-March, 2005). Las ascidias son organismos sésiles indicadores de la calidad del agua. También se consideran especies clave en la comunidad de la megafauna bentónica, ya que su pérdida de un área de conservación lleva a la pérdida de numerosas otras especies al ser alimento de diversas especies de tortugas, estrellas de mar, peces especialmente botete, pez globo, de la familia Tetraodontidae y pez loro del orden Perciformes (Ali, 2016).

Las ascidias contribuyen en gran parte en la trama trófica, actuando como almacén de metabolitos primarios y secundarios potenciales. Estos metabolitos son útiles en la industria farmacéutica para generar compuestos anticancerígenos (Erba *et al.*, 2002; Fedorov *et al.*, 2006). El caso más conocido es el de la especie *Ecteinascidia turbinata* comercializado por PharmaMar bajo el nombre de YONDELIS® forma parte del numeroso grupo de agentes alquilantes usados en quimioterapia (PharmaMar, 2018).

*Atrina maura* (Sowerby, 1835) es conocida como “hacha china” o “hacha” por la forma de la concha alargada, aplanada que se asemeja a un abanico con el borde anterior truncado. Su coloración externa es ámbar-purpúreo a marrón oscuro y tiene una superficie interna brillante del mismo color que la externa. Se han reportado tallas máximas de 45 cm, aunque comúnmente los adultos se encuentran en tallas de 20-30 cm (Fig. 2A). En *A. maura* los organismos son dioicos y al madurar, los gametos son expulsados a la columna de agua, donde los espermias fecundan a los óvulos; posteriormente las larvas lecitotróficas llevan vida planctónica por un periodo aproximado de 10 días, y después de la metamorfosis las larvas se asientan para convertirse en organismos bentónicos (Poutiers, 1995). Durante los primeros meses en el fondo marino *A. maura* tienen su fase de mayor crecimiento corporal (Ricker, 1979), en especial en esta especie, ya que durante la fase planctónica no desarrolla el órgano de sujeción llamado “biso” (Coronel, 1981), derivando su energía a la formación de concha y órganos internos. Ya como organismo bentónico forma el biso y la trama en su concha que le permite mayor sujeción al fondo del mar (Barnes, 1977).

*Atrina maura* presenta un músculo aductor posterior de gran tamaño localizado aproximadamente en la parte central de la concha, así como un músculo aductor anterior más pequeño ubicado en el vértice umbonal (Fig. 2B); existen otros dos pares de músculos que ayudan al movimiento de las valvas: los músculos retractores podales posteriores y los retractores podales anteriores, éstos, junto con el pie son los que realizan la función de excavación y motilidad del organismo. En la cavidad bisógena, en la región basal posterior del pie se encuentra el biso, que es de color marrón-dorado.



**Figura 2.** A) Concha de *Atrina maura*; B) Anatomía interna de *A. maura* (imagen tomada y editada de Coronel, 1981).

Las partes blandas de *A. maura* están ubicadas entre ambos músculos aductores y al sobrepasar esta área se encuentran los lóbulos del manto y las branquias alargadas o ctenidios, mismos que se extienden hacia la región posterior y sobrepasan el músculo aductor posterior. En esta especie no tiene sifones verdaderos, aunque la cavidad de manto está dividida por un septo que forma la cámara excurrente y la cámara incurrente (Coronel, 1981).

*Atrina maura* se distribuye naturalmente desde Baja California (incluyendo el Golfo de California), hasta el sur de Perú. Se encuentran desde el nivel de marea baja hasta unos 15 m de profundidad (Soria, 1989). Vive semi-enterrada en diferentes tipos de sustratos blandos, que pueden contener raíces de mangle, rizomas de fanerógamas, pequeñas gravas y granos de arena a los que se fijan con el biso. En fondos fangosos seleccionan partículas pequeñas

de unos pocos milímetros, a las que fijan unos pocos filamentos, multiplicando de esta forma los puntos de anclaje al sustrato (García-March, 2005).

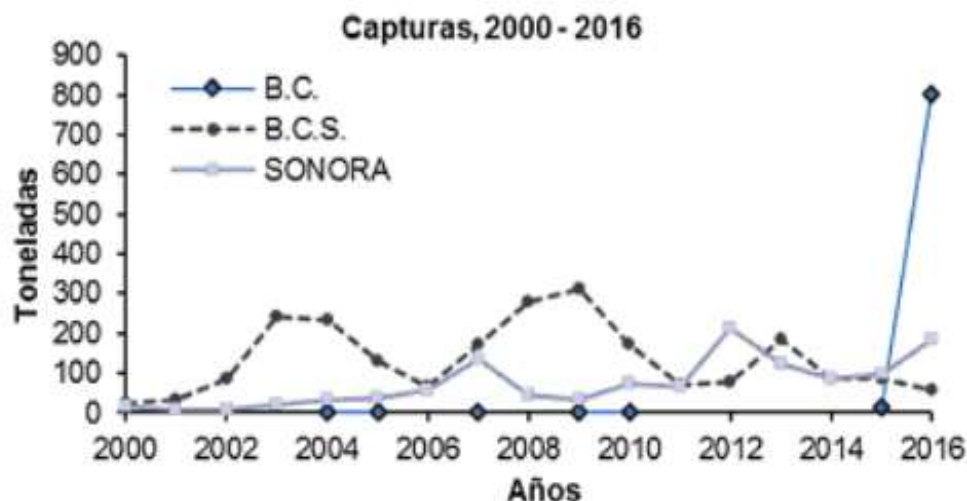
Las hachas se alimentan filtrando material particulado (seston) que se precipita en la columna de agua; picofitoplancton (<2µm), microzooplancton (Safi *et al.* 2007), siendo el fitoplancton (2-270µm) su principal fuente de nutrición. Sin embargo, el seston incluye también partículas orgánicas e inorgánicas, que componen el detrito y que contribuyen en la alimentación de los organismos filtradores (Kennedy *et al.*, 2001; García-March, 2005).

La temperatura óptima de maduración de *A. maura*, en condiciones de laboratorio es de 20 °C con una fase máxima de madurez de 30 días (Rodríguez-Jaramillo *et al.*, 2001). A esta temperatura y tiempo de inducción encontraron mayores tallas de ovocitos maduros y ausencia de ovocitos atrésicos. La temperatura óptima para el crecimiento en juveniles de 1.3-3.3 cm de longitud es de 29°C (Leyva-Valencia, 1999). En Ensenada de La Paz, el ciclo reproductivo de *A. maura* incluye tres etapas de desarrollo y un proceso de reabsorción de gametos, que están cíclicamente relacionados y conducen a dos rutas dependientes del medio ambiente, aparentemente mediados por la temperatura del mar. La temperatura del agua la Ensenada de La Paz tiene una variación estacional que vara de 21-24°C en diciembre a 25-31°C de julio a noviembre. Las hembras maduran de diciembre a julio con abundancia máxima en enero y febrero (>80%); el desove generalmente ocurre de febrero a julio y la reabsorción de gametos se produce a partir de mayo y julio (Camacho-Mondragón *et al.*, 2012). En los machos se observa el desove con diferentes grados de maduración durante todo el año y también presentan reabsorción de gametos en los mismos períodos, con un pico en noviembre (70%) (Camacho-Mondragón *et al.*, 2012).

En el noroeste de México existen más de treinta especies comestibles de bivalvos de la familia Pinnidae; sin embargo, de manera regular sólo se explotan diez de éstas (DOF, 2018) dentro de las que se encuentran las hachas: *Atrina maura*, *A. tuberculosa* y *Pinna rugosa*. Estos organismos se extraen desde la década de 1950 de manera artesanal como parte de la pesca ribereña en Baja California Sur. De acuerdo con la Carta Nacional Pesquera del 2017, la demanda del callo de hacha ha aumentado y el Estado de Baja California Sur es el estado con mayor producción de callo de hacha china produciendo el 42% de la captura total nacional de esta especie (Diario Oficial de la Federación, 2018). El hacha (*A. maura*), es la más



apreciada debido a que el músculo aductor presenta una textura más firme comparada con otras hachas y llega a pesar hasta 60 gramos. Estas características le confieren una mayor aceptación en el mercado y se cotiza hasta en \$650 pesos el kilo (NOS, 2018). En Baja California Sur la captura de hacha china presentó tendencia positiva hasta 2009 con el registro histórico de casi 400 t por año. En 2016 fue el año con menor registro de cerca de 50 t (Fig. 3) (Diario Oficial de la Federación, 2018).



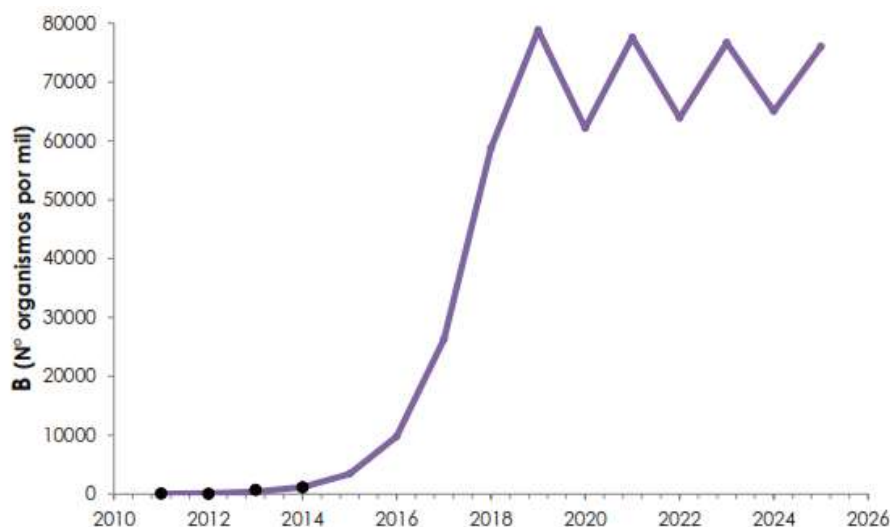
**Figura 3.** Captura en peso de callo de hacha *Atrina maura*, de las tres entidades con mayor producción (Tomada de Diario Oficial de la Federación, 2018).

La reglamentación federal estipula una talla mínima de captura de 14 cm de ancho para *A. maura*, el tiempo de veda se encuentra en proceso de investigación y la cuota de captura anual varía de acuerdo con la zona de pesca y banco, con una tasa de aprovechamiento de 20-25% del tamaño de la población mayor a la talla mínima de captura (Diario Oficial de la Federación, 2018).

En la Ensenada de La Paz existen bancos naturales de *Atrina maura*, *A. tuberculosa* y *Pinna rugosa*, los cuales fueron explotados sin ninguna regulación en las últimas décadas. Sin embargo, desde el 2011 se realizó una evaluación del valor del stock, con la finalidad de pedir una concesión de pesca a la Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca (CONAPESCA). Esta evaluación estimó una abundancia poblacional media de 100,561 organismos (juveniles de 2 cm de largo a adultos de 27 cm de largo). Para 2013, se estimó más de un millón de organismos en 176 ha (aproximadamente 200 toneladas peso vivo), cubriendo un rango de tallas desde 2 a 30 cm de largo de concha. Este incremento poblacional elevó el valor del stock local de \$401,491.20 pesos a \$4,881,014 de pesos. Para 2014, pese al paso del huracán Odile en septiembre de 2014, la población total estimada se mantuvo ligeramente arriba de



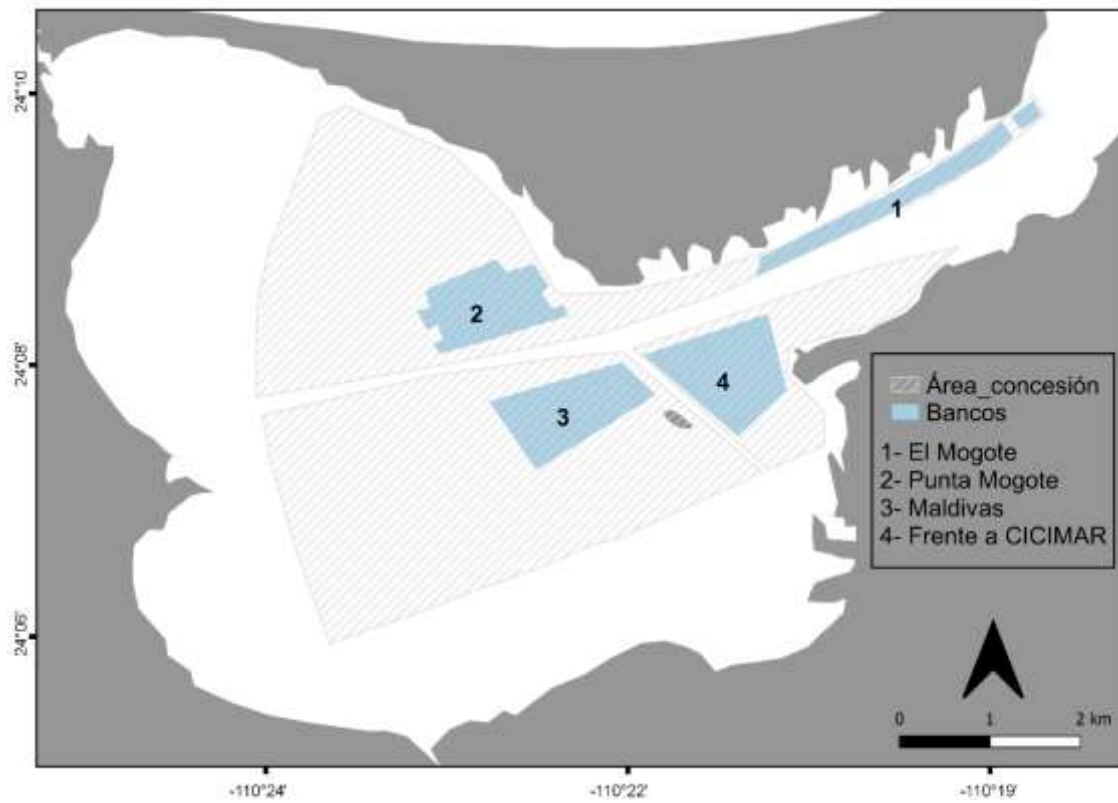
la registrada en el 2013. Con esta información, se creó un modelo de crecimiento de tamaño poblacional expresado en número de organismos, para dos de las especies más abundantes: *Atrina maura* (hacha china) y *Pinna rugosa* (hacha larga), en el cual estimaron un crecimiento exponencial (Fig. 4), enfatizando que el comportamiento del crecimiento de la población se tendría que monitorear (NOS, 2015). Sin embargo, estas estimaciones deberían tratarse con cautela debido a que no se determina los estadísticos utilizados para la obtención de este tamaño poblacional.



**Figura 4.** Modelo de crecimiento poblacional. — = Proyección de crecimiento de tamaño poblacional • = Valores estimados de la población a partir de los monitoreos no extractivos que se han realizado con los pescadores de OPRE (NOS, 2015).

Actualmente, el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA) otorgó una concesión de pesca a la cooperativa de pescadores “Organización de Pescadores Rescatando la Ensenada” (OPRE) para esta zona por 20 años, que va de julio del 2017 a julio del 2037 en un área aproximada de 24 km<sup>2</sup>, que abarca cuatro bancos principales de hachas: 1) El Mogote, 2) Punta el Mogote, 3) Malvinas y 4) y zona frente a CICIMAR (Fig. 5). La temporada de pesca estipulada para *A. maura* va de julio hasta la segunda semana de octubre (NOS, 2018).

En 2015 se observó en los bancos de la Ensenada de La Paz la presencia de una ascidia colonial (presumiblemente *Distaplia stylifera*) que requiere de un sustrato firme para llevar a cabo su desarrollo, asentada sobre las valvas de *A. maura*. En este estudio se pretende estudiar el efecto que esta ascidia ejerce sobre la población de *A. maura*.



**Figura 5.** Zona sombreada es el área de concesión a OPRE para la pesca y zona azul: bancos naturales de hachas en La Ensenada de La Paz.

### 3. JUSTIFICACIÓN

La población natural de *Atrina maura* (hacha china) representa un ingreso económicamente relevante para los pescadores de la comunidad local de El Manglito de La Paz, BCS. Ante el crecimiento repentino de la ascidia, se ha visto afectada la población de hachas en la ensenada, y por ende ha afectado económicamente a los pescadores de la comunidad. Por ello, es importante conocer los factores que pudieron favorecer este crecimiento repentino y subsecuente mortalidad masiva de la población de *A. maura*. La comprensión del proceso de cobertura de ascidias y la mortalidad del hacha ayudará a prevenir o mitigar tales eventos económicamente catastróficos en el futuro y sugerirá mejoras o estrategias alternativas para controlar las poblaciones de ascidias en los bancos de moluscos de origen natural.

En la presente tesis doctoral se investigó cuáles fueron los principales factores que favorecieron la rápida expansión de la población de ascidias en la Ensenada de la Paz. También se investigará las posibles razones detrás de un evento de mortalidad masiva en la población de *A. maura* de la Ensenada de La Paz.

#### 4. HIPÓTESIS

- 1) La especie de ascidia que causo la mortalidad masiva de *Atrina maura* es *Distaplia stylifera* inferida mediante comparación morfológica y molecular y que es una especie exótica invasora para la región de la Ensenada de La Paz.
- 2) La segunda hipótesis nula se construyó indicando que cinco variables ambientales (temperatura superficial del mar, salinidad, concentración de oxígeno disuelto, pH concentración superficial de clorofila-*a*) favorecieron el rápido crecimiento poblacional de la ascidia; la hipótesis alternativa fue que la disponibilidad de sustrato sólido, medido como densidad de *A. maura*, favoreció el rápido crecimiento de la población de ascidias en la Ensenada de La Paz, BCS, México.
- 3) La tercera hipótesis explorada se construyó indicando que el evento masivo de mortalidad de *A. maura* en la Ensenada de La Paz fue el resultado de condiciones ambientales no favorables (temperatura superficial del mar, salinidad, oxígeno disuelto, pH concentración de clorofila-*a* en la superficie del mar) a la sobrevivencia de *A. maura*; la hipótesis alternativa fue que la fijación de la ascidia sobre el hacha (medido como porcentaje del área cubierta) fue el causante directo del evento de mortalidad.

## 5. OBJETIVOS

### 5.1 Objetivo general

Analizar el efecto del asentamiento de la ascidia sobre la población de *Atrina maura* (Sowerby, 1835) en la Ensenada de la Paz, BCS, México durante los años 2015-2019.

### 5.2 Objetivos particulares

1. Identificar la ascidia que se encuentra como epibionte sobre las hachas de *Atrina maura* en la Ensenada de la Paz, BCS, México durante los años 2015-2019.
2. Determinar las posibles causas que favorecieron el crecimiento abrupto de la ascidia sobre la población de *Atrina maura* en la Ensenada de La Paz considerando cinco variables ambientales (temperatura superficial del mar, salinidad, oxígeno disuelto, pH concentración superficial de clorofila-*a*) y una biótica (disponibilidad de sustrato sólido medido como densidad de *A. maura*).
3. Identificar las causas probables asociadas con la mortalidad masiva de *Atrina maura* durante el verano de 2016 y 2017 en la Ensenada de La Paz, BCS.
4. Estimar los cambios en la densidad poblacional de *Atrina maura* antes, durante y después del evento de invasión masivo de la ascidia.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1. Área de estudio

La Bahía de La Paz, se encuentra al sureste de Baja California Sur y se localiza al sur de la Bahía de La Paz entre las latitudes 24°07' y 24°80'N y los meridianos -110°17' y -110°70'. Está limitada al sur y oeste por la península de Baja California; tiene unas dimensiones aproximadas de 80 km de largo y 35 km de ancho, separada del golfo por una península estrecha, proyectada hacia el norte y el complejo insular Espíritu Santo-La Partida. La conexión con el Golfo de California ocurre en el norte, que va de la punta norte de Isla Partida hasta punta Coyote; y del lado este mediante el Canal San Lorenzo (Fig. 6A). La bahía presenta un gradiente batimétrico con profundidades al sur entre 10-100 m, y hasta 450 m en la Cuenca Alfonso localizada en la parte norte de la bahía (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008).

La Ensenada de La Paz se encuentra separada de la Bahía de La Paz por El Mogote, una barra arenosa con una longitud de 12 km aproximadamente y una anchura variable que van entre 0.4 a 2.8 km (Cruz-Orozco *et al.*, 1989). La Ensenada presenta una superficie de 45 km<sup>2</sup> aproximadamente y con profundidad máxima de 10 m a lo largo del canal. La Ensenada de La Paz está comunicada con la Bahía de La Paz por un canal de aproximadamente 1 km de ancho y cuatro de largo (Fig. 6C). El fondo de la ensenada varía de arenoso a fangoso-limoso (Espinoza, 1977). La región presenta un clima semidesértico con lluvias principalmente en verano  $BW(h')hw(x')$ , con una evaporación anual de 215 mm, humedad relativa variada entre 60-70% y precipitación de 180 mm. La temperatura cercana al suelo varía de aproximadamente 20°C en invierno a 40°C durante la segunda mitad del verano y a principios del otoño (Obeso-Nieblas *et al.*, 2008).

### 6.2. Identificación taxonómica de la ascidia

Se realizó la identificación morfológica de las ascidias recolectados en varios sitios de la Ensenada de La Paz (2015) y en el Hotel Marea (24° 09' N, -110° 20' W) (2017). Los ejemplares fueron relajados con cristales de mentol; posteriormente, fueron fijados y preservados en formol al 5%; y finalmente se realizaron las observaciones al estereoscopio.

Para la identificación molecular se recolectaron ejemplares de las tres coloraciones presentes (anaranjado, blanco y morado), los cuales se extrajeron en la playa frente al hotel Marea (24° 09' N, -110° 20' W) (2017). Las colonias se recolectaron con una distancia >2 m entre cada una, para asegurar que no se extrajeran clones de la misma colonia. Los organismos fueron fijados en alcohol no desnaturalizado al 96%.

### **6.2.1. Identificación morfológica**

Se removió la túnica para poder extraer los zooides (30 zooides en promedio por cada colonia) y se les agregó dos gotas de hematoxilina para teñir los núcleos de las células para mejorar la observación de los caracteres internos y externos. La identificación del género se realizó utilizando la clave mundial de familias y géneros de Rocha *et al.* (2012). Para la identificación taxonómica a nivel de especie se utilizó la descripción original de (Kowalevsky, 1874) y re-descripciones posteriores de *Distaplia stylifera* (Van Name, 1945; Tokioka, 1955; Millar, 1975; Monniot, 1988; Kott, 1990; Monniot y Monniot, 2001; Kott, 2002).

### **6.2.2. Identificación molecular**

Una vez retirados los zooides de la túnica, se procedió a extraer el intestino y estómago para minimizar la contaminación molecular por alimento como fitoplancton y zooplancton. El ADN genómico del tórax y las gónadas (~0.5 cm<sup>3</sup>) se extrajo utilizando el kit Qiagen DNeasy Blood & Tissue siguiendo el protocolo del fabricante (Qiagen, Valencia, CA). Se amplificaron fragmentos del gen mitocondrial del citocromo oxidasa I (*Cox1*). Se probaron diferentes primers enumerados en la Tabla I. Se utilizó una estrategia de reacción en cadena de la polimerasa anidada (PCR) con algunos primers, siguiendo la metodología descrita en Salonna *et al.* (2021). En este caso, se realizó una primera amplificación con el par del primer dinF/Nux1R, y luego se utilizó una dilución 1:100 del producto PCR como plantilla de la segunda PCR con el par de primer cat1F/ux1R. La amplificación por PCR se realizó en un volumen de reacción total de 20 µl con 2.5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0.3 mM dNTPs, 1X buffer, 0.3 µM de cada primer y 0.16 U de ADN polimerasa Taq (Invitrogen, Inc., Carlsbad, CA). El programa de ciclos del PCR consistió en un paso inicial de desnaturalización a 95 °C durante 5 min, 35 ciclos de amplificación (desnaturalización a 95°C durante 1 min, mufla a 43°C durante 1 min y extensión a 72°C durante 1 min), y una extensión final a 72°C durante 5 min. Los productos

de PCR positivos fueron purificados y secuenciados por Macrogen Inc. en ambas bandas. Las secuencias fueron ensambladas y editadas en el software Geneious *Prime* (Kearse *et al.*, 2012). Las secuencias *Cox1* obtenidas fueron luego comparadas con secuencias depositadas públicamente la base de datos GenBank usando una Herramienta Básica de Búsqueda de Alineación Local (BLAST; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (Morgulis *et al.*, 2008) para evaluar la identidad de cada secuencia.

**Tabla I.** Lista de primers utilizados para amplificar el gen *Cox1* de ejemplares de *Distaplia* colectados durante 2017 y 2021 en Ensenada de La Paz.

Primer	Secuencia (5'- 3')	Primer	Secuencia (5'- 3')	Reference
	GGTCAACAAATCATAAAGA		TAAACTTCAGGGTGACC	Folmer <i>et al.</i> ,
LCO1490	TATTGG	HCO2198	AAAAAATCA	1994
	TCGACTAATCATAAAGATA		AACTTGTATTTAAATTA	Stefaniak <i>et</i>
Tun-F	TTAG	Tun-R2	CGATC	<i>al.</i> , 2009
	CGTTGRTTATRTCTACWA		GCA GTA AAA TAW	Brunetti <i>et al.</i> ,
dinF	ATCATAARGA	Nux1R	GCT CGR GAR TC	2017
	ATRTCTACWAATCATAARG			Salona <i>et al.</i> ,
cat1F	ATATTRG			2021
	ATAAGCTCGWGAATCHAC			Iannelli <i>et al.</i> ,
ux1R	ATC			2007
	TCIACWAAYCATAAAGATA		TAMACYTCWGGRTGICY	Xavier Turón
XT-F	TTRG	XT-R	RAARAAAYCA	(unpublished)

### 6.3. Monitoreo espacial de *Atrina maura* y la ascidia *Distaplia cf. stylifera*

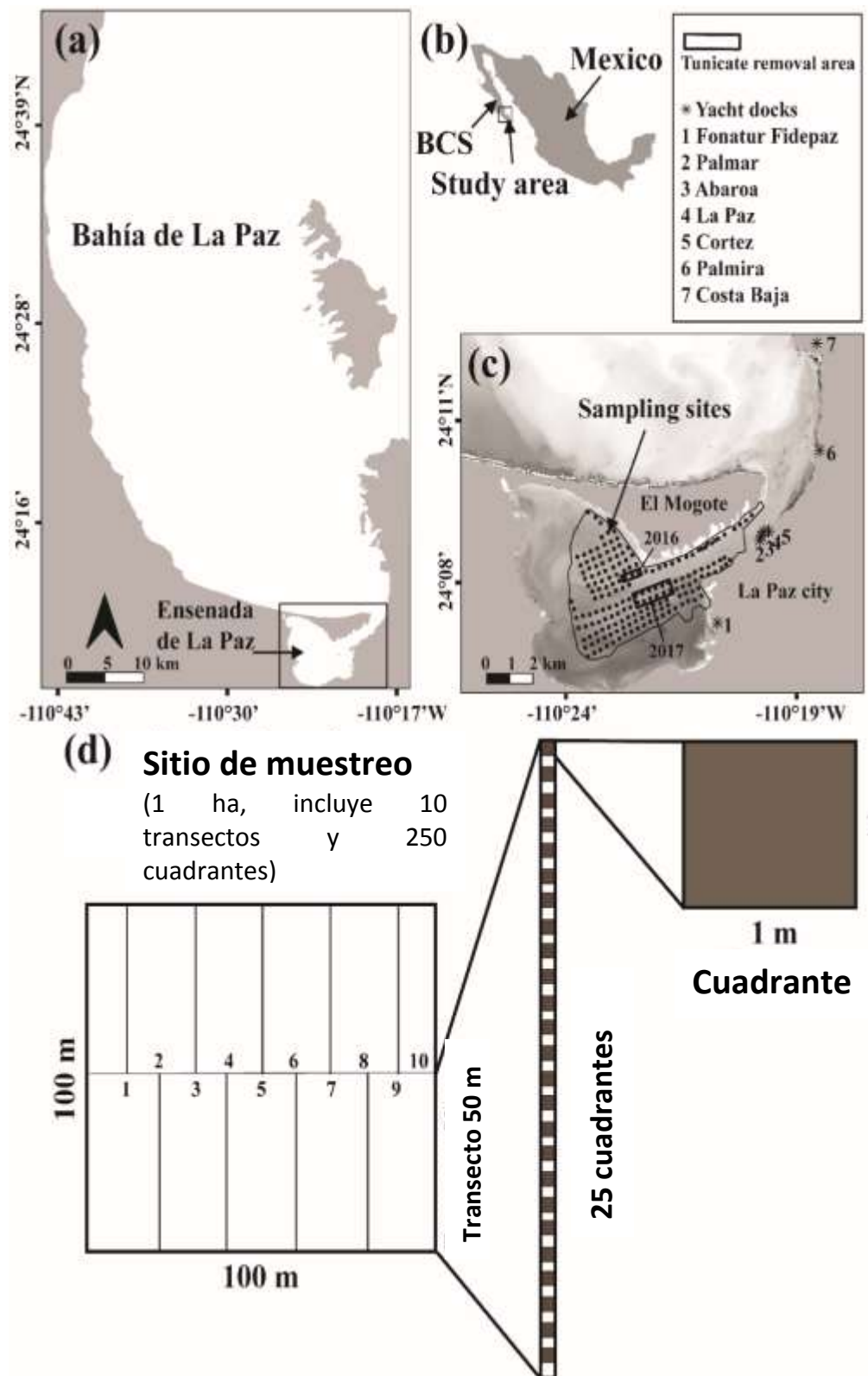
Para determinar la abundancia y estructura de cada una de las especies de interés, se contó con una base de datos proporcionada por Noroeste Sustentable A.C. (NOS, <http://www.nos.org.mx/wp/>) y la Organización de Pescadores al Rescate de la Ensenada (OPRE, <http://www.nos.org.mx/wp/restauracion-de-recursos-pesqueros/>). Ellos realizaron monitoreos anuales durante Nov-Dic (otoño) de 2015, 2016 y 2017 en la zona intermareal. Se realizaron monitoreos piloto durante Nov-Dic de 2012, 2013 y 2014, pero el tamaño de muestra fue considerablemente menor (datos no utilizados en este trabajo) pero fueron suficientes para inferir la ausencia de *Distaplia cf. stylifera*. La presencia de *D. cf. stylifera* se



detectó por primera vez en junio (verano) de 2015, y se realizó un monitoreo especial para evaluar el estado de los bancos de hacha *A. maura*.

La abundancia de *A. maura* y cobertura de *D. cf. stylifera* se registraron en 180 sitios de muestreo en 2015, 96 sitios en el verano de 2016, 173 sitios en otoño de 2016 y 166 sitios de muestreo en otoño de 2017 dentro de una malla común (Fig. 6c). Cada sitio de muestreo cubre 10,000 m<sup>2</sup> y el muestreo se realizó de la siguiente manera: Se trazó una línea de 100 metros que dividió el sitio en dos porciones iguales; de esta línea se tendieron diez transectos perpendiculares de 50 m de largo alternando lados (Fig. 6d). A lo largo de cada transecto, se realizaron 25 cuadrantes de 1 m<sup>2</sup> para contar los individuos de *A. maura* vivos/muertos y el área de cobertura (%) de *D. cf. stylifera* resultando en 250 observaciones por sitio de muestreo (Fig. 6d). La densidad de *A. maura* por sitio de muestreo se estimó como la suma de todas las hachas encontradas en los 250 cuadrantes y se representa como inds./250 m<sup>2</sup>. El área de cobertura de *D. cf. stylifera* se estimó como el promedio de la proporción de individuos de hachas cubiertas dentro del sitio de muestreo.

Durante los monitoreos se detectaron zonas donde la cobertura de ascidia era tan alta que formaba tapetes extensos sobre los bancos *A. maura*. Debido a esto y que podría verse afectado el recurso pesquero (callo de hacha) una vez realizados los conteos en algunas de estas zonas, se removió la ascidia que se encontraba sobre las valvas de *A. maura*. La remoción de las ascidias se llevó a cabo manualmente en un área de 0.165 km<sup>2</sup> durante Sep-Nov de 2016 (que incluyó tres sitios de muestreo y se eliminaron 34.7 t de ascidias) y en 0.708 km<sup>2</sup> durante ene-mar de 2017 (incluidos 12 sitios de muestreo y removió 142.3 t de ascidias). La cobertura considerablemente alta de *D. cf. stylifera* (> 60%) en un sitio de muestreo probablemente resultó en una subestimación de la densidad de *A. maura* viva y muerta en ese sitio durante la prospección de verano de 2016. Los bancos hachas fueron protegidos con una política de no extracción durante el período estudiado (2012 a 2017).



**Figura 6.** A) Bahía y Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. B) Ambos cuerpos de agua están ubicados en la costa suroeste del Golfo de California, México. C) Área de concesión a pescadores para la protección y eventual aprovechamiento de *Atrina maura* que muestra siete muelles cercanos en la ciudad de La Paz, que podrían ser fuentes potenciales de dispersión de tunicados [FONATUR (Fidepaz) (24 ° 07'29 "N, -110 ° 20 '47 "O), del Palmar (24 ° 09'10" N, -110 ° 19'41 "W), Abaroa (24 ° 09'15" N, -110 ° 19'39 "W), La Paz ( 24 ° 09'21 "N, -110 ° 19'35" W), Cortéz (24 ° 09'21 "N, -110 ° 19'27" W), Palmira (24 ° 10'58 "N, -110 ° 18'09 "W) y Costa Baja (24 ° 13'07" N, -110 ° 18'12 "W)]. D) Representación del método de

muestreo de 2015 a 2017 para estimar la densidad de *A. maura* y área de cobertura de *Distaplia cf. stylifera* (modificado de NOS, 2015). Los rectángulos muestran las áreas de eliminación de tunicados durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017.

#### **6.4. Variables ambientales obtenidas por satélite Landsat 8 OLI/TIRS C1 Level-1**

Las cinco variables ambientales concentración de oxígeno disuelto (OD), pH, salinidad superficial del mar (Sal), temperatura superficial del mar (SST) y concentración superficial de clorofila-*a* (Chl-*a*) fueron obtenidas de la plataforma US Geological Survey (USGS, <https://www.usgs.gov>) utilizando el satélite Landsat 8 OLI/TIRS C1 Level-1. Las imágenes se tomaron desde el 12 mayo del 2013 al 4 de diciembre del 2018 en la escena LC08\_L1TP\_034043; en total se utilizaron 98 imágenes. Las imágenes Landsat 8–level 1, consisten en una serie cuantificada, calibrada y escalada de niveles digitales (ND) que representan los datos de una imagen multispectral adquirida por dos sensores: 1) Operational Land Imager (OLI) con nueve bandas espectrales (todas las bandas tienen una resolución espacial de 30 m, excepto la banda pancromática 8 con una resolución espacial de 15 m); y 2) Thermal Infrared Sensor (TIRS) con dos bandas espectrales (bandas 10 y 11 con resolución espacial de 100 m) (Tabla II). Los datos de las bandas del sensor TIRS y OLI están derivados en 16 bits en formato no cifrado y pueden ser convertidos a los valores de reflectancia y radiancia en el techo de la atmosfera (TOA) mediante ecuaciones provistas en el manual de USGS (2018) y usando los coeficientes de escala de reflectancia proporcionados en el archivo de metadatos (txt). Las imágenes fueron procesadas con el software QGIS Desktop versión 3.18.1, en donde también se realizó un corte a la escena para abarcar únicamente el área de estudio.

**Tabla II.** Longitud de onda espectral y resolución espacial de las bandas del satélite Landsat 8.

Banda	Longitud de onda ( $\mu\text{m}$ )	Resolución espacial (m)
B01 (Costero)	0.4350-0.451	30
B02 (Azul)	0.452-0.512	30
B03 (Verde)	0.533-0.590	30
B04 (Rojo)	0.636-0.673	30
B05 (Infrarrojo cercano)	0.851-0.879	30
B06 (SWIR-1)	1.566-1.651	30
B07 (SWIR-2)	2.107-2.294	30
B08 (Pancromático)	0.503-0.676	15
B09 (nubes)	1.363-1.384	30
B10 (TIR-1)	10.60-11.19	30
B11 (TIR-2)	11.50-12.51	30

#### 6.4.1. Procesamiento de imágenes del satélite Operational Land Imager (OLI)

Para el tratamiento de las imágenes fue necesario convertir los valores iniciales a valores de reflectancia en el techo de la atmosfera (TOA) para cada banda (banda 1-9) y aplicar los datos en la siguiente ecuación (Zanter, 2018):

$$p\lambda' = M_p * Q_{cal} + A \quad (1)$$

Donde:

$p\lambda'$  = Valor de reflectancia planetaria en el techo de la atmosfera (TOA) sin corrección por ángulo solar.

$M_p$  = Factor de escala multiplicativa de reflectancia para la banda  $n$ , donde  $n$  es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

$A_p$  = Factor de escala aditiva de reflectancia para la banda  $n$ , donde  $n$  es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

$Q_{cal}$  = Valor de pixel de nivel 1 en ND (números digitales).

Debido a que el cálculo de la reflectancia real de una cobertura captada por un sensor espacial está condicionado al comportamiento de la atmósfera, así como del ángulo de observación, es necesario realizar una corrección en TOA ( $p\lambda'$ ), mediante la siguiente ecuación (Zanter, 2018):

$$p\lambda = \frac{p\lambda'}{\cos(\theta_{sz})} = \frac{p\lambda'}{\text{sen}(\theta_{se})} \quad (2)$$

Donde:

$\rho\lambda$  = Corresponde a la reflectancia en el techo de la atmosfera, con corrección por ángulo solar.

$\Theta_{se}$  = Ángulo de elevación solar (valor obtenido de metadatos).

$\Theta_{sz}$  = Ángulo solar zenith local;  $\Theta_{sz} = 90^\circ - \Theta_{se}$ .

#### 6.4.2. Procesamiento de imágenes del sensor Thermal Infrared Sensor (TIRS)

Se utilizaron las bandas 10 y 11 de TIRS, que pueden ser convertidas de radiancia espectral a temperatura de brillo en grados Kelvin (K) para lo cual se requirió obtener la TOA para cada banda y aplicar los datos en la siguiente ecuación (Zanter, 2018):

$$L\lambda = M_L * Q_{cal} + A_L \quad (3)$$

Donde:

$L\lambda$  = Valor de radiancia espectral en el techo de la atmosfera (Watts/(m<sup>2</sup>\*sr\*μm)).

$M_L$  = Factor de escala multiplicativa de radiancia para la banda n, donde n es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

$A_L$  = Factor de escala aditiva de radiancia para la banda n, donde n es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

$Q_{cal}$  = Valor de pixel de nivel 1 en ND.

Ya obtenido el valor de la TOA( $L\lambda$ ), se utilizó la siguiente ecuación (Zanter, 2018):

$$T = \frac{K_2}{\ln\left(\frac{K_1}{L\lambda} + 1\right)} \quad (4)$$

Donde:

T = Temperatura de brillo aparente en grados kelvin (K).

$L\lambda$  = Corresponde a la radiancia en el techo de la atmosfera (Watts/(m<sup>2</sup>\*sr\*μm)).

$K_1$  = Constante de conversión K1 específica para cada banda n, donde n es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

$K_2$  = Constante de conversión K2 específica para cada banda n, donde n es el número de banda (valor obtenido de metadatos).

Debido a que los valores que arroja son en grados kelvin fue necesario realizar la conversión a grados Celsius (°C). Después de realizar las correcciones a las 98 imágenes y considerando

que en ocasiones solo fue posible la obtención de una imagen por mes, debido a presencia de nubosidad en algunas imágenes; se obtuvo un promedio de las imágenes obtenidas en cada mes, para así tener una imagen por mes de cada año.

### 6.4.3. Obtención de valores ambientales para la Ensenada de La Paz

Se aplicaron modelos de regresión lineal múltiple previamente calibrados en el área de estudio propuesto por Matus-Hernández *et al.* (2019) (Tabla III). Las anomalías mensuales se estimaron eliminando la tendencia de estacionalidad de la serie después de restar de cada valor mensual el promedio mensual promedio estimado para toda la serie de tiempo desde enero de 2013 hasta diciembre de 2018.

**Tabla III.** Modelos de regresión múltiple utilizados para estimar variables de agua de mar: concentración de oxígeno disuelto, pH, salinidad, temperatura superficial del mar y concentración superficial de Clorofila-*a* de Landsat 8 en la Ensenada de La Paz, BCS. México (de Matus-Hernández *et al.*, 2019).

Variable ambiental	Modelo de regresión múltiple	R <sup>2</sup>	Adj. R <sup>2</sup>
Oxígeno disuelto	$y = 8.3 - 0.4(B10) + 0.3(B11)$	0.580	0.572
pH	$y = 3.5 + 106.3(B01) - 50.1(B02) - 334.4(B01^2) + 168(B02^2) - 0.3(B10) + 0.3(B11)$	0.870	0.863
Salinidad	$y = 36.4 - 276.6(B01) + 290.6(B02) + 106.8(B04) - 101.6(B05) + 949.4(B01^2) - 1206.9(B02^2)$	0.582	0.558
Temperatura	$y = 2.1 + 3.7(B10) - 3(B11)$	0.937	0.936
Clorofila- <i>a</i>	$\log(y) = 1.2 + 81.7(B01) - 189.8(B02) + 99.8(B03) + 15.7(B05)$	0.768	0.769

### 6.5. GAM para explorar el efecto de la disponibilidad de sustrato y las variables ambientales en la proporción de cobertura de *Distaplia cf. stylifera*

Para determinar los efectos probables de la densidad del hacha sobre la cobertura de *D. cf. stylifera* y los probables efectos de la ascidia sobre la mortalidad del hacha, utilizamos modelos aditivos generalizados (GAM). Estos modelos estadísticos son una extensión no paramétrica de los modelos lineales generalizados (GLM) (Yee y Mitchell, 1991) y se ajustan a una función Spline cúbica que resume la forma de la relación entre las variables de control

y la variable de respuesta. Una función Spline cúbica es una función especial definida por partes por polinomios y tiene un factor de suavizado ( $k$ ), donde valores altos de  $k$  generan una función más suave. De esta manera, los modelos GAM no necesitan definir la forma específica de la relación entre las variables dependientes e independientes, lo cual es una característica bastante conveniente ya que rara vez se conoce la forma del modelo correcto a ajustar. Además, los GAM (al igual que los GLM) permiten la combinación de una amplia gama de tipos de datos, como datos discretos, categóricos, ordinales y continuos, normales y no normales lo que los convierte en una herramienta estadística predictiva altamente poderosa y flexible (Yee y Mitchell, 1991; Hastie y Tibshirani, 1995).

Los efectos que la densidad del hacha y/o las variables ambientales (OD, pH, Salinidad, SST y/o Chl- $a$ ) pueden haber tenido sobre la expansión (medida como cobertura) del tunicado se exploró con un GAM definido como:

$$1) [(proporción de cobertura) \sim f(\text{sustrato disponible} + OD + pH + Sal + SST + \text{Chl- } a)] \quad (5)$$

$$2) [(proporción de cobertura) \sim f(\text{sustrato disponible} + A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_SST + A\_Chl-a)] \quad (6)$$

Donde:

sustrato disponible = Densidad de *A. maura* viva + muerta en el verano de 2016

$A\_$  = anomalías de variables ambientales

Se exploró el efecto de las variables ambientales utilizando tanto los valores observados como sus anomalías y se utilizaron medidas de ajuste para determinar cuál de ellas era más significativa. En ambos casos se utilizó la familia Binomial, con la función logit como función de enlace para la variable de sustrato, y como medida de bondad de ajuste se usó el estimador de riesgo no sesgado (UBRE) proporcionado automáticamente por el modelo.

## 6.6. GAM para explorar los efectos de la proporción de cobertura de *Distaplia cf. stylifera* y variables ambientales sobre la mortalidad de *Atrina maura*

También se utilizaron GAM para determinar los efectos probables del tunicado y/o las variables ambientales (y sus anomalías) sobre la mortalidad de los callos de hacha. Se exploraron dos GAM:

$$1) [(Atrina maura \text{ muerta}) \sim f(\text{proporción de cobertura por } D. \text{ cf. } stylifera + \text{ DO} + \text{pH} + \text{Sal} + \text{SST} + \text{Chl- } a)] \quad (7)$$

$$2) [(Atrina maura \text{ muerta}) \sim f(\text{proporción de cobertura por } D. \text{ cf. } stylifera + \text{ Anomalías de } + \text{ DO} + \text{pH} + \text{Sal} + \text{SST} + \text{Chl- } a)] \quad (8)$$

Donde:

*Atrina maura* muerta = muestreo de verano de 2016 cuya densidad no tuvo ningún efecto del programa de eliminación de tunicados que comenzó en septiembre de 2016.

En estos GAM se utilizó la familia de distribución de errores de Poisson, con la función “log” como función de enlace y como medida de bondad de ajuste el valor de validación cruzada aditiva generalizada (GACV) proporcionado automáticamente por el modelo. El nivel de suavizado (k) en los 4 modelos ajustados se restringió a un valor de cuatro para evitar el sobreajuste (Wood, 2011). El modelado estadístico se realizó en el software R (R Core Team, 2020), utilizando el paquete “mgcv” (Wood, 2011).

## 6.7. Efectos en la población de *Atrina maura* a consecuencia de la invasión de *Distaplia cf. stylifera*.

Para ver el efecto de la población del hacha ante la invasión de la ascidia, se realizó el cálculo de la densidad poblacional media durante los años 2015-2017 usando el método propuesto por Aitchinson y Brown (1957) en donde se presupone que los datos se distribuyen de acuerdo con una distribución lognormal que contiene ceros (por lo que no puede aplicarse el LN a todos los valores). En este caso se usó una distribución Delta ( $\Delta$ ). Pennington (1996) maneja tres casos para la estimación insesgada de la media (c) y varianza (d) de la distribución Delta ( $\Delta$ ). Para este estudio se utilizó la condición donde  $m > 1$ . La ecuación se define como:



$$c = \begin{cases} \frac{m}{n} \exp(\bar{y}) g_m(s^2/2), & m > 1 \\ \frac{x_1}{n}, & m = 1 \\ 0, & m = 0 \end{cases} \quad (9)$$

y

$$d = \begin{cases} \frac{m}{n} \exp(2\bar{y}) \left\{ g_m(2s^2) - \left( \frac{m-1}{n-1} \right) g_m \left( \frac{m-2}{m-1} s^2 \right) \right\}, & m > 1 \\ \frac{x_1^2}{n}, & m = 1 \\ 0, & m = 0 \end{cases} \quad (10)$$

Donde:

$c$  y  $d$  son las estimaciones insesgadas de la media y la varianza de la distribución  $\Delta$ .

$n$  = número de observaciones

$m$  = número de observaciones distintos de cero

$y = \ln(x)$

$\bar{y}$  y  $s^2$  = son la media muestral y varianza de las observaciones distintos de cero

$g_m(t)$  = es una función de  $m$  y  $t$  (e.g.  $t = s^2/2$ ) como se muestra en la siguiente ecuación:

$$g_m(t) = 1 + \frac{m-1}{m} t + \sum_{j=2}^{\infty} \frac{(m-1)^{2j-1}}{m^j (m+1)(m+3) \dots (m+2j-3)} \times \frac{t^j}{j!} \quad (11)$$

La varianza mínima del estimador de la media ( $\text{var}_{est}(c)$ ) está dada por:

$$\text{var}_{est}(c) = \begin{cases} \frac{m}{n} \exp(2\bar{y}) \left\{ \frac{m}{n} g_m^2(s^2/2) - \left( \frac{m-1}{n-1} \right) g_m \left( \frac{m-2}{m-1} s^2 \right) \right\}, & m > 1 \\ \left( \frac{x_1}{n} \right)^2, & m = 1 \\ 0, & m = 0 \end{cases} \quad (12)$$

Debido que éstos son estimadores para la distribución Delta, que requiere que los datos sean lognormales, se realizaron pruebas de log-normalidad mediante el estadístico Anderson-Darling. Esta prueba es empleada para evaluar si una muestra de datos proviene de una población con una distribución específica (en este caso log-normal). Ésta prueba es una modificación de la prueba Kolmogorov-Smirnov, que mide el área entre la línea

ajustada, basada en la distribución log-normal y la función de distribución empírica que se basa en los puntos de los datos. El estadístico de Anderson-Darling es una distancia elevada al cuadrado que tiene mayor ponderación en las colas de la distribución (Jensen y Alexander, 2016).

Las hipótesis de la prueba de Anderson-Darling son:

- $H_0$ : Los datos siguen una distribución log-normal
- $H_1$ : Los datos no siguen una distribución log-normal

El estadístico de Anderson-Darling ( $A^2$ ) está dado por la siguiente ecuación.

$$A^2 = -N - S \quad (13)$$

Donde:

$N$  = número total de datos

$S$  = está dada por la *Ecuación 10*:

$$S = \sum_{i=1}^N \frac{(2i-1)}{N} [\ln F(Y_i) - \ln(1 - F(Y_{N+1-i}))] \quad (14)$$

Donde:

$N$  = número total de datos

$F$  = es la distribución acumulada de la distribución que se está evaluando

Las pruebas estadísticas se realizaron para muestras de 2015 al 2017 tanto de organismos vivos y muertos de *A. maura* utilizando un valor crítico de 0.752 que corresponde a un  $\alpha = 0.05$ . También se realizó una prueba alterna con el software Minitab® 19 (Minitab LLC, 2022).

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Identificación taxonómica de la ascidia encontrada en la Ensenada de La Paz

Se considera que los organismos revisados presentan características morfológicas propias de *Distaplia stylifera*; pero existen características morfológicas y moleculares que se consideraron importantes para determinar de manera precautoria en espera de contar con evidencia irrefutable a los ejemplares recolectados en la Ensenada de La Paz como *Distaplia* cf. *stylifera*, de la cual se realizó la redescrición interna y externa completa.

#### 7.1.1. Identificación morfológica

#### ***Distaplia stylifera* (Kowalevsky, 1874)**

Figuras 7-9

Reino Animalia

Phylum Chordata Haeckel, 1874

Subphylum Tunicata Lamarck, 1816

Clase Ascidiacea Blainville, 1824

Orden Aplousobranchia Lahille, 1886

Familia Holozoidae Berrill, 1950

Género *Distaplia* Della Valle, 1881

Especie *stylifera* (Kowalevsky, 1874)

*Didemnum stylifera*. — Kowalevsky, 1874 (descripción original)

*Didemnum stylifera*. — Kowalevsky, 1874

*Didemnum styliferum*. — Kowalevsky, 1874, 443 p., pl. 30, figs. 1-16.

*Distaplia bursata*. — Van Name, 1930, 456 p., fig. 31.

*Holozoa bursata*. — Van Name, 1921, 366-368 p. figs. 44-47

*Distaplia stylifera*. — Hartmeyer, 1919, 135 p; Michaelsen, 1930, 502p.; Van Name, 1945, 147 p., fig. 71.

**MATERIAL EXAMINADO. BBMD-DIS-001. La Paz, Ensenada de La Paz:** dos colonias (moradas) sobre valva de *Atrina maura* y tubo de PVC, 1-3 m, 03/12/2017: **BBMD-DIS-002. La Paz, Ensenada de La Paz:** dos colonias (blancas) sobre valva de *Atrina maura* y boya, 1-3 m, 03/12/2017. **BBMD-DIS-003. La Paz, Ensenada de La Paz:** tres colonias (anaranjadas)

sobre valva de *Atrina maura*, cuerda y boya, 1-3 m, 03/12/2017: **BBMD-DIS-004. La Paz, Ensenada de La Paz** tres colonias (anaranjadas) sobre muelle de madera, 0.5 m, 19/6/2021: **BBMD-DIS-005. La Paz, Ensenada de La Paz** tres colonias (moradas) sobre muelle de madera, 0.5 m, 19/6/2021: **BBMD-DIS-004. La Paz, Ensenada de La Paz** tres colonias (blancas) sobre muelle de madera, 0.5 m, 19/6/2021.

**Diagnos:** Los zooides miden entre 3.5-4 mm de longitud total. Tienen un sifón oral apical con 6 lóbulos y con 16 tentáculos orales simples de 3 tamaños. Presentan 4 hileras de estigmas parastigmáticos con 14-16 estigmas por hilera. El estómago es ovoide y liso externamente sin pliegues internos, y la parte final del esófago presenta una ligera torcedura, la glándula pilórica, que une al intestino con el estómago. Las gónadas están ubicadas en un saco debajo del intestino, con dos oocitos y de 3 a 7 folículos masculinos y el ovario en posición posterior a los testículos.

**Organismo vivo:** Colonia con forma de hongo. Túnica color anaranjado, morado o blanco. Las cabezas no comparten túnica, los zooides forman sistemas irregulares con una cloaca común en el centro, fácilmente distinguida por una pigmentación blanca, que une sifones y cloacas mediante líneas ramificadas (Fig. 7A-D).

**Morfología externa:** con 9.5 cm de extensión y 6.5 cm de grosor. La túnica es lisa, con un tono anaranjado, blanco o morado. La colonia consiste en 8-12 cabezas, todas unidas en la parte basal. Generalmente un sistema en cada cabeza, cada sistema conformado por 12-14 zooides; la cloaca suele ser circular y algunas veces ovalada, con una pigmentación blanca.

**Zoide:** 3.5-4 mm de longitud total. Región del tórax con 2.2-2.6 mm de longitud y abdomen con 1.3-1.4 mm de longitud. Sifón oral apical de 0.33 mm de longitud y 0.44 mm de ancho y presenta seis lóbulos redondos; la parte dorsal del sifón oral es más larga (Fig. 8A); sifón atrial abarcando la segunda y tercera hileras de estigmas (Fig. 8B). Ambos sifones sin esfínter y sin presencia de velo. Lengüeta atrial ancha con 0.5-0.8 mm de longitud y la punta puede ser puntiaguda o trifurcada, ésta última más frecuente. Pared del cuerpo opaco translúcido (Fig. 8A-C).

**Musculatura:** Músculos circulares en ambos sifones y longitudinales en el sifón oral. Lengüeta atrial con 18-20 músculos transversales. Tórax con músculos longitudinales cerca de la lengüeta y abertura atrial y transversales en el resto del tórax; en la parte final del tórax los músculos se vuelven oblicuos. Una pequeña franja de músculos longitudinales llega al final del abdomen.

**Región del tórax:** Tórax con 16 tentáculos orales simples de tres tamaños, unidos por una membrana. Surco prebranquial simple liso. Abertura del tubérculo dorsal con forma circular muy pequeña; área peritubercular formando una V. Lámina dorsal con tres lengüetas desplazadas a la izquierda. Faringe con cuatro hileras de estigmas y 14-16 estigmas a cada lado; estigmas rectos longitudinales, con vasos parastigmáticos que los atraviesan.

**Tubo digestivo:** Esófago del mismo tamaño que el estómago, con una ligera torcedura. Estómago ubicado en la parte posterior del abdomen (Fig. 8D; 9A); con forma de “riñón”, se logra ver un poco de ornamentación en la superficie (Fig. 8E), con 0.44 mm de longitud. Duodeno corto, intestino medio presente después del estómago. Glándula pilórica ubicada entre el estómago e intestino, tubos pilóricos rectos que se extienden sobre la pared del intestino. Ano bilobulado ubicado entre la 3° y 4° hilera de estigmas, al inicio de la abertura atrial (Fig. 9A-B).

**Gónadas:** Dos ovocitos y de 3-7 folículos masculinos, con el ovario en posición posterior a los testículos (Fig. 8F; 9B). Un solo embrión en cada bolsa (Fig. 7E).

**Larva:** Larva de forma ovalada, con 1-1.25 mm de longitud del tronco. La cola cubre menos de la mitad del tronco. Con tres papilas adhesivas en posición triangular, dos dorsales y una ventral con pedúnculo largo y ancho, cinco ampollas ectodermales redondas: dos detrás de la papila ventral y tres ampollas enfrente de las dos papilas dorsales. Una larva presentó una ampolla más en medio de las tres papilas. Con cuatro hileras de estigmas (Fig. 8H). Vesículas sensoriales presentes en la parte posterior del tronco: ocelo y otolito pigmentados (Fig. 8G; 9C).

**Hábitat:** *Distaplia stylifera* en la Ensenada de La Paz se encuentra en sitios someros de 0.5-8 m de profundidad, sobre boyas, pilares de concreto, madera y organismos vivos como bivalvos.

**Distribución geográfica:** El holotipo fue recolectado y descrito en el Mar Rojo (Kowalevsky, 1874). Ha sido registrada en varias áreas del Indo-Pacífico. Ha sido encontrada en Australia (Brewin, 1953; Millar, 1963; 1966; Kott, 1990; 2002), Filipinas (Millar, 1975; Monniot y Monniot, 2001), sur del mar de China (Lee *et al.*, 2016), Madagascar (Monniot, 2012) y (como *D. mikropnoa*, una sinonimia debatida, ver comentarios taxonómicos) en Isla Palau (Tokioka, 1955; 1967). Hay un registro dudoso en el mar Mediterráneo (Pérès, 1956). También está registrada en la costa occidental del Atlántico desde Carolina del Norte hasta Jamaica (Van Name, 1921, como *D. bursata* Van Name, 1945; Villalobos *et al.*, 2017). También ha sido registrada en varias localidades del Caribe (Monniot y Monniot, 1984; Monniot, 1988; Rocha *et al.*, 2010; Streit *et al.*, 2021) y registros recientes en el Atlántico sur sobre sustratos artificiales (San Paulo, Rocha *et al.*, 2011; Dias *et al.*, 2013). Por lo tanto, parece tener una amplia distribución circumtropical y frecuentemente se le considera como una especie criptogénica (Fig. 10), aunque no se ha realizado un trabajo taxonómico en el Pacífico oriental.

**Comentarios taxonómicos:** Las descripciones de *D. stylifera* disponibles en la literatura no son del todo consistentes en varias características morfológicas. Como es común en las ascidias coloniales, es posible que los informes mundiales de *D. stylifera* abarquen un grupo de especies hermanas. Los especímenes recolectados en la Ensenada de La Paz concuerdan bien con las descripciones dadas por Van Name (1945), Monniot (1988) y Monniot y Monniot (2001). La descripción original de Kowalevsky (1874) como *Didemnum styliferum* carece de algunos caracteres clave, como suele ocurrir con las descripciones antiguas. No se mencionó la presencia de vasos parastigmáticos y el holotipo probablemente era juvenil, con gónadas subdesarrolladas. Además, las colonias carecían de larvas.

Una característica morfológica importante para el diagnóstico es la presencia o ausencia de vasos parastigmáticos. Todas las colonias recolectadas en Ensenada de La Paz tenían vasos parastigmáticos. Kott (1990), informó que todos los especímenes recolectados en Australia, excepto una colonia carecía de vasos parastigmáticos. Monniot (1988), reportó organismos

con vasos parastigmáticos en especímenes del Caribe, pero notó su ausencia en colonias recolectadas en Madagascar (Monniot, 2012). La ausencia de vasos parastigmáticos ha sido señalada como la principal característica que distingue a *D. stylifera* de *D. mikropnoa* (Monniot y Monniot 2001); Millar (1975) propuso que la variación en este carácter sugería que estas especies eran sinónimas. Sin embargo, Kott (2002), refiere otras diferencias entre estas dos especies: las largas filas dobles de zooides que convergen en las aberturas cloacales comunes, la parte posterior de la glándula pilórica más larga, la falta de un reservorio gástrico y el curso de los conductos gastrointestinales que no cruza desde el estómago hasta la rama ascendente del asa intestinal, sino que se extiende por el asa descendente que distinguen a *D. mikropnoa* de *D. stylifera* (que tiene sistemas ovalados a alargados, aberturas cloacales comunes en toda la cabeza de la colonia, un abdomen corto, una vesícula gástrica y la glándula pilórica que se extiende desde el estómago hasta la curva ascendente del asa intestinal). Por lo tanto, concluyó que ambas son especies biológicas, pero se han confundido en la literatura.

Varios autores reportaron a *D. stylifera* con hasta 15 folículos masculinos ovalados (Tokioka 1955; 1967, bajo el nombre de *D. mikropnoa* Kott, 1990). Los especímenes de la Ensenada de La Paz tenían solo 5-6 folículos alargados, coincidiendo con reportes previos de *D. stylifera* (Van Name, 1945; Monniot, 1988; Monniot y Monniot, 2001). Además, el espermiducto de *D. stylifera* a veces se describe como discurriendo posteriormente y con uno o varios bucles sobre los ovocitos antes de girar hacia adelante (Kott, 1990; Monniot, 2012), mientras que en otras descripciones el espermiducto es recto (Van Name, 1945; Monniot y Monniot, 2001) como en los especímenes de la Ensenada de La Paz. Además, el saco gonadal puede ser pedunculado, como en nuestros organismos, o puede estar al ras del abdomen, separados por un cuello ancho (Kott, 1990; Monniot, 2012). Millar (1975), reportó una sola mancha pigmentada (el ocelo) en la larva, mientras que otros autores describen dos. Nuestros especímenes tienen ocelos y otolitos pigmentados, aunque no es fácil distinguirlos, lo que puede explicar confusiones previas. Se considera que estos caracteres variables (presencia o ausencia de vasos parastigmáticos, número y forma de folículos masculinos, bolsa gonadal pediculada o no pedunculada) sugieren que varias especies se han mezclado bajo el nombre de *D. stylifera*, como también sugiere Dias *et al.* (2013). Esta incertidumbre taxonómica, así como la posible sinonimia con la especie morfológicamente cercana *D. mikropnoa*, puede resolverse potencialmente mediante análisis morfológicos y genéticos de

especímenes de diferentes partes del mundo. Aún, teniendo en cuenta estas deficiencias, es claro que el nombre *D. stylifera* ha sido reportado en zonas tropicales del Océano Índico, el Pacífico y Atlántico occidental. Por lo tanto, este hallazgo en el Pacífico oriental representa una importante expansión del rango de la especie.

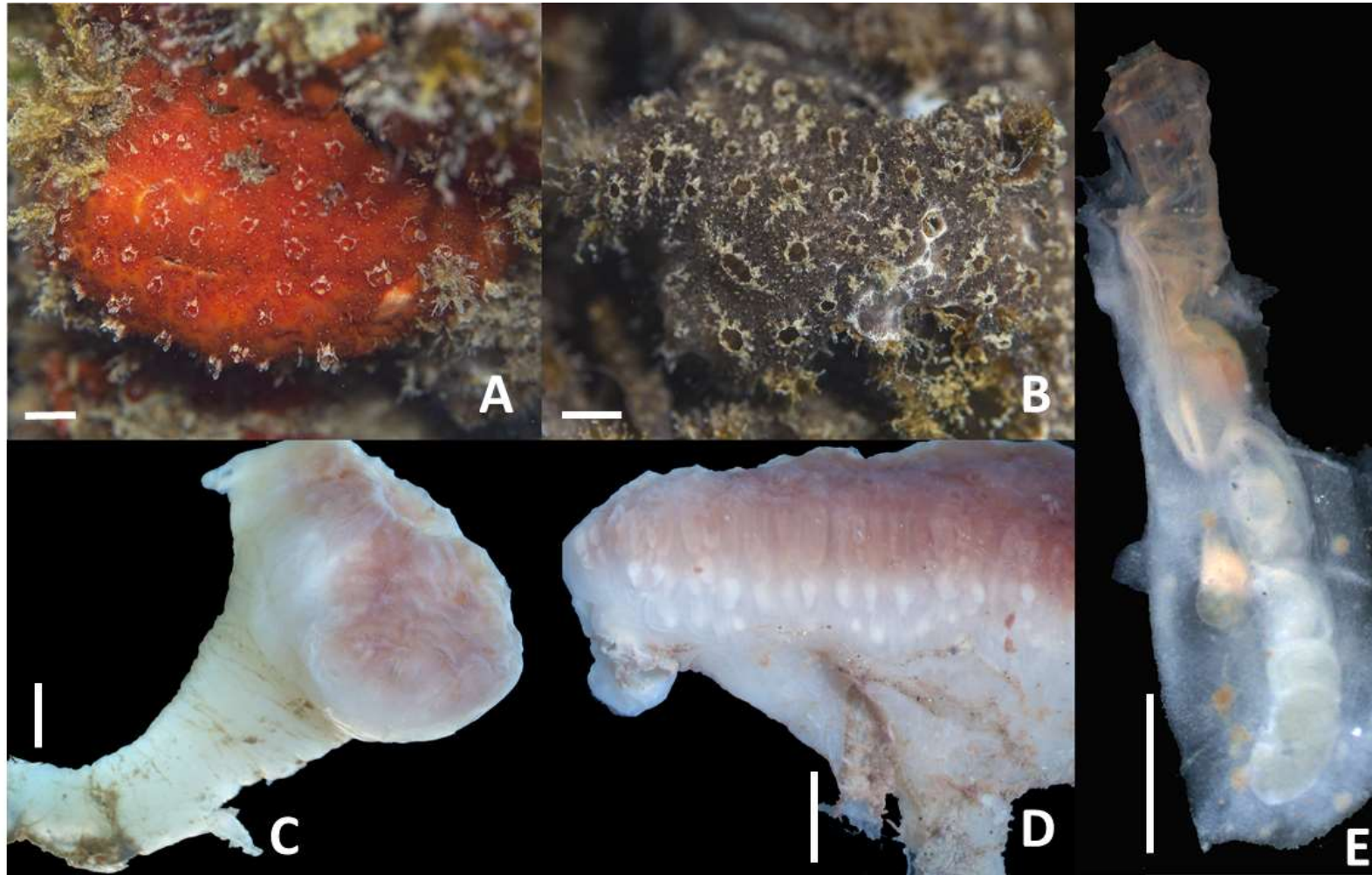
### 7.1.2. Identificación molecular

Se realizaron varios intentos de obtener secuencias completas del gen *Cox1* de las ascidias recolectadas en la Ensenada de La Paz sin éxito. Se realizaron amplificaciones en tres ejemplares con colorimetría diferentes morfológicamente identificados como *D. stylifera* de Ensenada de La Paz con cinco pares de primers reportados en la literatura como adecuados para amplificar el gen *Cox1* en otras especies de ascidias a nivel mundial. Estos primers son considerados universales para invertebrados (Folmer *et al.*, 1994) y específicos para tunicados (Stefaniak *et al.*, 2009) y ascidias (Iannelli *et al.*, 2007; Brunetti *et al.*, 2017; Salona *et al.*, 2021; Turón X., inédito). Las amplificaciones fueron positivas con todos los pares de primers, pero en el caso de los primers Tun (Stefaniak *et al.*, 2009) debido a que las bandas en el gel de agarosa fueron muy débiles. A pesar de esto, todas las amplificaciones con bandas tenues o intensas fueron enviados para secuenciación, y aunque algunas secuencias resultaron tener buena calidad, cuando fueron comparadas por BLAST, ninguna correspondió a ascidias. Las secuencias fueron similares a algas, micoparásitos o bacterias con un porcentaje de identidad entre 80-83%. Estos resultados coinciden con otros autores que han intentado amplificar el gen *Cox1* con los primers de Folmer y Stefaniak tampoco sin éxito (Villalobos *et al.*, 2017; Streit *et al.*, 2021). Esta falta de amplificación de genes de ascidias posiblemente sea causada a alguna mutación en el sitio de alineamiento del primer (Villalobos *et al.*, 2017; Streit *et al.*, 2021).

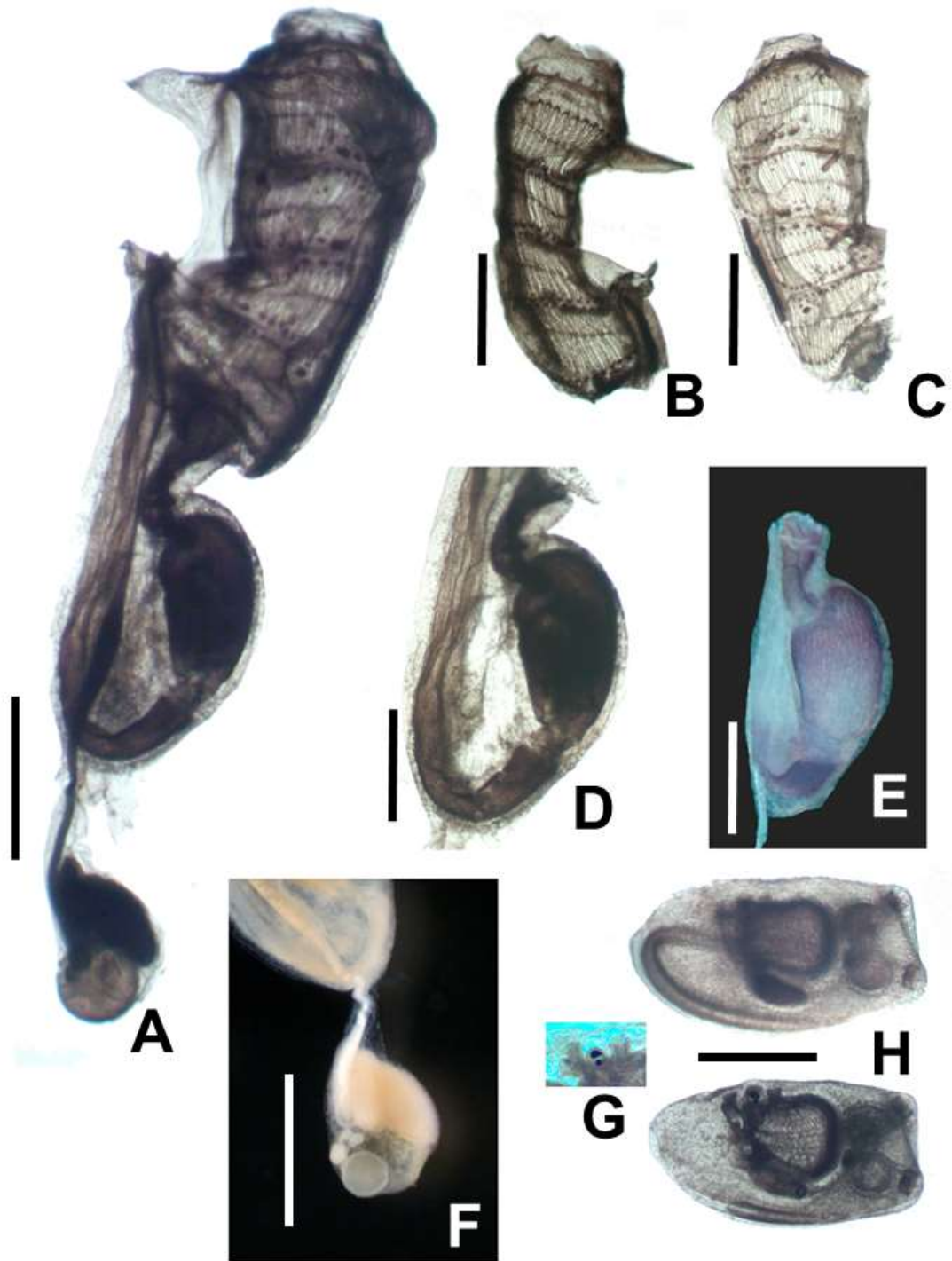
Hasta ahora no existen secuencias disponibles de *Distaplia stylifera* en las bases de datos públicas de GenBank y iBOLD System. Por lo tanto, técnicamente, aún con secuencias disponibles de especímenes recolectados en la ensenada de La Paz, no existen secuencias disponibles para comparar y evaluar si son la misma especie biológica con las recolectadas en el lugar tipo u otro sitio antes registrado como son el Océano Atlántico, Indo-Pacífico y Pacífico occidental. Actualmente existen 40 secuencias reportadas para el género *Distaplia* correspondientes a cuatro especies (*D. bermudensis*, *D. colligans*, *D. cylindrica* y *D.*



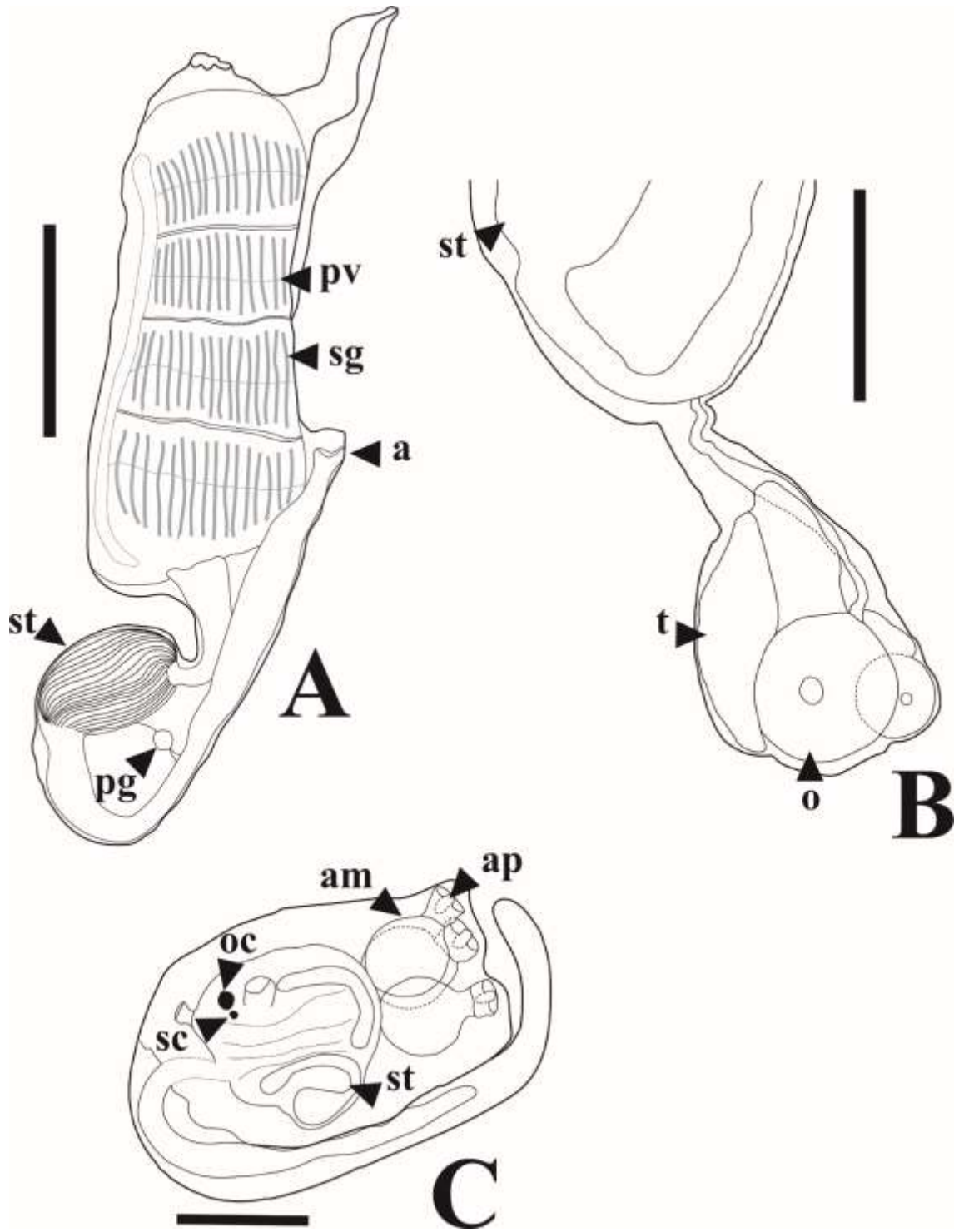
*occidentallis*), de las cuales 36 son de *D. bermudensis* (Anexo A). Sin embargo, estas secuencias mostraron una divergencia considerablemente alta entre ellas (i.e. similitudes del orden del 70-80%), valor que es considerado demasiado alto para que los cordados de especies del mismo género. Incluso entre secuencias de la misma especie *D. bermudensis*, con diferente morfotipo o distribución, el porcentaje de divergencia alcanza el 14-20 % (Anexo B) indicando una amplia variabilidad intraespecífica (Evans *et al.*, 2021; Virgili *et al.*, 2022).



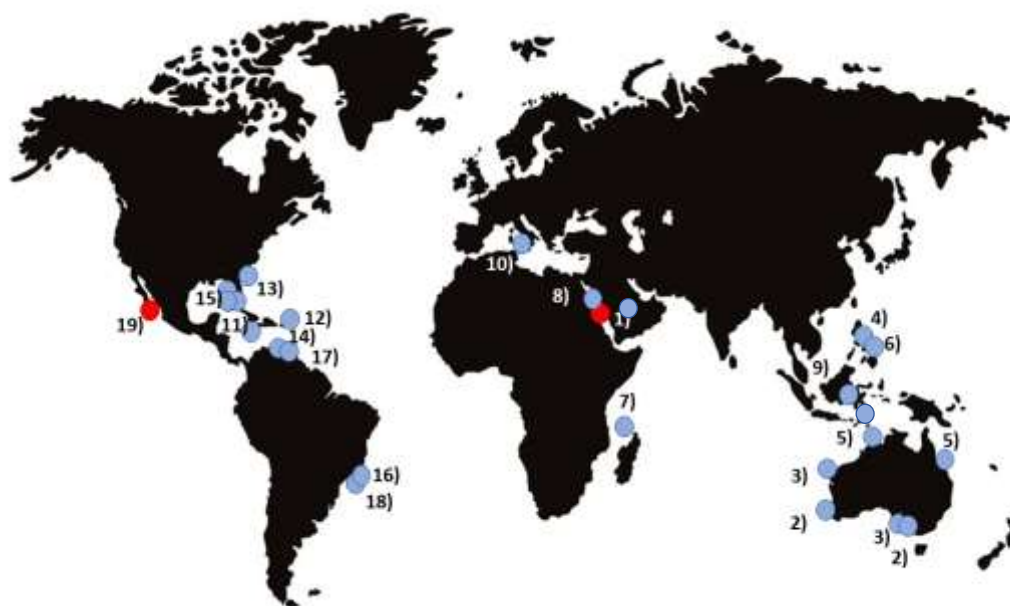
**Figura 7.** *Distaplia stylifera*; A) colonia anaranjada en vivo; B) colonia morada en vivo; C) colonia con típica forma de hongo; D) Colonia con tallos ramificados de manera que diferentes cabezas provienen de la misma base. Escalas: A, B = 1 cm; C, D = 0.25 cm; E = 1 mm.



**Figura 8.** *Distaplia stylifera*; A) zooide (tórax y abdomen); B, C) tórax; D, E) estómago; F) gónadas; G) dos vesículas sensoriales pigmentada; H) larva) colonia con tallos ramificados de manera que diferentes “cabezas” provienen de la misma base. Escalas: A = 1 cm; B, C = 0.5 mm; D = 0.25 mm.



**Figura 9.** *Distaplia stylifera*; A zooide (tórax y abdomen); B abdomen; C larva. Escalas: A = 1 cm; B, C = 0.5 mm; D = 0.25 mm. Abreviaturas: a. ano; am. ampollas; ap. papilas adhesivas; oc. ocelo; o. oocito; pv. vasos parastigmáticos; pg. glándula pilórica; sc. estatocisto, sg. estigmas; st. estomago; t. folículos masculinos.



**Figura 10.** Sitios de registros previos de *Distaplia stylifera*: 1) Mar Rojo, Kowalevsky, 1874 (localidad tipo). Indo-Pacífico, 2) Brewin, 1953. 3) Millar, 1963; 1966; 4) Millar, 1975; 5) Kott, 1990, 2002; 6) Monniot y Monniot, 2001; 7) Monniot, 2012; 8) Shenkar, 2012; 9) Lee *et al.*, 2016. Mediterráneo, 10) Pérès, 1956. Océano Atlántico Occidental, 11) Van Name, 1921; 1945; 12) Monniot y Monniot 1984; Monniot 1988; 13) Cole y Lambert 2009; 14) Rocha *et al.*, 2010; 15) Villalobos *et al.*, 2017; 16) Rocha *et al.*, 2011; 17) Streit *et al.*, 2021; 18) Dias *et al.*, 2013. Pacífico Oriental, 19) este estudio. La localidad tipo en el Mar Rojo y el registro del presente estudio se muestran con círculos rojos.

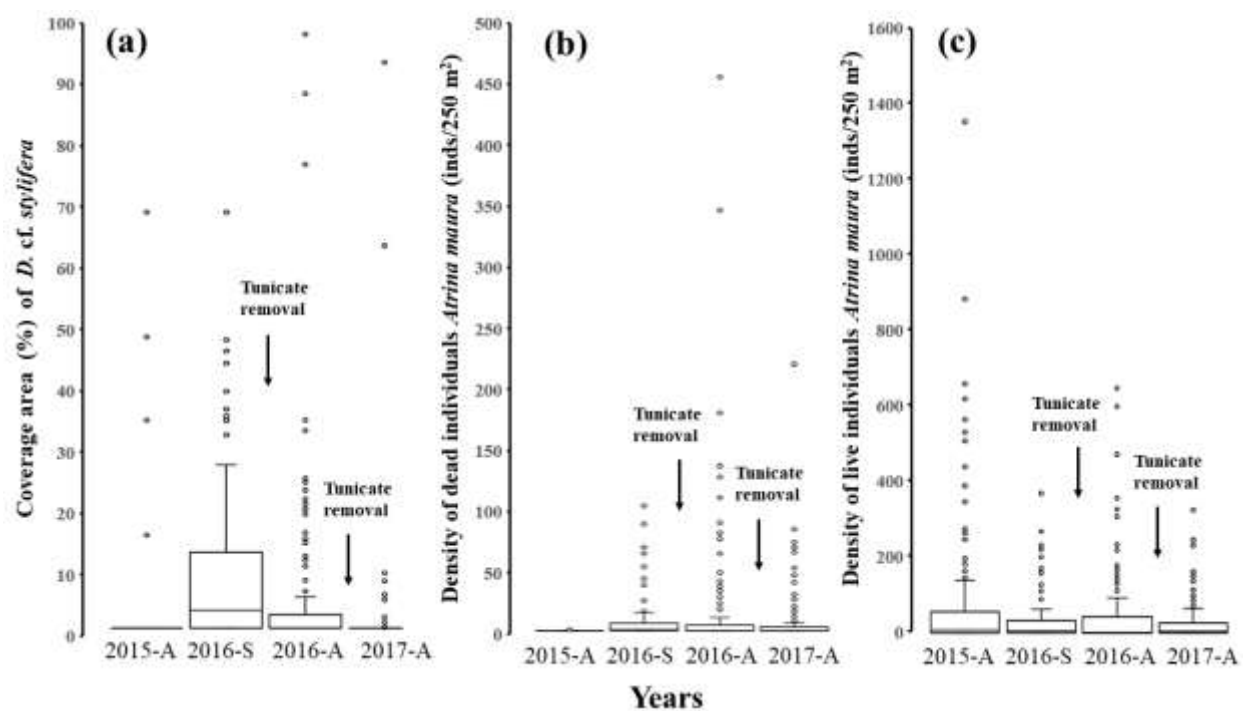
## 7.2. Cobertura relativa de *Distaplia stylifera* durante 2015 a 2017

Las observaciones piloto de la población de *A. maura* durante el otoño de 2011, 2012, 2013 y 2014 no mostraron la presencia de la ascidia epibionte *D. stylifera* (datos no mostrados). En otoño de 2015 se observó por primera vez en baja abundancia, y para el verano de 2016 se observó un aumento abrupto de la población de ascidia que resultó en un evento de mortalidad masiva de la población de *A. maura* durante el otoño de ese año.

La cobertura de área de *D. stylifera* mostró una presencia limitada durante 2015, donde 176 de 180 sitios de muestreo no tenían ascidias y solo cuatro sitios de muestreo tenían una cobertura de ascidias del 16% al 70% en 250 m<sup>2</sup> (Fig. 11A). Las ascidias aumentaron considerablemente el área de cobertura en el verano de 2016, estando presentes en 61 de los 96 sitios de muestreo. Los efectos de la tormenta Javier (7 al 9 de agosto) y el huracán Newton (4 al 7 de septiembre)



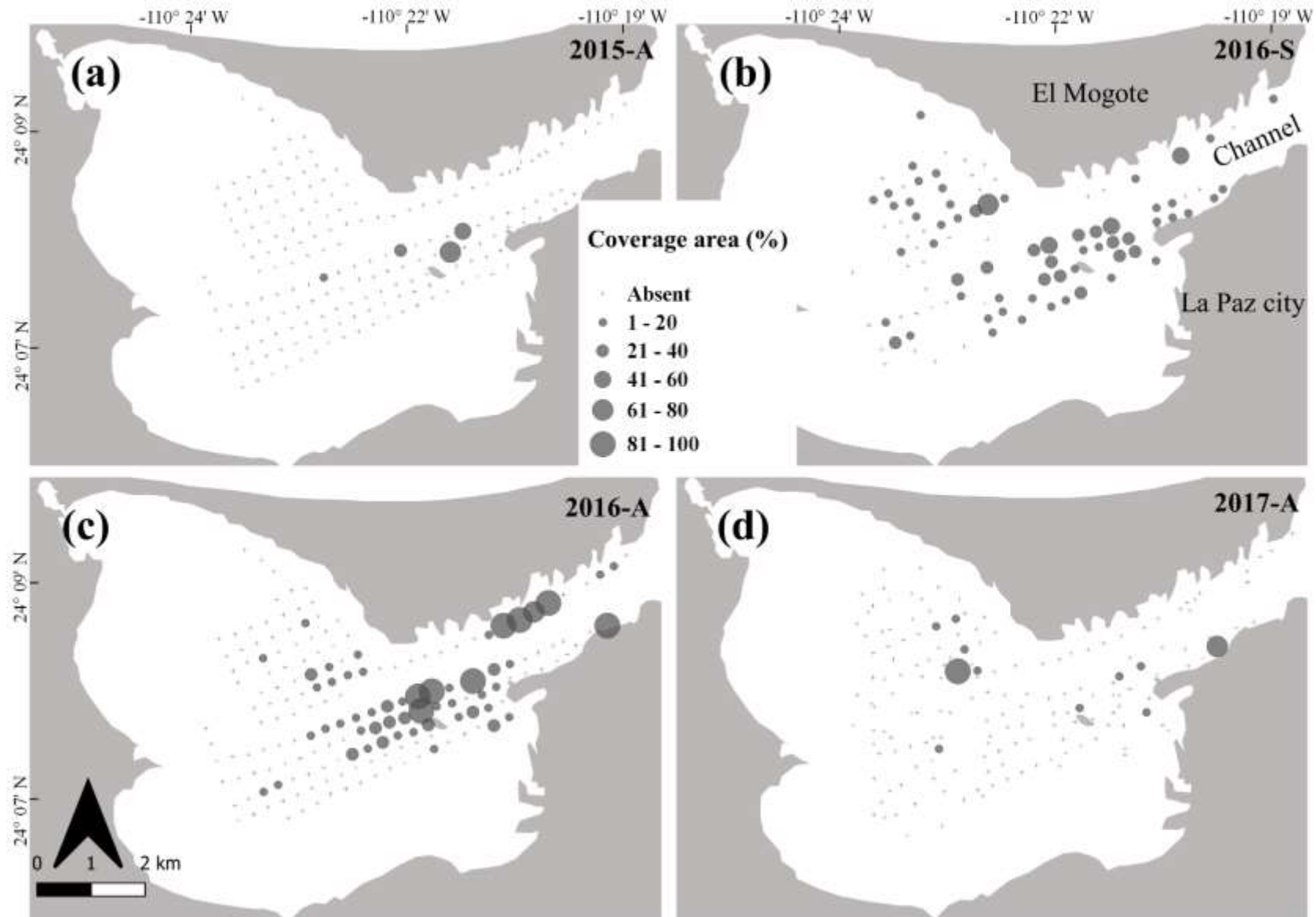
junto con una operación de remoción de ascidias (limitada a un área de 0.165 km<sup>2</sup> y 34.7 t de ascidias peso húmedo removidas) durante septiembre-noviembre de 2016 (Fig. 11C) resultaron en una reducción del área cubierta por ascidias durante el muestreo de otoño de 2016; sólo 53 de los 173 sitios de muestreo tenían una cobertura de ascidia que variaba del 1 al 100%. Una segunda operación de remoción de tunicados se llevó a cabo durante ene-mar de 2017 (un área de 0.708 km<sup>2</sup> y 142.3 t de ascidias peso húmedo removidas) (Fig. 11C) observándose una fuerte disminución en la cobertura de ascidia incluso en áreas no afectadas por la operación de remoción de tunicados. La cobertura media anual de ascidia por sitio de muestreo fue de 0.9% en 2015, 9.4% en verano de 2016, 8.1% en otoño de 2016 y 1.2% en 2017. La mayor variabilidad en la cobertura de ascidia se observó durante el verano de 2016 (Fig. 11A).



**Figura 11.** A) Área de cobertura (%) observada de *Distaplia stylifera* sobre *Atrina maura*. Otoño de 2015 (2015-A), verano de 2016 (2016-S), otoño de 2016 (2016-A) y otoño de 2017 (2017-A) en Ensenada de La Paz, Golfo de California. B) Densidad de individuos muertos observados de *A. maura* y C) Densidad de individuos vivos observados de *A. maura*. Densidad expresada en inds./250 m<sup>2</sup>. Las flechas indican una operación de remoción de ascidias (sep-nov de 2016 y ene-feb de 2017).

La distribución espacial de *D. stylifera* durante 2015 se limitó a cuatro sitios de muestreo alineados a lo largo del canal de marea interior (Fig. 12A). Su distribución se expandió rápidamente a 61 sitios de muestreo durante el verano de 2016, cuando la población creció

desde el canal de mareas hacia la región central de Ensenada de La Paz, con una cobertura de uno a 70% en los bancos de conchas de corrales (Fig. 12B). En otoño de 2016, su distribución disminuyó a 53 sitios de muestreo a lo largo del canal de mareas, y nueve de esos sitios (en su mayoría cerca de la costa de El Mogote) tenían valores de cobertura > 80% (Fig. 12C). Durante el otoño de 2017, solo 11 de los 166 sitios de muestreo tenían ascidias (Fig. 12D). Nueve sitios de muestreo tenían ~ 9% *D. stylifera* y dos sitios todavía tenían una cobertura del 64% y del 95% (Fig. 12D).



**Figura 12.** Distribución espacial del área de cobertura de *Distaplia stylifera* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017.



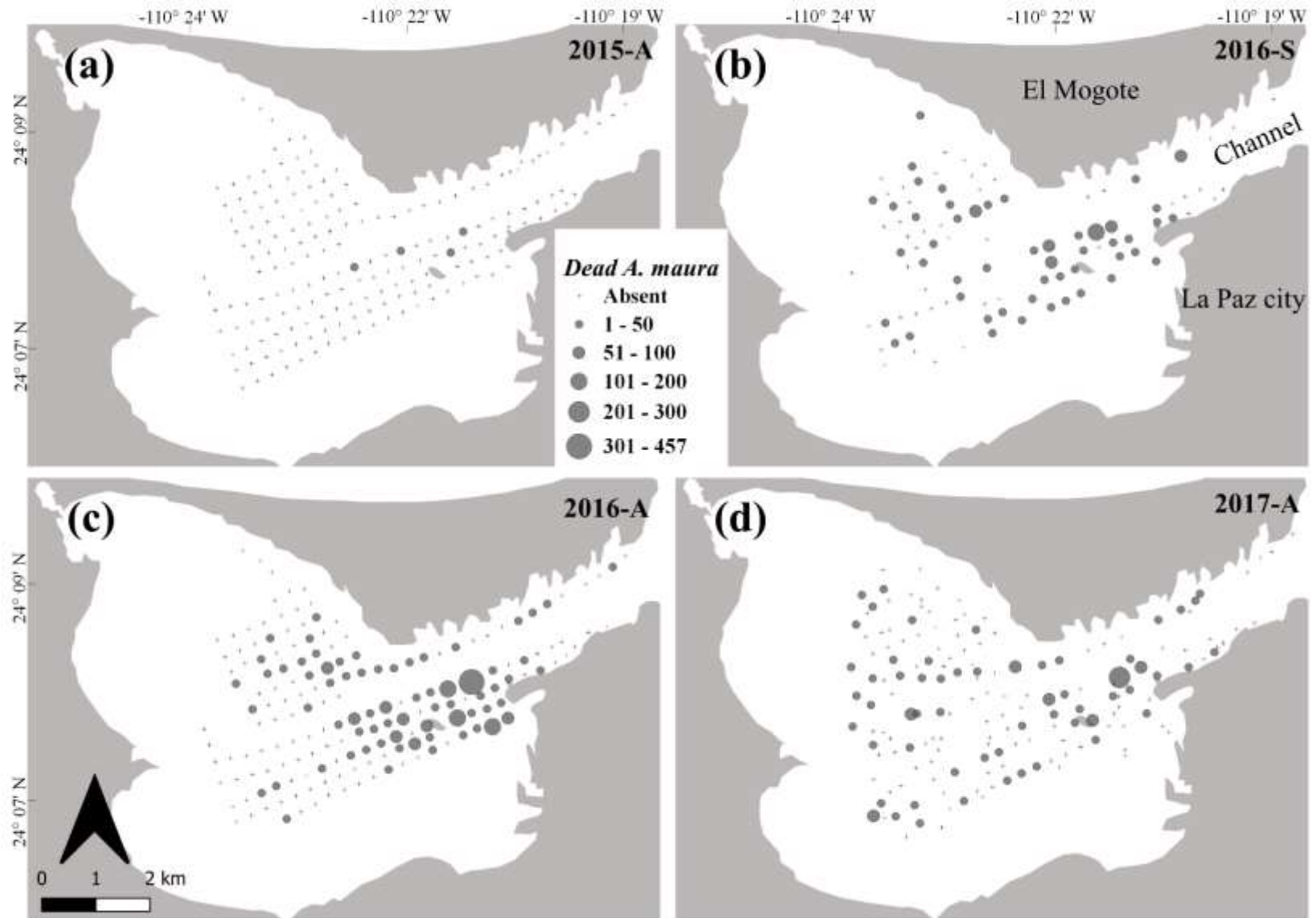
### 7.3. Densidad de *Atrina maura* muerta y viva durante 2015 a 2017

La densidad de *A. maura* muerta aumentó considerablemente de 2015 a 2016 y luego disminuyó en 2017. La densidad media observada de individuos muertos fue 0.02 inds./250 m<sup>2</sup> en 2015, 8.71 inds./250 m<sup>2</sup> en verano de 2016, 12.83 inds./250 m<sup>2</sup> en otoño de 2016 y 6.65 inds./250 m<sup>2</sup> en 2017. La mayor variabilidad en la densidad de individuos muertos se observó durante 2016 (Fig. 11B).

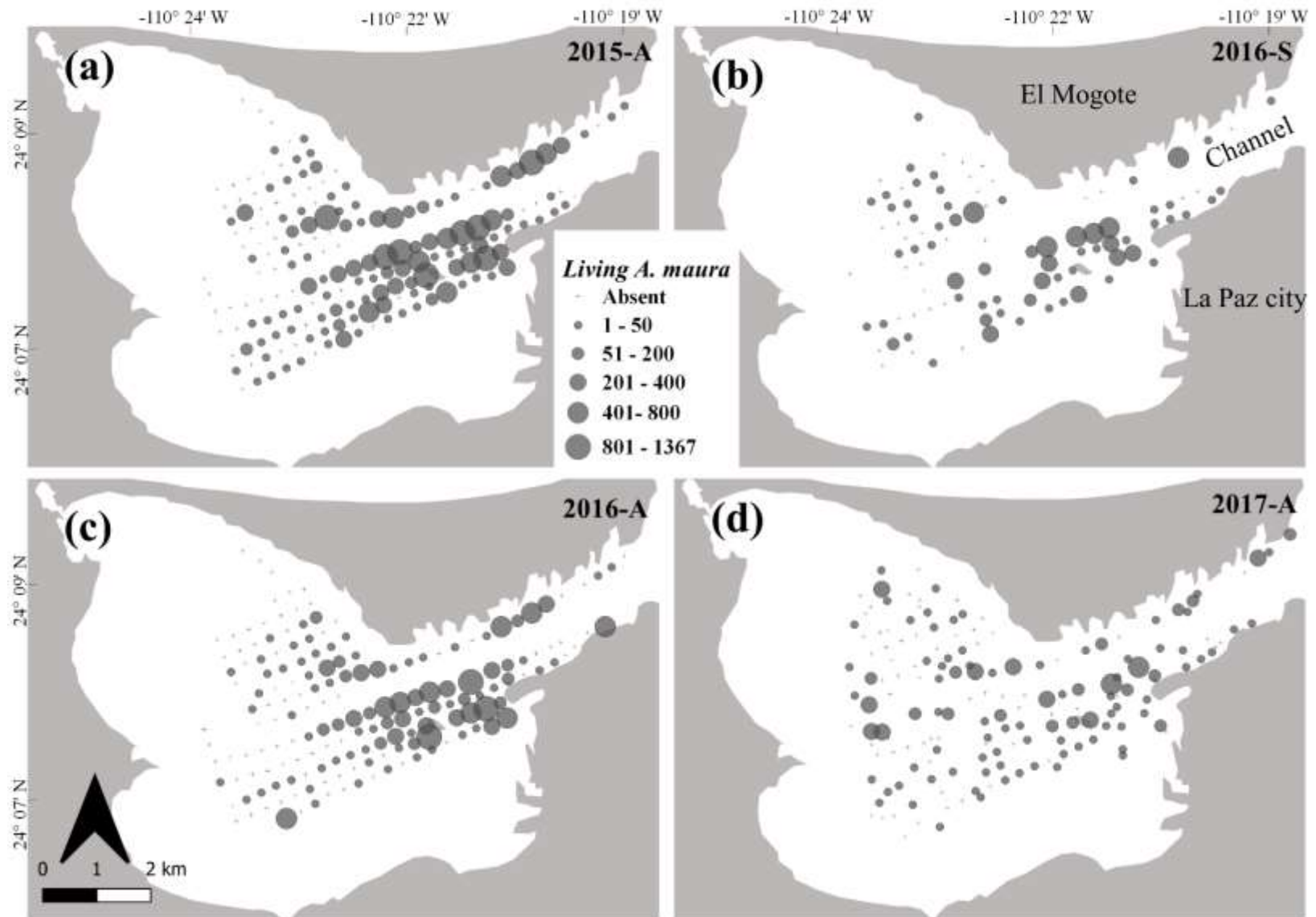
La distribución espacial de *A. maura* muerta fue baja en 2015, mostrando solo cuatro sitios de muestreo de 180 con un individuo muerto en 250 m<sup>2</sup> (Fig. 13A). En el verano de 2016, se observaron organismos muertos de *A. maura* en 50 de los 96 sitios de muestreo y 21 de esos sitios tenían densidades entre 10 y 103 inds./250 m<sup>2</sup> (Fig. 13B). Se encontraron individuos muertos en 69 de los 173 sitios de muestreo durante el muestreo de otoño de 2016. Treinta de esos sitios tenían densidades entre 10 y 457 inds./250 m<sup>2</sup> muertos y los 39 sitios restantes tenían densidades <9 inds./250 m<sup>2</sup> muertos (Fig. 13C). Se encontraron individuos muertos en 58 de los 166 sitios durante otoño de 2017. Veintidós de esos sitios tenían densidades entre 10 y 220 inds./250 m<sup>2</sup> y los 36 sitios restantes tenían densidades <9 inds./250 m<sup>2</sup> (Fig. 13D).

La densidad de individuos vivos de *A. maura* disminuyó gradualmente de 2015 a 2017 (Fig. 11C). Los valores de la media de densidad fueron de 72 inds./250 m<sup>2</sup> en 2015, 39 inds./250 m<sup>2</sup> en verano de 2016, 49 inds./250 m<sup>2</sup> en otoño de 2016 y 26 inds./250 m<sup>2</sup> en 2017. El mayor rango de densidad se observó en 2015 (uno a 1367 inds./250 m<sup>2</sup>) y 41 de 180 sitios de muestreo tenían densidades > 100 inds./250 m<sup>2</sup>. Durante el verano de 2016, solo 14 de los 96 sitios de muestreo tenían densidades > 100 inds./250 m<sup>2</sup>, mientras que en otoño de 2016 solo 25 de los 173 sitios de muestreo tenían densidades > 100 inds./250 m<sup>2</sup>. La densidad más baja de *A. maura* viva se observó en el otoño de 2017, con solo 12 sitios de muestreo con densidades > 100 inds./250 m<sup>2</sup>. Es evidente que una gran parte de las pérdidas de hachas se produjeron en bancos de alta densidad. El efecto completo de *D. cf. stylifera* sobre *A. maura* fue evidente a partir de los cambios en la distribución espacial de la densidad del hacha de 2015 a 2017 (Fig. 14A-D). Los bancos de *A. maura* vivas tuvieron una mayor densidad y distribución espacial más amplia durante 2015 (Fig.14A), disminuyendo en densidad y distribución durante 2016 (Fig.14B-

C) y durante 2017 mostraron las densidades más bajas y distribución espacial reducida (Fig. 14D) después del sobrecrecimiento poblacional de *D. stylifera*.



**Figura 13.** Distribución espacial de la abundancia de organismos muertos (inds./250 m<sup>2</sup>) de *Atrina maura* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017.

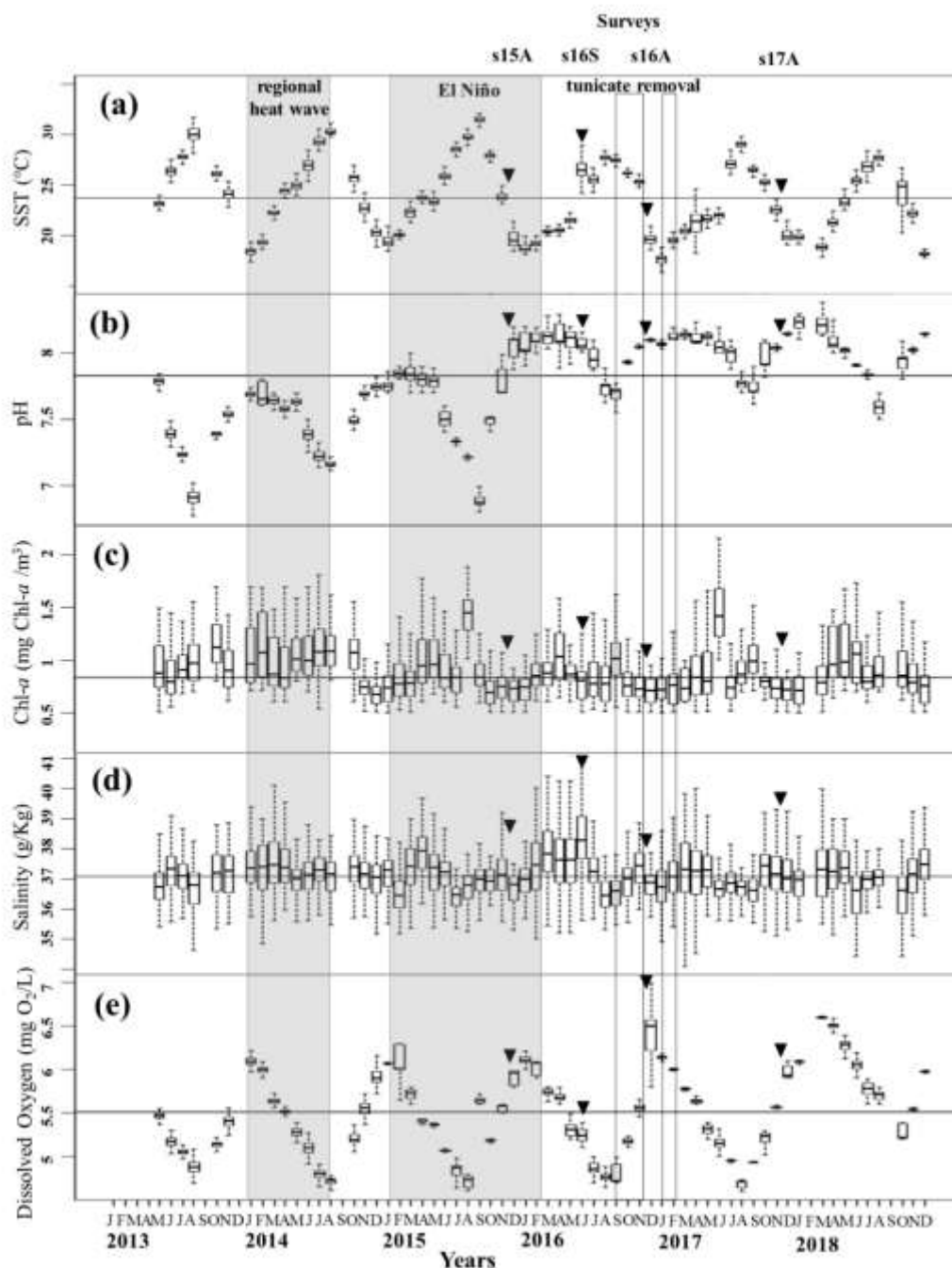


**Figura 14.** Distribución espacial de la abundancia de organismos vivos (inds./250 m<sup>2</sup>) de *Atrina maura* durante, A) otoño de 2015, B) verano de 2016, C) otoño de 2016 y D) otoño de 2017.

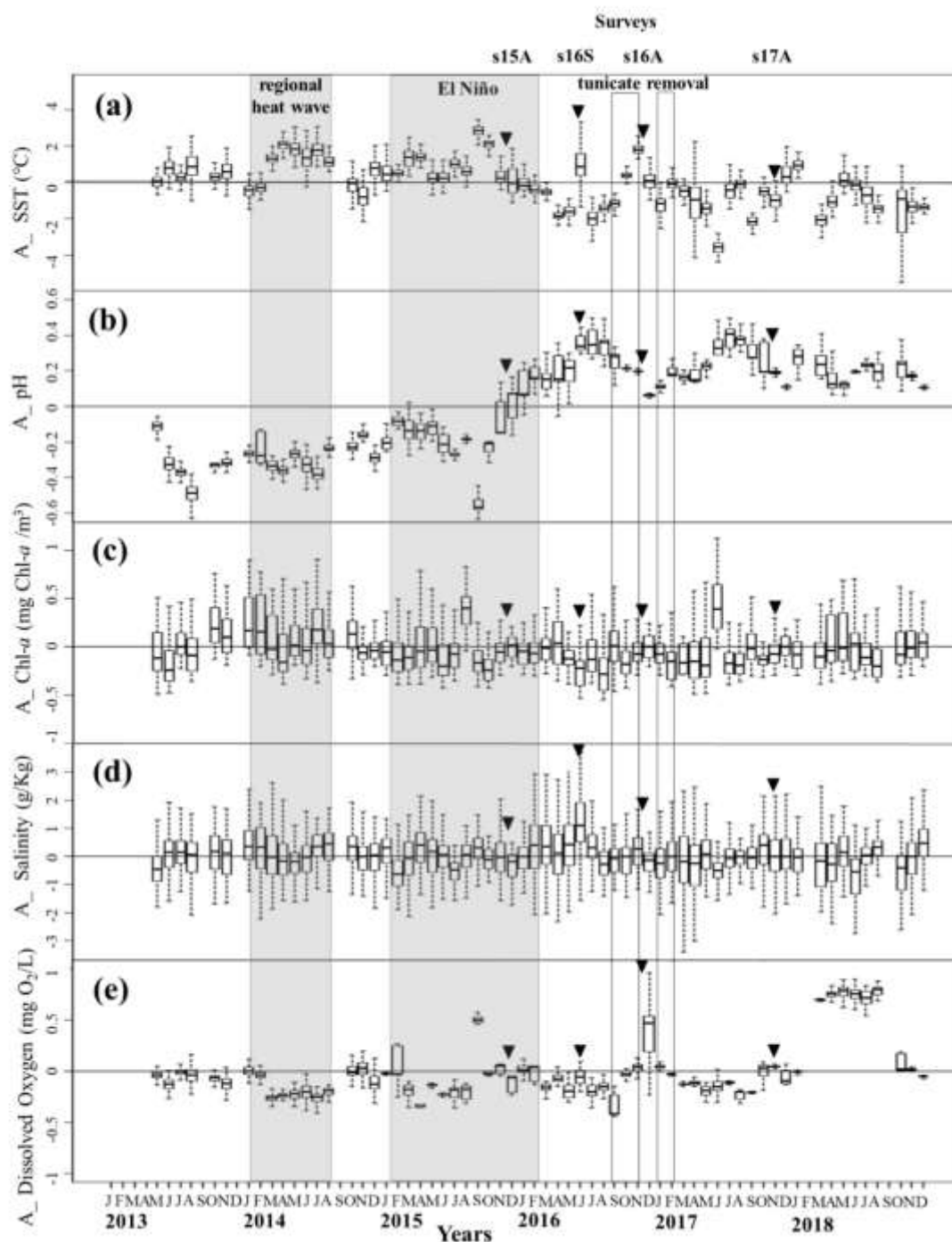
#### 7.4. Series de tiempo de variables ambientales obtenidas de Landsat 8 2013 a 2018

Las series de tiempo de SST, pH y OD del satélite Landsat 8 presentaron una estacionalidad pronunciada. La SST tenía una media de 23.8° C y un rango entre 12.2° C (enero de 2017) y 33.3° C (agosto de 2016). La SST mostró una relación inversa con el pH (Fig. 15A-B). El pH tuvo una media de 7.8 y un rango entre 6.8 (septiembre de 2015) y 8.3 (abril de 2016). La concentración media de Chl-*a* fue de 0.84 mg de Chl-*a*/m<sup>3</sup> con un rango entre 0.5 mg de Chl-*a*/m<sup>3</sup> (mayo de 2013) y 2.15 mg de Chl-*a*/m<sup>3</sup> (junio de 2017). La salinidad tuvo una media de 37.1 PSU con un rango entre 36.4 PSU (febrero de 2015) y 40.9 PSU (junio de 2016). La concentración de OD tuvo una media de 5.5 mg O<sub>2</sub>/L con un rango entre 4.6 mg O<sub>2</sub>/L (agosto de 2017) y 7 mg O<sub>2</sub>/L (diciembre de 2016) (Fig. 15).

Las anomalías mensuales muestran un factor de estacionalidad débil de seis meses en la TSM y el pH. Las anomalías de SST mostraron un período cálido desde mayo de 2013 hasta diciembre de 2015 con anomalías positivas entre 1 y 3° C (Fig. 16). Posteriormente hubo una tendencia de enfriamiento, con anomalías volviéndose negativas, alcanzando valores de -6° C, después del otoño de 2016. Las anomalías de pH mostraron anomalías negativas de -0.1 a -0.6 entre mayo de 2014 y noviembre de 2015, y anomalías positivas que variaron de 0.1 a 0.4 de diciembre de 2015 a diciembre de 2018. Las anomalías de Chl-*a* mostraron un componente de estacionalidad con pulsos de anomalías positivas de 2 mg de Chl-*a*/m<sup>3</sup> en promedio de mayo a julio de 2016. Las anomalías de salinidad mostraron una baja variabilidad temporal. Las anomalías de OD fueron en gran parte negativas y tuvieron tres pulsos de anomalías positivas durante el período de estudio (febrero y septiembre de 2015 y diciembre de 2016) (Fig. 16). Estas series muestran que el proceso de colonización y el crecimiento de la población de *D. stylifera* durante 2016 se asoció principalmente con aguas marinas más frías y alcalinas (Fig. 16).



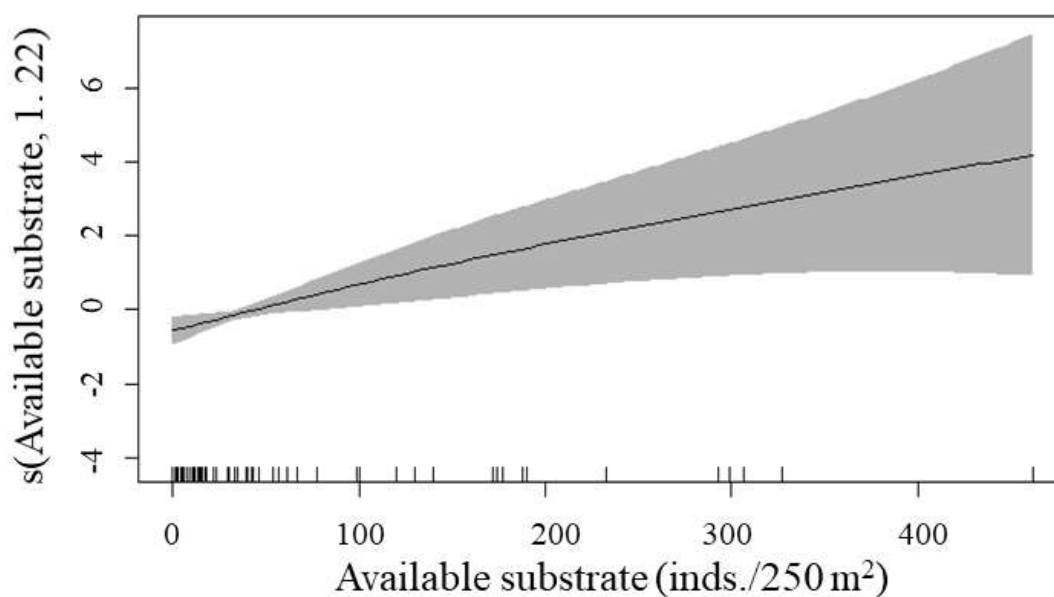
**Figura 15.** Series de tiempo mensuales de 2013 a 2018 de parámetros ambientales estimados a partir de imágenes Landsat 8 en el área de estudio. A) Temperatura superficial del mar, B) pH, C) Concentración superficial de clorofila-*a*, D) Salinidad, E) Concentración de oxígeno disuelto. Rectángulos grises indican la ocurrencia de una onda de calor regional entre enero y agosto de 2014 y un evento de El Niño de 2015 entre enero de 2015 y febrero de 2016. Rectángulos vacíos = Períodos de eliminación de *D. stylifera* durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017; Los triángulos negros indican monitoreos; s15 = monitoreo 2015; s16S = monitoreo 2016-verano; s16A = monitoreo 2016-otoño; s17 = monitoreo 2017.



**Figura 16.** Anomalías de las series de tiempo mensuales de 2013 a 2018 de parámetros ambientales estimados a partir de imágenes Landsat 8 en el área de estudio. A) Temperatura de la superficie del mar, B) pH, C) Concentración de clorofila-*a* en la superficie del mar, D) Salinidad, E) Concentración de oxígeno disuelto. Rectángulos grises indican la ocurrencia de una onda de calor regional entre enero y agosto de 2014 y un evento de El Niño de 2015 entre enero de 2015 y febrero de 2016. Rectángulos vacíos = Períodos de eliminación de *D. stylifera* durante sep-nov de 2016 y ene-mar de 2017; Los triángulos negros indican monitoreos; s15 = monitoreo 2015; s16S = monitoreo 2016-verano; s16A = monitoreo 2016-otoño; s17 = monitoreo 2017.

### 7.5. Cobertura de *Distaplia stylifera* asociada con la densidad de *Atrina maura* y las condiciones ambientales durante el verano de 2016

Los resultados del GAM para inferir los efectos de la disponibilidad de sustrato y seis variables ambientales y sus anomalías sobre la proporción de cobertura de *D. stylifera* se muestran en la Tabla IV. El GAM mejor ajustado fue el modelo 2 (con anomalías): [(proporción de cobertura)  $\sim$  f (sustrato disponible + A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_SST + A\_ChI- $\alpha$ )] con un  $R^2$  Adj. = 0.78, Dev exp = 70.3% y UBRE = -0.79, que fue ligeramente mejor que el modelo 1 (con las series ambientales sin transformar). El modelo indica que la única variable significativa fue el sustrato disponible, mostrando un comportamiento casi lineal que aumenta monótonamente para la cobertura de *D. stylifera* con el sustrato proporcionado por la densidad de las hachas y predice que los efectos de cobertura de *D. stylifera* comienzan a ocurrir cuando la densidad de *A. maura* es  $> 47$  inds./250 m<sup>2</sup> (Fig. 17).



**Figura 17.** Modelo aditivo generalizado ajustado (línea continua) con intervalo de confianza del 95% (área gris) para el efecto de la disponibilidad del sustrato en la proporción de cobertura de *D. stylifera*. Los grados de libertad se dan en la etiqueta del eje y. El modelo ajustado fue: [(proporción de cobertura)  $\sim$  f (sustrato disponible + A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_TSM + A\_ChI- $\alpha$ )]. El eje Y está en la escala de la variable de predicción lineal. Las líneas de marca en el interior del eje X indican la presencia de valores observados de la variable predictora.



**Tabla IV.** Modelo aditivo generalizado para probar los efectos de la disponibilidad de sustrato y las variables/anomalías ambientales registradas durante 2016 sobre el porcentaje de cobertura de *Distaplia stylifera* en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México. Modelo 1: [(proporción de cobertura)  $\sim$  f (sustrato disponible + OD + pH + Sal + TSM + Chl- $\alpha$ )]. Modelo 2: [(cobertura proporcional)  $\sim$  f (sustrato disponible) + (A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_TSM + A\_ChI- $\alpha$ )]. A\_ representan anomalías.

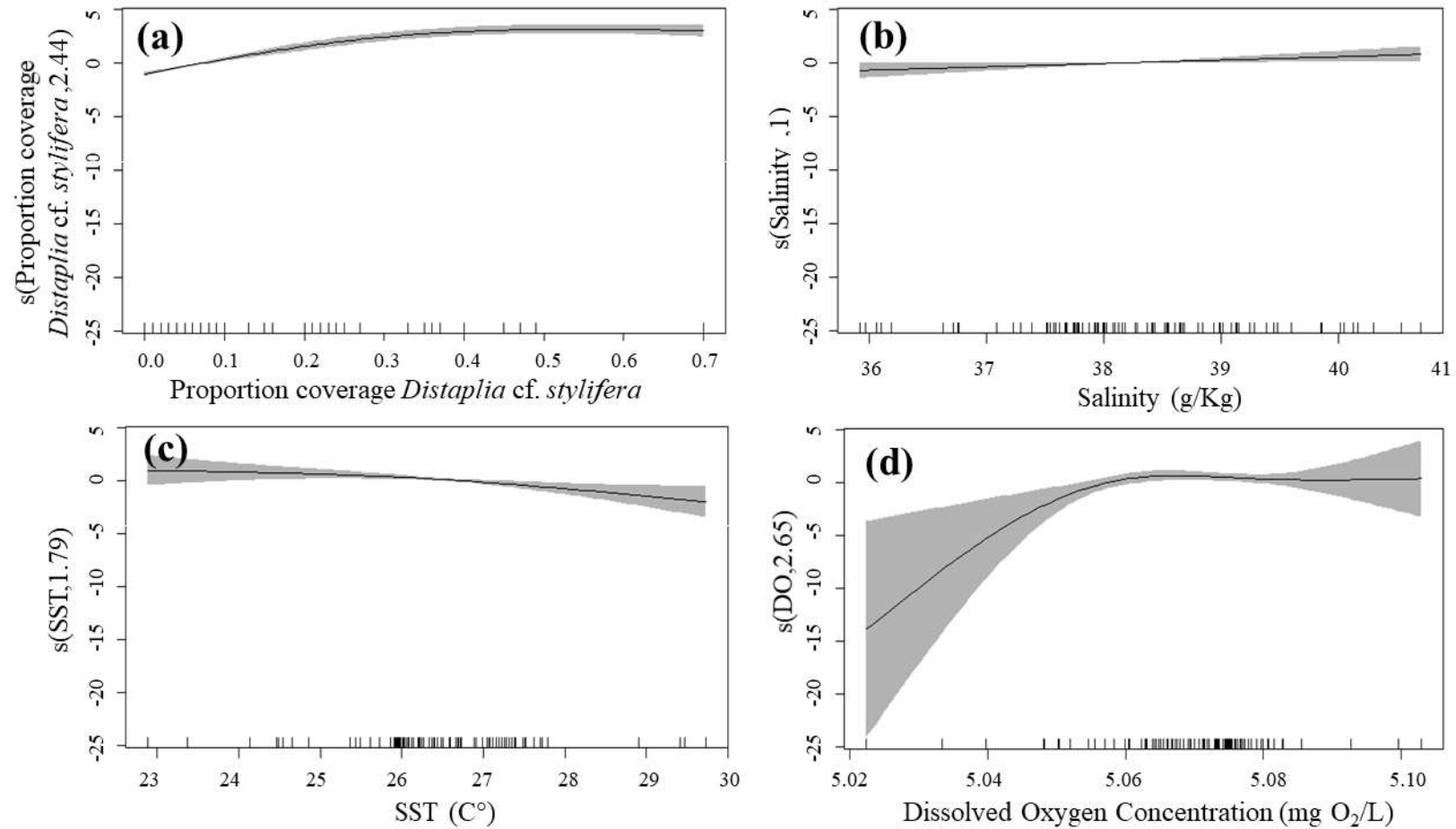
Modelo	R <sup>2</sup>	Dev exp %	UBRE	Variable respuesta	Variable predictora	Valor-p	Chi-sq
1	0.76	70.1%	-0.789	Proporción de cobertura de <i>D. stylifera</i> .	Sustrato disponible	p < 0.001	0.051
					OD		0.937
					pH		0.867
					Sal		0.977
					SST		0.851
					ChI- $\alpha$		0.821
2	0.78	70.3%	-0.793	Proporción de cobertura de <i>D. stylifera</i> .	Sustrato disponible	p < 0.001	0.003
					A_OD		0.496
					A_pH		0.846
					A_Sal		0.972
					A_SST		0.777
					A_ChI- $\alpha$		0.715

### 7.6. Densidad de *Atrina maura* relacionada con la cobertura de *Distaplia stylifera* durante el verano de 2016

El GAM [(*A. maura* muerta)  $\sim$  f (proporción de cobertura por *D. cf. stylifera* + OD + pH + Sal + TSM + ChI- $\alpha$ )] dio el mejor ajuste con R<sup>2</sup> Adj. = 0.89, Dev exp = 88.8% y un GACV = 0.014 (Tabla V). Este modelo indica que el principal factor que explica la varianza de *A. maura* muerta observada fue la proporción de *D. stylifera* que tiene una tendencia positiva casi lineal (Fig. 18A). La salinidad, SST y OD también fueron significativas, pero menos relevantes como variables explicativas. La mortalidad de las hachas aumenta con la salinidad y disminuye con la TSM, ambas con tendencias casi lineales (Fig. 18B-C) mientras que *A. maura* muerta aumenta conforme aumentan los valores de OD (Fig. 18D). En general, el GAM ajustado predice que la densidad de *A. maura* muerta aumenta cuando la cobertura de *D. stylifera* es > 8%, la salinidad es > 37.3 UPS, TSM <27.1° C y OD > 5.05 mg O<sub>2</sub>/L.

**Tabla V.** Resumen estadístico del Modelo Aditivo Generalizado de la densidad de *A. maura* muerta y variables/anomalías ambientales registradas durante el verano de 2016 en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México. Modelo 1: [(*A. maura* muerta) ~ f (proporción de cobertura por *D. stylifera* + OD + pH + Sal + TSM + Chl-*a*)]. Modelo 2: [(*A. maura* muerta) ~ f (proporción de cobertura por *D. stylifera* + A\_DO + A\_pH + A\_Sal + A\_TSM + A\_ChI-*a*)]. A\_ representan anomalías.

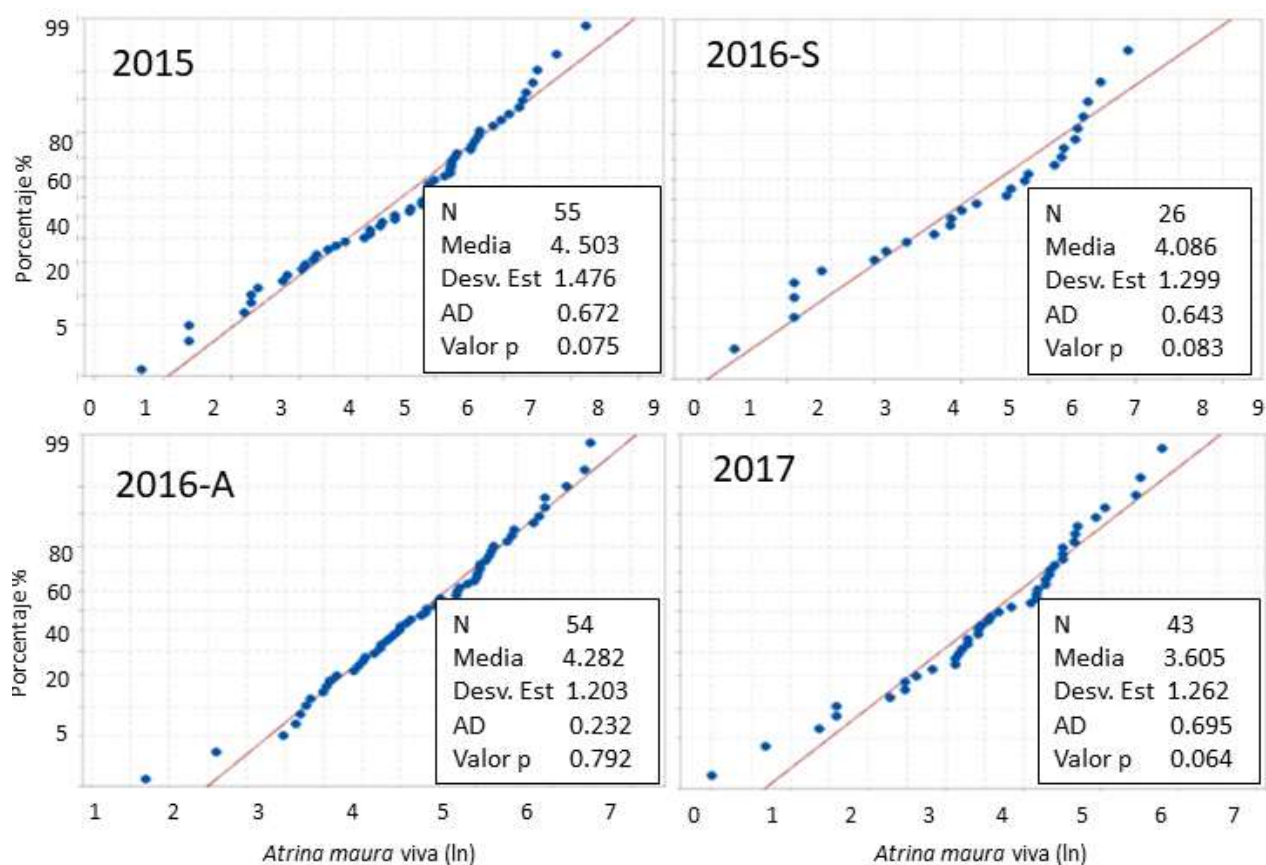
Modelo	R <sup>2</sup>	Dev exp %	GACV	Variable respuesta	Variable predictora	Valor-p	F
1	0.89	88.8%	0.014	<i>A. maura</i> muerta	Proporción de cobertura de <i>D. stylifera</i>	p < 0	2e <sup>-16</sup>
					OD	p < 0.01	0.035
					pH		0.239
					Sal	p < 0.01	0.041
					TSM	p < 0.01	0.013
					Chl- <i>a</i>		0.942
2	0.85	86.1%	0.016	<i>A. maura</i> muerta	Proporción de cobertura de <i>D. stylifera</i>	p < 0	2e <sup>-16</sup>
					A_OD		0.245
					A_pH		0.294
					A_Sal	p < 0.01	0.042
					A_TSM	p < 0.01	0.029
					A_ChI- <i>a</i>		0.607



**Figura 18.** Modelos aditivos generalizados ajustados (líneas continuas) con intervalos de confianza del 95% (área gris) para el efecto de la cobertura de *D. stylifera* sobre la mortalidad de *A. maura*. El modelo mejor ajustado fue [(*A. maura* muerta) ~ f (proporción de cobertura por *D. stylifera* + Valores mensuales de las variables ambientales)]. Se muestran los efectos de las variables sobre la mortalidad del hacha A) Cobertura de la ascidia; B) Salinidad; C) temperatura de la superficie del mar; y D) concentración de oxígeno disuelto. Los ejes Y están en la escala de la variable de predicción lineal. Las líneas de marca en el interior del eje X indican la presencia de valores observados de la variable predictora. Los números en la etiqueta del eje Y indican los grados de libertad.

### 7.7. Efecto que tuvo la población de *Atrina maura* a consecuencia de la invasión de *Distaplia stylifera*.

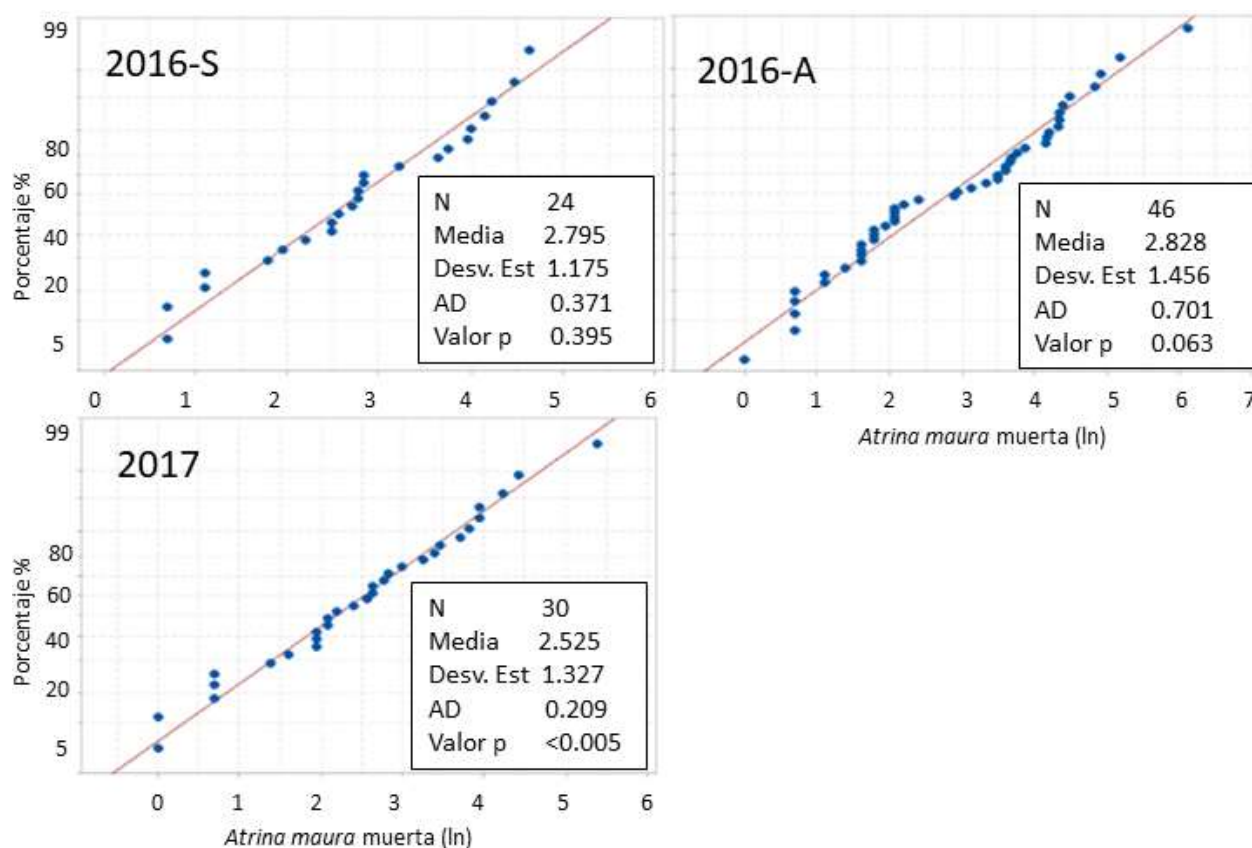
Dado a que el valor estadístico de Anderson Darling (AD) para el tamaño de muestra de *A. maura* viva de los años 2015, 2016-S, 2017-A y 2017 es menor al valor crítico ( $AD_{\text{crítico}} = 0.752$ ), no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula. Por lo que los datos observados tienen una naturaleza de distribución log-normal (Fig. 19).



**Figura 19.** Gráficas de probabilidad de log-normalidad de Anderson-Darling (AD) con un valor de crítico ( $AD_{\text{crítico}}$ ) de 0.752 para muestras de la población de *Atrina maura* viva de la Ensenada de La Paz, durante 2015, 2016-S, 2016-A y 2017.

En cuanto a los datos de *A. maura* muerta, el valor estadístico AD también fue menor al  $AD_{\text{crítico}} = 0.752$  en las muestras de los años 2016-S, 2016-A y 2017. Por lo tanto, no hay evidencia para rechazar la hipótesis nula y los datos observados tienen una naturaleza de distribución log-normal. Para el año 2015 no se presenta gráfico ya que durante este año se registraron cuatro

presencias de *A. maura* muerta, y fue el año en que se registró la presencia de *D. cf. stylifera* (Fig. 20).



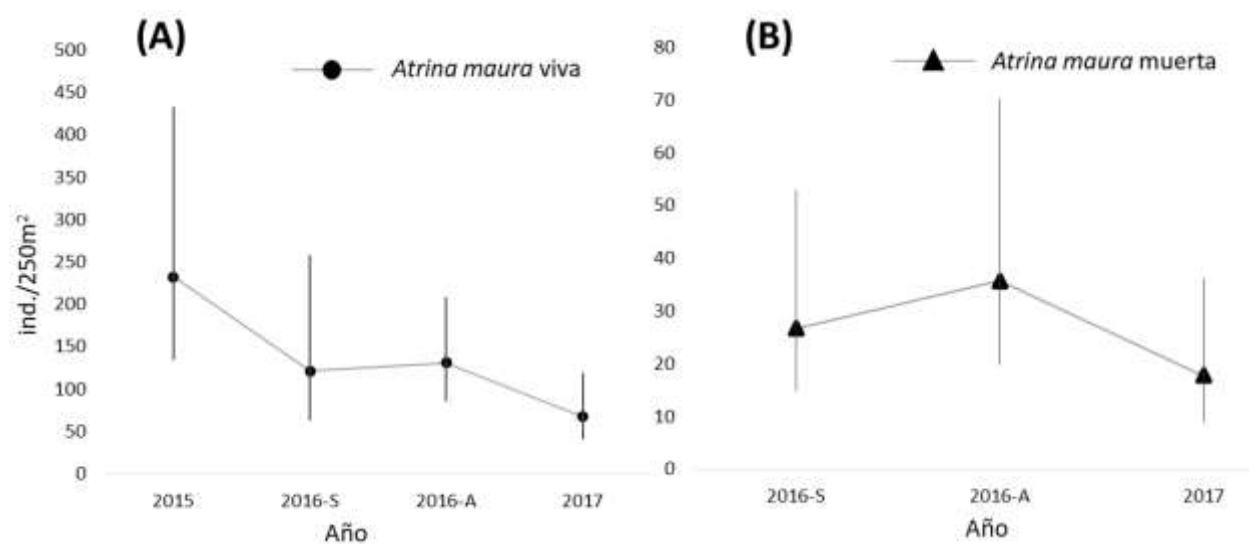
**Figura 20.** Gráficas de probabilidad de log-normalidad de Anderson-Darling (AD) con un valor de crítico ( $AD_{crítico}$ ) de 0.752 para muestras de la población de *Atrina maura* muerta de la Ensenada de La Paz, durante 2016-S, 2016-A y 2017.

Al aplicar el estimador Pennington para calcular la densidad promedio de la población de *A. maura* ante la invasión de *D. stylifera* se observó una tendencia negativa; en el año 2015 de 232.74 ind./250 m<sup>2</sup> vivos (IC = 135.70-431.90 ind./250 m<sup>2</sup>,  $p < 0.05$ ) a 67.97 ind./250 m<sup>2</sup> vivos en 2017 (IC = 41.46-118.70 ind./250 m<sup>2</sup>,  $p < 0.05$ ). En cuanto a la densidad promedio de *A. maura* muerta, no se observa una tendencia, si no un pico en el incremento de organismo muertos ante la invasión de *D. stylifera*. En el año 2016 se incrementó de 26.72 ind./250 m<sup>2</sup> muertos (14.80-52.90 ind./250 m<sup>2</sup>,  $p < 0.05$ ) durante el verano (2016-S), a 35.78 ind./250 m<sup>2</sup> muertos en otoño (2016-A) (19.94-70.22 ind./250 m<sup>2</sup>,  $p < 0.05$ ), y para el 2017 desciende el promedio de organismos muertos a 17.78 ind./250 m<sup>2</sup> (8.90-36.32 ind./250 m<sup>2</sup>,  $p < 0.05$ ) (Tabla VI).

**Tabla VI.** Estimación de la densidad poblacional (ind./250 m<sup>2</sup>) para *Atrina maura* viva y muerta antes, durante y después de la invasión de *Distaplia stylifera* en Ensenada de La Paz, Golfo de California, México.

Año	Estado	Media y	Intervalo inferior	Intervalo superior	Desviación Estándar	Media muestral	Varianza muestral
2015	viva	232.70	135.70	431.90	1.48	4.50	2.18
2016-S	viva	121.57	64.20	257.10	1.03	4.09	1.69
2016-A	viva	131.26	86.73	207.71	1.20	4.28	1.45
2017	viva	67.97	41.46	118.70	1.26	3.06	3.60
2016-S	muerta	26.72	14.8	52.90	1.17	2.79	1.38
2016-A	muerta	35.78	19.94	70.22	1.46	2.83	2.12
2017	muerta	17.78	8.98	36.32	1.33	2.52	1.76

La amplitud de los intervalos de confianza de la estimación poblacional de *A. maura* viva a lo largo de los cuatro monitoreos (2015-2017) se ha ido reduciendo. En 2015 antes de la invasión había una mayor amplitud con un máximo de 431.90 ind./250 m<sup>2</sup>, y el máximo estimado en 2017 después de la invasión que fue de 118.70 ind./250 m<sup>2</sup>; incluso éste máximo está por debajo el mínimo estimado para el 2015 (135.70 ind./250 m<sup>2</sup>). Durante la invasión en verano del 2016 (2016-S) el intervalo de la estimación poblacional fue más amplio (257.10-64.20 ind./250 m<sup>2</sup>) al estimado en otoño (207.71-86.70 ind./250 m<sup>2</sup>) (2016-A); sin embargo, la media estimada fue mayor en otoño de 131.30 ind./250 m<sup>2</sup> a 121.60 ind./250 m<sup>2</sup> del verano (Figura 21A). Con respecto a la amplitud de intervalos de confianza con las densidades estimadas de *A. maura* muerta; otoño del 2016 (2016-A) fue el año con un máximo de 70.20 ind./250 m<sup>2</sup> y mínimo de 19.90 ind./250 m<sup>2</sup>. Siendo 2017 el año con menor amplitud 36.30 ind./250 m<sup>2</sup> y mínimo de 9.0 ind./250 m<sup>2</sup> (Figura 21B).



**Figura 21.** Gráficas con máximos y mínimos de la estimación poblacional de *Atrina maura* viva y muerta de la ensenada de La Paz durante 2015 a 2017. El círculo y triángulo indican la media estimada para cada caso.

## 8. DISCUSIÓN

La evidencia morfológica detallada obtenida en esta investigación indica que los organismos recolectados en la ensenada de La Paz concuerdan con la especie *Distaplia stylifera* de acuerdo con las descripciones por Van Name (1945), Monniot (1988) y Monniot y Monniot (2001) para ejemplares del Indo-Pacífico y Caribe. *Distaplia stylifera* también se ha informado en otras regiones del mundo, lo que sugiere que esta especie tiene una distribución biogeográfica circumtropical previamente informada en el Océano Atlántico, el Mediterráneo, el mar Arábigo, el Indo-Pacífico y el Pacífico Occidental. Por lo tanto, este hallazgo representa una extensión de rango de la especie.

Desafortunadamente, no se pudo obtener secuencias moleculares de las colonias de la Ensenada de La Paz. Aun obteniéndolas, no hubiera sido posible realizar una comparación y argumentar que molecularmente es la misma especie biológica nativa del Mar Rojo, donde fue descrita por primera vez por Kowalevsky (1874), debido a que no existe la secuencia para *D. stylifera* en las bases de datos de GENBANK e iBOLD.

La alta variabilidad encontrada en las diferentes especies de *Distaplia* (Anexo 2), sugiere indicar que para muestras de *D. stylifera* requerirá un muestreo extenso en las áreas principales donde se ha registrado la especie. Tal muestreo es necesario para determinar definitivamente si se trata de una única especie biológica polimórfica con distribución biogeográfica circumtropical o de un grupo de especies relacionadas con patrones de distribución biogeográfica distintos (quizás superpuestos).

Curiosamente, la especie (o algunos miembros del complejo de especies si resulta ser así) probablemente se haya introducido en algunas partes de su distribución. En el Atlántico occidental se encuentra desde Carolina del Norte hasta Brasil. Van Name (1921, bajo el nombre de *D. bursata*) lo registra en muestras de Florida y Jamaica desde 1884. Sin embargo, en Carolina del Norte y en el Mar Caribe se encuentra principalmente en lagunas y estructuras artificiales, puntos de entrada típicos para especies exóticas introducidas. (Rocha *et al.*, 2010; Dias *et al.*, 2013; Villalobos *et al.*, 2017; Streit *et al.*, 2021). Su estado en el Caribe se ha definido



como criptogénico (Streit *et al.*, 2021) o como especie exótica introducida (Rocha *et al.*, 2010). Si finalmente se confirma el estado de introducción en esa área, esta especie representa una amenaza preocupante debido a su capacidad para colonizar superficies rápidamente y desplazar a otras especies bénticas (Rocha *et al.*, 2010). La especie parece estar expandiéndose hacia el sur y estuvo presente desde la década de 2000 en la región de San Paulo de Brasil, donde se encuentra solo en sustratos artificiales (Dias *et al.*, 2013).

La clasificación de una especie como nativa o exótica es independiente de su impacto ecológico. Un debate reciente sobre el tema concluyó que incluso las especies nativas pueden comportarse como invasoras (es decir, aumentando la abundancia y alterando los ecosistemas) y las especies exóticas en realidad pueden aumentar la biodiversidad en lugar de disminuirla en los ecosistemas marinos (Valéry *et al.*, 2008, 2009; Warren, 2021). Estos desacuerdos surgen principalmente de la falta de coherencia de los dos principales criterios actuales, el criterio geográfico (o biogeográfico) y el criterio de impacto, para definir lo que realmente se entiende por “invasión” (Valéry *et al.*, 2008). Hasta que se aclare el estado taxonómico exacto de *D. stylifera*, debemos ser conservadores y no podemos evaluar definitivamente si es una especie introducida o nativa en el área estudiada. Sin embargo, después de causar un evento de mortalidad masiva de hachas durante 2016-2017 en la Ensenada de La Paz, es claro que *D. stylifera* puede comportarse como una especie invasora típica (en términos de impacto). Este hecho, junto con un probable historial de introducción anterior en el Atlántico occidental y la falta de informes en el Pacífico oriental, sugiere fuertemente que se trata de un recién llegado al Golfo de California. Si este es el caso, no está claro si la población detectada en esta región fue introducida de poblaciones del Pacífico occidental o de poblaciones del Atlántico a través del Canal de Panamá. El tráfico marítimo parece el vector de introducción más probable, y la propagación secundaria por pequeñas embarcaciones a los puertos en las cercanías de la Ensenada de la Paz puede explicar su llegada allí. El origen, el número de eventos de introducción y la existencia o no de cuellos de botella durante la introducción solo pueden determinarse con estudios genéticos detallados de poblaciones mundiales. Por el momento, las acciones constantes de monitoreo y erradicación parecen las únicas medidas factibles para controlar su crecimiento y evitar una mayor expansión independientemente de si se trata de una especie invasora nativa o exótica (Valéry *et al.*, 2008; 2009; Warren, 2021).

Después de varios años de la recuperación de la población económicamente valiosa de *A. maura* a través de un programa de restauración activo y exitoso sin cosechar en una bahía subtropical, una colonización abrupta y rápida de la ascidia *D. stylifera* resultó en un evento de mortalidad masiva de los bancos de *A. maura*. Nuestros resultados indican que los principales factores detrás del crecimiento poblacional abrupto de la ascidia durante el verano de 2016; paradójicamente, estuvo relacionado con la abundante disponibilidad de sustrato proporcionado por las valvas de hachas que alcanzaron densidades  $> 47$  inds./250 m<sup>2</sup>. El único informe anterior de un evento masivo de colonización epibiotica de ascidias en granjas de bivalvos en el Pacífico oriental subtropical ocurrió en granjas de ostras en Bahía San Quintín, Baja California, México (Rodríguez e Ibarra-Obando, 2009). Sin embargo, en este caso el cultivo suspendido (cuerdas y jaulas) y las valvas de las ostras proporcionaron sustrato adecuado a las ascidias en un hábitat tridimensional (Rodríguez e Ibarra-Obando, 2009). El impacto de la cobertura de incrustaciones en las ostras no se estimó en Bahía San Quintín. Estudios anteriores en otros lugares mostraron efectos negativos de las incrustaciones en el crecimiento de la vieira gigante *Placopecten magellanicus* (Gmelin, 1791) en Canadá (Claereboudt *et al.*, 1994), en las ostras de perla de labios plateados *Pinctada maxima* (Jameson, 1901) en Indonesia (Taylor *et al.*, 1997) y sobre la vieira *Euvola ziczac* (Linnaeus, 1758) y la ostra perla *Pinctada imbricata* Röding, 1798 en Venezuela (Lodeiros y Himmelman, 1996; Lodeiros *et al.*, 2002). En todos estos casos, los efectos de los epibiontes sobre los bivalvos se determinaron comparando el crecimiento de moluscos con y sin epibiontes. Tres especies de epibiontes (incluida la ascidia *Didemnum perlucidum* Monniot F., 1983) cubrieron al menos el 70% de la población de mejillones *Perna perna* (Linnaeus, 1758) y dieron como resultados individuos de 19% a 36% más pequeños y con  $\sim 60\%$  menos peso corporal que los mejillones sin epibiontes (Lins y Rocha, 2020). Por lo tanto, existe evidencia de que la invasión es de mayor impacto negativo en cultivos suspendidos (en 3D) que en cultivos en el fondo marino (en 2D). Las valvas del hacha son distintas porque después de la fase de larvas zooplanctónicas (etapas de trocófora y velo), la larva se asienta en un sustrato blando sujeta con el biso donde se entierran en la arena/fango dejando expuesta la punta de las valvas para alimentarse de fito y zooplancton y respirar.

Las áreas con mayor cobertura de ascidias en valvas de las hachas se ubicaron a lo largo del canal de mareas hasta la Ensenada de La Paz, extendiéndose hacia la costa sureste y suroeste

del Mogote. Estas coincidieron con las áreas con mayor densidad de *A. maura* viva y muerta. Por lo tanto, la mortalidad masiva de *A. maura* está significativamente asociada con la alta proporción de cobertura de *D. stylifera* observada en el verano de 2016. En un esfuerzo por disminuir la mortalidad y las pérdidas económicas del hacha, los pescadores llevaron a cabo dos costosas y laboriosas operaciones de extracción de *D. stylifera* durante sep-nov de 2016 (se removieron 34.7 t de ascidias peso húmedo) y ene-mar de 2017 (142.3 t de ascidias peso húmedo). Sin embargo, debido al pequeño tamaño de las áreas donde se extrajeron las ascidias, es probable que el efecto fuera insignificante en la población general de ascidias. No obstante, el monitoreo de otoño de 2017 mostró una reducción notable en la cobertura de ascidias, probablemente como resultado de factores ambientales no relacionados con los esfuerzos de remoción. Desafortunadamente, la reducción de la cobertura de ascidia no se produjo lo suficientemente rápido para evitar la mortalidad masiva de las hachas, lo que resultó en un serio revés para el programa de recuperación de esta población.

En la presente tesis doctoral se demostró una correlación positiva significativa entre la densidad del hacha y la cobertura de las ascidias, mostrando que las valvas del hacha proporcionaron un sustrato favorable para el evento de colonización observado. El hallazgo sobre la relación entre la cobertura de *D. stylifera*, el sustrato disponible del hacha (*A. maura* vivo + muerto) y las anomalías de las cinco variables ambientales (A\_OD + A\_pH + A\_Sal + A\_TSM + A\_ChI- $\alpha$ ) demostraron que la densidad del hacha (como indicador del sustrato disponible para *D. stylifera*) fue el único factor predictivo significativo para explicar la mortalidad masiva. Estudios previos han demostrado los efectos de algunas variables ambientales en ascidias. Por ejemplo, *Ciona intestinalis* se desarrolla y se reproduce de manera eficiente en agua de mar con condiciones básicas entre 7.4 y 8.8 pH (Bellas *et al.*, 2003). El pH registrado en Ensenada de La Paz durante 2016 a 2017 estuvo dentro de este rango (7.7 a 8.3 pH) (imágenes LANDSAT-8) sugiriendo que el pH proporcionó condiciones favorables para el aumento de *D. stylifera* durante 2016 cuando se observó el mayor número de valvas muertas con la ascidia como epibionte (asumiendo que las condiciones favorables de pH para *C. intestinalis* sean las mismas que para *D. stylifera*). Además, se espera que el crecimiento de las ascidias y la reproducción sexual y asexual aumenten a mayor TSM (Rodríguez e Ibarra-Obando, 2009; Svane y Young, 1989). 2016 fue el año más cálido registrado mundialmente entre 1880 y 2018 (Meijers *et al.*,

2019) y también el año más cálido registrado entre 2002 y 2018 en la región suroeste del Golfo de California (Ahern *et al.*, 2018; Martínez-Soler *et al.*, 2021). Aunque la TSM en la Ensenada de La Paz durante 2016 tuvo promedios mensuales por debajo del promedio en el período comprendido entre 2013 y 2018. La expectativa inicial era que las condiciones ambientales específicas podrían proporcionar un entorno apropiado para la rápida expansión de la población de la ascidia y que la heterogeneidad espacial de las variables ambientales proporcionaría suficiente contraste para inferir las preferencias del hábitat de *D. stylifera*. Sin embargo, el análisis estadístico no encontró ningún efecto significativo del OD, salinidad, TSM, pH y concentración superficial de clorofila-*a* en la proporción de cobertura de *D. stylifera*. Los resultados indican que la heterogeneidad ambiental no fueron factores estadísticamente relevantes en el proceso de colonización de la ascidia. Claramente, se requieren estudios biológicos adicionales para corroborar cuáles variables ambientales y rango de valores favorecen el crecimiento poblacional de *D. stylifera* y conocer cuál es el patrón de distribución en México y Pacífico este. Aunque se demostró que el crecimiento de la población de *D. stylifera* se asoció principalmente con la disponibilidad de sustrato de *A. maura*, se considera que el modo de reproducción de las ascidias también fue altamente influyente. Las ascidias de la familia Holozoidae son típicamente hermafroditas con estrategias reproductivas sexuales y asexuales alternas o simultáneas (Svane y Young, 1989) y se reproducen típicamente durante el verano en latitudes subtropicales (Berrill, 1935; Sabbadin, 1960). Después de la reproducción sexual, las larvas tienen una breve fase planctónica que dura 1 día y experimenta una metamorfosis antes de asentarse en el hábitat bentónico (Berrill, 1935; Lambert, 2005). Las fuertes corrientes de marea que ocurren en La Ensenada de La Paz facilitan la dispersión de larvas zooplanctónicas, mientras que la reproducción asexual aseguraría efectivamente un crecimiento poblacional rápido y constante de las colonias de ascidias cercanas independientemente de las fuertes corrientes de marea de la región. Es posible que aquellas áreas con altas densidades de sustrato de *A. maura* facilitaron la reproducción asexual de *D. stylifera* que permitió el rápido crecimiento de la población y la formación de grandes colonias de ascidias en cada individuo de *A. maura* siendo capaces de alcanzar colonias cercanas, formando tapetes, que efectivamente destruyeron las valvas del hacha durante el verano de 2016. Esta estrategia de reproducción asexual podría ser considerada para control de futuros episodios de colonización. Una estrategia potencialmente útil es el "adelgazamiento" de los

bancos de hacha de alta densidad para reducir el posible hábitat adecuado para el crecimiento poblacional de las ascidias. Sin embargo, la distancia óptima entre los individuos de *A. maura* aún no está claramente definido debido a la falta de conocimiento sobre la estrategia de reproducción y las capacidades de dispersión zooplanctónica de *D. stylifera*.

Los resultados demostraron que el principal factor que impulsa la mortalidad de *A. maura* fue la cobertura de ascidias seguido como factores secundarios la salinidad, la TSM y el OD. Esto indica una asociación positiva entre la cobertura de ascidias y la densidad de hachas muertas. En general, el GAM ajustado predice que la densidad de *A. maura* muerta aumenta cuando la cobertura de *D. stylifera* es  $> 8\%$ , salinidad  $> 37.3$  UPS, TSM  $< 27.1^{\circ}$  C y OD  $> 5.05$  mg O<sub>2</sub>/L. *Atrina maura* cuenta con una estrategia de reproducción sexual oportunista en La Ensenada de La Paz, que permite la reabsorción de gametos (evitando la pérdida de masa corporal) cuando ocurren condiciones climáticas desfavorables (como las condiciones ocurridas durante el evento de El Niño ocurridas en 2004 y 2005) y una distribución de excedente de energía para la reproducción en condiciones favorables (como las condiciones de La Niña 2007 y 2008) (Camacho-Mondragón, 2008, 2012; Camacho-Mondragón *et al.*, 2009). Una serie de tiempo de TSM de 2002 a 2018 en la costa suroeste del Golfo de California mostró que se produjeron condiciones cálidas anómalas debido a dos procesos distintos, una onda de calor regional durante enero y agosto de 2014 (anomalías positivas de TSM pero no MEI positivo) y El Niño 2015–2016 ecuatorial que fue regionalmente evidente entre enero de 2015 y febrero de 2016 con anomalías levemente negativas durante el resto de 2016 (Martínez-Soler *et al.*, 2021). En el presente estudio se encontró una tendencia similar de la TSM en La Ensenada de La Paz. Se especula que el efecto combinado de un mayor crecimiento de *D. stylifera* y la reabsorción de gónadas de *A. maura* debido a El Niño 2015-2016 dieron como resultado una retroalimentación negativa para la población del hacha. Cabe señalar que la tormenta tropical Javier (7 al 9 de agosto de 2016), el huracán Newton (4 a 7 de septiembre de 2016) y la tormenta tropical Lidia (31 de agosto a 2 de septiembre de 2017) azotaron la región, lo que provocó pulsos de esorrentía de agua dulce y un aumento en la entrada de sedimentos terrígenos a la ensenada. Las valvas del hacha pueden resistir estos eventos desfavorables de corta duración cerrando sus valvas, mientras que las ascidias están completamente expuestas y se espera que sean sustancialmente más vulnerables a estos rápidos eventos de cambios de salinidad. Esto se

apoya en la observación visual de colonias de ascidias desprendidas de las conchas días después de las tormentas (Ramírez-Luna, observación personal). Estas observaciones concuerdan con Dijkstra y Simkanin (2016) y Rocha *et al.* (2017) que reportan que las ascidias no toleran la baja salinidad del agua de mar o los cambios rápidos en la salinidad. La entrada de grandes cantidades de agua dulce en pulsos repentinos puede potencialmente causar una alta mortalidad de *D. stylifera* o al menos la disminución de las tasas de crecimiento demográfico (Goodbody, 1961). La dramática disminución del área de cobertura de *D. stylifera* observada durante la prospección de otoño de 2017 probablemente estuvo asociada con estos eventos de baja salinidad y no con las operaciones de extracción de tunicados durante septiembre y noviembre de 2016 y enero-marzo de 2017.

Con los resultados que indican que la cobertura de ascidias seguido de cambios de la salinidad, la TSM y la concentración de OD fueron las variables que impulsaron la mortalidad masiva de *A. maura*. Es importante conocer estadísticamente cómo se vio afectada la población del hacha. Por lo que la estimación poblacional que se realizó durante 2015, 2016-S, 2016-A y 2017, mostró que población de *A. maura* sufrió cambios en la densidad poblacional durante y después de la invasión registrada por *D. stylifera*. En 2015, cuando se observaron los primeros brotes del tunicado, la población del hacha se encontraba en su promedio más alto 232.74 ind/250 m<sup>2</sup> de los años muestreados 2015–2017, el cual fue disminuyendo con los años. Incluso en 2017, después de la extracción del tunicado y de los eventos meteorológicos previamente mencionados en septiembre de 2016 y agosto-septiembre de 2017. Lo cual muestra un impacto importante ante la recuperación de la población del hacha.

La densidad de *A. maura* muerta tuvo su pico máximo en otoño de 2016, 35.78 ind/250 m<sup>2</sup> y el año siguiente disminuyó a 17.78 ind/250 m<sup>2</sup>, incluso más que lo observado durante el verano de 2016, cuando se registró la mayor cobertura de *D. stylifera*. Lo cual puede ser un indicador de que la población del hacha de alguna manera se está recuperando, aunque lentamente.

## 9 CONCLUSIONES

1.- Morfológicamente las ascidias colectadas en la Ensenada de La Paz 2015–2017 coincide con las características morfológicas diagnósticas descritas en *Distaplia stylifera* distribuida en zonas tropicales del Océano Indo-Pacífico y Caribe. Sin embargo, la especie no cuenta con una secuencia Cox1 de ninguna parte del mundo porque no puede ser comparada molecularmente. La especie *D. stylifera* de la Ensenada de La Paz se define como especie criptogénica con un comportamiento invasor.

- Las especies del género *Distaplia* tienen un genoma mitocondrial *Cox1* inusualmente divergente.

2.- La cobertura de *Distaplia stylifera* en la Ensenada de La Paz estuvo fuertemente relacionada con la densidad poblacional de *Atrina maura* en verano de 2016. Es decir, organismos de *A. maura* vivos y/o muertos crearon sustrato para el asentamiento de larvas de *D. stylifera* favoreciendo su crecimiento poblacional.

- La campaña de limpieza en la Ensenada La Paz enfocada en la restauración de la población de las tres especies de hachas, las dejó expuestas y como único sustrato disponible ante organismos epibiónticos.

3.- El principal factor que impulsa la mortalidad de *A. maura* ocurre cuando la cobertura de *D. stylifera* fue > 8%, seguido de la salinidad > 37.3 UPS, TSM < 27.1° C y OD > 5.05 mg O<sub>2</sub>/L.

### 9.1 Perspectivas

Los esfuerzos de remoción de la ascidia llevados a cabo (177 Ton. de peso húmedo extraído) fueron costosos, consumieron mucho tiempo, espacialmente limitados pero ineficaces. Las tormentas tropicales y huracanes que azotaron estacionalmente la región fueron probablemente las causas de la casi desaparición del tunicado durante el otoño de 2017. La detección temprana y cosecha de callo de hacha a la primera detección de la ascidia *D. stylifera* puede evitar futuras pérdidas económicas. Se propone eliminar todo el sustrato artificial no necesario y la remoción de valvas del hacha muerta. Esta estrategia evitará el crecimiento excesivo de la ascidia y reducirá los costos en la remoción manual de la ascidia. También se

sugiere que el aclareo de las orillas mediante la cosecha debe realizarse tan pronto como aparezcan las ascidias en la orilla. Esta acción evitaría mayores pérdidas económicas para los pescadores locales que protegen y cultivan esta especie de moluscos económicamente valiosa. La investigación futura se debe realizar un trabajo experimental para inferir los efectos de la cobertura de ascidia sobre la tasa de crecimiento y la biomasa de los callos de hacha y determinar si la mortalidad se debe a asfixia o inanición. También abordar el papel de las estrategias reproductivas sexuales y asexuales en los procesos de colonización y expansión espacial del tunicado.



## 10 LITERATURA CITADA

Ahern A, Gómez-Gutiérrez J, Aburto-Oropeza O, Saldierna-Martínez RJ, Johnson A, Harada A, Sánchez-Uvera A, Erisman B, Castro-Arvizú D, Burton R. (2018). DNA sequencing of fish eggs and larvae reveals high species diversity and seasonal changes in spawning activity in the southeastern Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series*, 592: 158–179. doi.org/10.3354/meps12446.

Bellas J, Beiras R, Vázquez E. (2003). A standardization of *Ciona intestinalis* (Chordata, Ascidiacea) embryo-larval bioassay for ecotoxicological studies. *Water Research*, 37: 4613–4622. doi.org/10.1016/S0043-1354(03)00396-8.

Blackburn TM, Pyšek P, Bacher S, Carlton JT, Duncan RP, Jarošík V, Wilson JR, Richardson DM. (2011). A proposed unified framework for biological invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 26: 333–339. doi.org/10.1016/j.tree.2011.03.023.

Bryon DA, Scavia D. (2008). *An Integrated Assessment of the Continued Spread and Potential Impacts of the Colonial Ascidian, Didemnum sp.* in U.S. Waters. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS. 78: 61 pp.

Chan DHL, Chan BKK. (2005). Effect of epibiosis on the fitness of the sandy shore snail *Batillaria zonalis* in Hong Kong. *Marine Biology*, 146(4): 695–705.

Camacho-Mondragón MA. (2009). *Efecto de los fenómenos de "El Niño" y "La Niña" en la reproducción del hacha china Atrina maura (Sowerby, 1835) (bivalvia: pinnidae) en la Ensenada de La Paz, BCS, México. Tesis Doctoral.* Instituto Politécnico Nacional, Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.

Camacho-Mondragón MA, Arellano-Martínez M, Ceballos-Vázquez B. (2008). Variation of the condition, muscle yield and mantle indices in *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia: Pinnidae) in the Ensenada de La Paz, B.C.S., Mexico. *CICIMAR Océánides*. 23(1,2): 11–18.

Camacho-Mondragón MA, Arellano-Martínez M., Ceballos-Vázquez BP. (2012). Particular features of gonadal maturation and size at first maturity in *Atrina maura* (Bivalvia: Pinnidae). *Scientia Marina*, 76(3): 539–548.

Carver CE, Mallet AL, Vercaemer B. (2006). Biological synopsis of the colonial tunicates, *Botryllus schlosseri* and *Botrylloides violaceus*. *Canadian Manuscript Report of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2747: 42 pp.

Carlton JT. (1996). Biological invasions and cryptogenic species. *Ecology*. 77(6):1653–1655. doi.org/10.2307/2265767

CBD. (2022). *Glossary of terms. Convention on Biological Diversity.* Sitio web: www.cbd.int/invasive/terms.shtml. [Consulta el 18 abril, 2022].

Claereboudt MR, Bureau D, Cote J, Himmelman JH. (1994). Fouling development and its effect on the growth of juvenile giant scallops (*Placopecten magellanicus*) in suspended culture. *Aquaculture*, 121; 327–342. doi.org/10.1016/0044-8486(94)90268-2.

Comeau LA, Filgueira R, Guyondet T, Sonier R. (2015). The impact of invasive tunicates on the demand for phytoplankton in longline mussel farms. *Aquaculture*, 441: 95–105. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2015.02.018

Cole L, Lambert G. (2009). *Tunicata (Urochordata) of the Gulf of Mexico*, Pp. 1209–1216 in Felder, D.L. and D.K. Camp (eds.), *Gulf of Mexico—Origins, Waters, and Biota. Biodiversity*. Texas A&M Press, College Station, Texas.

Coronel JS. 1981. *Estudio gonadal de Pinna rugosa (Sowerby, 1983) Pinnidae, Mollusca, en el periodo comprendido entre agosto de 1979 y diciembre de 1980 en la Bahía de La Paz. Tesis de licenciatura*. Universidad autónoma de Baja California Sur, México, 36 p.

Crooks JA. (2005). Lag times and exotic species: The ecology and management of biological invasions in slow-motion. *Écoscience*, 12(3):316-329. doi:10.2980/i1195-6860-12-3-316.1

Cruz-Orozco R, Rojo P, Godínez L, Nava E. (1989). Topografía, hidrología y sedimentos de los márgenes de la Laguna de La Paz, B.C.S. *Revista de Investigación Científica*, 1: 3–15.

Development Team. (2020). QGIS Geographic Information System. Open-source geospatial foundation project. Version QGIS 3.12.0 'București'. <http://qgis.osgeo.org>

Dias GM, Rocha RM, Lotufo TMC, Kremer IP. (2013). Fifty years of ascidian biodiversity research in São Sebastião, Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 93(1): 273–282. doi:10.1017/S002531541200063X

Diario Oficial de la Federación. (2018). ACUERDO por el que se da a conocer la actualización de la Carta Nacional Pesquera 2017. pp. 69.

Dijkstra JA, Simkanin C. (2016). Intraspecific response of colonial ascidians to variable salinity stress in an era of global change. *Marine Ecology Progress Series*, 551: 215–225. <http://dx.doi.org/10.3354/meps11719>.

Erba E, Bergamaschi D, Bassano L, Damia G, Ronzoni S, Faircloth GT, D'Incalci M. (2001). Ecteinascidin–743 (ET–743), a natural marine compound, with a unique mechanism of action. *European Journal of Cancer*, 37:97–105.

Espinoza A. 1977. *Los principales parámetros físico–químicos de las aguas de la Ensenada de La Paz B.C.S.* Informe de labores. CIB (Inédito).

Evans JS, Erwin PM, Sihaloho HF, López-Legentil S. (2021). Cryptic genetic lineages of a colonial ascidian host distinct microbiomes. *Zoologica Scripta*, 50(4), 423–438. <https://doi.org/10.1111/ZSC.12482>.

Fedorov SN, Radchenko OS, Shubina LK, Balaneva NN, Bode AM, Stonik VA, Dong Z. (2006).

Evaluation of Cancer–Preventive Activity and Structure–Activity Relationships of 3–Demethylubiquinone Q2, Isolated from the Ascidian *Aplidium glabrum*, and its Synthetic Analogs. *Pharmaceutical Research*, 23(1): 104–114.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3(5), 294–299. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7881515>

García-March JR. (2005). *Aportaciones al conocimiento de la biología de Pinna nobilis Lineo, 1758 (Mollusca: Bivalvia) en el litoral mediterráneo ibérico. Tesis de doctorado*. Universidad de Valencia, España, 335 p.

Góngora-Gómez A, García-Ulloa M, Arellano-Martínez M, Abad S, Domínguez A, Ponce-Palafox J. (2016). Annual reproductive cycle and growth of the pen shell *Atrina maura* (Pterioidea: Pinnidae) on sand-bottom culture in the Ensenada Pabellones lagoon system, Gulf of California, Mexico. *Invertebrate Reproduction and Development*, 60: 28–38. <https://doi.org/10.1080/07924259.2015.1126535>.

Goodbody I. (1961). Mass mortality of a marine fauna following tropical rains. *Ecology*, 42: 150–155. <http://dx.doi.org/10.2307/1933276>.

Gutt J, Schickan T. (1998). Epibiotic relationships in the Antarctic benthos. *Antarctic Science*, 10(4): 398–405.

Hastie T, Tibshirani R. (1995). Generalized additive models for medical research. *Statistical Methods in Medical Research*, 4(3): 187–196. <https://doi.org/10.1177/096228029500400302>

Hudson J, Castilla JC, Teskec PR, Beheregarayd LB, Haigha ID, McQuaide CD, Rius M. (2021).

Genomics-informed models reveal extensive stretches of coastline under threat by an ecologically dominant invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 118(23): 1–7. <https://doi.org/10.1073/pnas.2022169118>

Iannelli F, Griggio F, Pesole G, Gissi C. (2007). The mitochondrial genome of *Phallusia mammillata* and *Phallusia fumigata* (Tunicata, Ascidiacea): High genome plasticity at intra-genus level. *Evolutionary Biology*, 7(1): 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-155/FIGURES/5>.

- Jensen W, Alexander M. 2016. Statistics for Engineering and the Sciences. *Journal Quality Technical*, 48(3): 297–299. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00224065.2016.11918168>
- Kearse M, Moir R, Wilson A, Stones-Havas S, Cheung M, Sturrock S, Buxton S, Cooper A, Markowitz S, Duran S, Thierer T, Ashton B, Meintjes P, Drummond A. (2012). Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, 28(12): 1647–1649. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bts199>
- Kennedy H, Richardson CA, Duarte CM, Kennedy DP. (2001). Diet and association of *Pontonia pinnophylax* in *Pinna nobilis*: insights from stable isotope analysis. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*, 81(1): 177–178.
- Kott P. (1990). The Australian Ascidiacea, part 2, Aplousobranchia (1). *Memoirs of the Queensland Museum*, 29(1): 1–226. <https://biostor.org/reference/109666>
- Kott P. (2002). Ascidiacea (Tunicata) from Darwin, Northern Territory, Australia. *The Beagle: Records of the Museums and Art Galleries of the Northern Territory*, 18: 19–55. <https://doi.org/10.5962/p.286295>
- Kowalevsky A. (1874). Ueber die Knospung der Ascidien. *Archiv für mikroskopische Anatomie*, 10: 441–470. <https://doi.org/10.1007/BF02960331>
- Lambert C, Lambert G. (2003). Persistence and differential distribution of nonindigenous ascidians in harbors of the Southern California Bight. *Marine Ecology Progress Series*, 259:145–161.
- Lambert G. (2005). Ecology and natural history of the protochordates. *Canadian Journal of Zoology*, 83: 34–50. <http://dx.doi.org/10.1139/z04-156>.
- Lambert G. (2009). Adventures of a sea squirt sleuth: Unraveling the identity of *Didemnum vexillum*, a global ascidian invader: *Aquatic Invasions*, 4(1): 5–28.
- Lee S-CS, Chan Y-HJ, Teo L-MS, Lambert G. (2016). State of knowledge of ascidian diversity in South China Sea and new records for Singapore. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 34: 718–743. <http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:C08CD6BB-D7E2-41B2-A948-63FEF30D92A1>
- Leyva-Valencia I. (1999). *Termotolerancia, halotolerancia y temperatura óptima en juveniles de callo de hacha (Atrina maura Sowerby, 1835)*. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Iztalaca, México, 54 pp.
- Lins DM, Rocha RM. (2020). Cultivated brown mussel (*Perna perna*) size is reduced through the impact of three invasive fouling species in southern Brazil. *Aquatic Invasions*, 15(1): 114–126. <http://dx.doi.org/10.3391/ai.2020.15.1.08>.

Lockwood V, Cassey P, Blackburn T. (2005). The role of propagule pressure in explaining species invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(5): 223–228. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2005.02.004>

Lodeiros C, Himmelman JH. (1996). Influence of fouling on the growth and survival of the tropical scallop, *Euvola (Pecten) ziczac* L. 1758 in suspended culture. *Aquaculture Research*, 27: 749–756. [doi.org/10.1111/j.1365-2109.1996.tb01233.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.1996.tb01233.x).

Lodeiros C, Pico D, Prieto A, Narvaez N, Guerra A. (2002). Growth and survival of the pearl oyster *Pinctada imbricata* (Röding 1758) in suspended and bottom culture in the Golfo de Cariaco, Venezuela. *Aquaculture International*, 10: 327–338. [doi.org/10.1023/A:1022451608405](https://doi.org/10.1023/A:1022451608405).

Martínez-Soler E, De Silva-Dávila R, Gómez-Gutiérrez JE, González-Rodríguez, Aburto-Oropeza O. (2021). Cephalopod paralarval species richness, abundance, and size structure during 2014–2017 anomalous warm period at south Gulf of California. *Journal Plankton Research*, 43(2): 224–243. [doi.org/10.1093/plankt/fbab010](https://doi.org/10.1093/plankt/fbab010)

Matus-Hernández MA, Martínez-Rincón RO, Aviña-Hernández RJ, NY Hernández-Saavedra. (2019). Landsat-derived environmental factors to describe habitat preferences and spatiotemporal distribution of phytoplankton. *Ecological Modelling*, 408: 108579. [doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108759](https://doi.org/10.1016/j.ecolmodel.2019.108759).

Meijers AJ, Sallée B, Grey A, Johnson K, Arrigo K, Swart S, King B, Mazloff M. (2019): Southern Ocean [in “State of the Climate in 2018”]. *The Bulletin of the American Meteorological Society*, 100 (9): S181–S185. [doi.org/10.1175/2019BAMSStateoftheClimate.1](https://doi.org/10.1175/2019BAMSStateoftheClimate.1).

Millar RH. (1963). Australian ascidian in the British Museum (Natural History). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 141 (3): 113–221.

Millar RH. (1966). Port Phillip survey 1957-1963. *Memoirs Museum Victoria*, 27: 357–385.

Millar RH. (1975). Ascidiens from the Indo-West-Pacific region in the Zoological Museum, Copenhagen (Tunicata, Ascidiacea). *Steenstrupia Zoological Museum University Copenhagen*, 3: 205–336. <http://pascalrancis.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=PASCAL7650137148>

Minitab LLC. (2022). Minitab®19, URL. <https://www.minitab.com/es-mx/support/downloads/#mtb19Files>

Monniot C, Monniot F. (1984). Ascidies littorales de Guadalupe VII. Espèces nouvelles et complémentaires á l ’inventaire. *Bulletin du Muséum National d’Histoire Naturelle Paris*, 6(3): 567–582.

Monniot F. (1988). Ascidies de Nouvelle-Calédonie. V. Polycitoridae du lagon. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle Paris*, 10(2): 1979–235. <https://biostor.org/reference/253803>

Monniot F. (2012). Some ascidians from the southern coast of Madagascar collected during the “AtimoVatae” survey. *Zootaxa*, 3197: 1–42. doi.org/10.11646/zootaxa.3197.1.1

Monniot F, Monniot C. (2001). Ascidians from the tropical western Pacific. *Zoosytema*, 23(2): 201–389. <https://sciencepress.mnhn.fr/sites/default/files/articles/pdf/z2001n2a1.pdf>

Morgulis A, Coulouris G, Raytselis Y, Madden TL, Agarwala R, Schäffer AA. (2008). Database indexing for production MegaBLAST searches. *Bioinformatics*, 24(16): 1757–1764. doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTN322.

Munguia P. (2004). Successional patterns on pen shell communities a local and regional scales. *Journal of Animal Ecology*, 73: 64–74. doi.org/10.1111/j.1365-2656.2004.00778.x.

Munguia P. (2007). Spatial structure of communities on dead pen shells (*Atrina rigida*) in sea grass beds. *Marine Biology*, 152 (1): 149–156. doi.org/10.1007/s00227-007-0670-8.

Naylor R, Burke M. (2005). Aquaculture and ocean resources: Raising tigers of the sea. *The Annual Review of Environment and Resources*, 30: 185–218. 10.1146/annurev.energy.30.081804.121034

NOS. (2015). *Aprovechamiento sustentable de callo de hacha y almeja catarina en La Ensenada de La Paz*, BCS. Resumen Ejecutivo, Noroeste Sustentable A. C. 42 pp.

NOS. (2018). *Reporte de biológico de callo de hacha en La Ensenada de La Paz*, BCS. Resumen Ejecutivo, Noroeste Sustentable A. C. 53 pp.

Obeso-Nieblas M, Shirasago-Germán B, Gaviño-Rodríguez J, Pérez-Lezama E, Obeso-Huerta H, Jiménez-Illescas A. (2008). Variabilidad hidrológica en Bahía de La Paz, Golfo de California, México (1995–2005) *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 43(3):559–567.

Okolodkov YB, Bastida-Zavala R, Ibáñez AL JW, Chapman E, Suárez-Morales F, Pedroche, Gutiérrez-Mendieta F. (2007). Especies acuáticas no indígenas en México. *Ciencia y Mar*, XI (32): 29–67. REVISTA 32 (unam.mx)

Petersen JK. (2007). Ascidian suspension feeding. *The Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 342: 127–137. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2006.10.023>.

PharmaMar. (2018). *Encuentro con analistas e inversores*. Internet <http://www.pharmamar.com>. [consulta 10/08/2018].

Poutiers JM. (1995). Bivalves, 1: 100–222. En: Fisher W, Krupp F, Schneider W, Sommer C, Carpenter KE, Holton JR. (Eds.) *International Geophysics, Series*. Vol. 46. Academic Press, 288.

Ramsay A, Davidson J, Landry T, Arsenault G. 2008. Process of invasiveness among exotic tunicates in Prince Edward Island, Canada. *Biological Invasions*, 10: 1311–1316. doi.org/10.1007/s10530-007-9205-y.

R Core Team. (2020). *R: A Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

Ricciardi A, Whoriskey FG, Rasmussen JB. 1995. Predicting the intensity and impact of *Dreissena infestation* on native unionid bivalves from *Dreissena* field density. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 52: 1449–1461.

Ricker WE. (1979). *Growth rates and models*. En: Hoar WS, Randall DJ, Brett JR. (Eds.) *Fish Physiology*. (3). Academic Press, New York, USA. 667–743 pp.

Rocha RM, Kremer LP, Baptista MS, Metri R. (2009). Bivalve cultures provide habitat for exotic tunicates in southern Brazil. *Aquatic Invasions*, 4 (1): 195–205. doi.org/10.3391/ai.2009.4.1.20.

Rocha R, Guerra-Castro E, Lira C, Márquez S, Hernández I, Pérez A, Sardi A, Pérez J, Herrera C, Carbonini AK, Caraballo V, Salazar D, Diaz MC, Cruz-Motta JJ. (2010). Inventory of ascidians (Tunicata, Ascidiacea) from the National Park La Restinga, Isla Margarita, Venezuela. *Biota Neotropica*, 10(1): 209–218. doi.org/10.1590/S1676-06032010000100021.

Rocha RM, Dias GM, Lofuto TMC. (2011). Checklist of ascidians (Tunicata, Ascidiacea) from São Paulo State, Brazil. *Biota Neotropica*, 11(1): 1–11. <http://www.biotaneotropica.org.br/v11n1a/en/abstract?inventory+bn0391101a2011>

Rocha RM, Zanata TB, Moreno TR. (2012). Keys for the identification of families and genera of Atlantic shallow water ascidians. *Biota Neotropica*, 12(1): 260–303. <https://doi.org/10.1590/S1676-06032012000100022>

Rocha RM, Castellano GC, Freire CA. (2017). Physiological tolerance as a tool to support invasion risk assessment of tropical ascidians. *Marine Ecology Progress Series*, 577: 105–119. <http://dx.doi.org/10.3354/meps12225>.

Rodríguez LF, Ibarra-Obando SE. (2009). Cover and colonization of commercial oyster (*Crassostrea gigas*) shells by fouling organisms in San Quintin Bay, Mexico. *Journal of Shellfish Research*, 27(2): 337–343. [https://doi.org/10.2983/0730-8000\(2008\)27\[337:CACOCO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.2983/0730-8000(2008)27[337:CACOCO]2.0.CO;2)

Rodríguez-Jaramillo C, Maeda-Martínez AN, Valdez ME, Reynoso-Granados T, Monsalvo-Spencer P, Prado-Ancona D, Cardoza-Velasco F, Robles-Mungaray M, Sicard MT. (2001). The effect of temperature on the reproductive maturity of penshell *Atrina maura* (Sowerby, 1835) (Bivalvia:Pinnidae). *Journal of Shellfish Research*, 20(1):39–47.

Sabbadin A. (1960). Ulteriori notizie sull'allevamento e sulla biologia dei Botrilli in condizioni di laboratorio. *Archivio di Oceanografia e Limnologia*, 12: 97–107. doi.org/10.1007/BF00306723

Saier B, Chapman AS. (2004). Crusts of the alien bryozoan *Membranipora membranacea* can negatively impact spore output from native kelps (*Laminaria longicruris*). *Botanica Marina*, 47(4): 265–271.

Safi K, Hewitt JE, Talman SG. (2007). The effect of high inorganic seston loads on prey selection by the suspension-feeding bivalve, *Atrina zelandica*. *The Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 344: 136–148.

Sakai A, Allendorf FW, Holt JS, Lodge DM, Molofsky J, With KA, Baughman S, Cabin RJ, Cohen JE, Ellstrand NC, McCauley DE, O'Neil P, Parker IM, Thompson JN, Weller SG. (2001). The Population Biology of Invasive Species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 32: 305–332. <http://www.jstor.org/stable/2678643>

Salgado-Barragán J, Méndez N, Toledano-Granados A. (2004). *Ficopomatus miamiensis* (Polychaeta: Serpulidae) and *Styela canopus* (Asciacea: Styelidae), non-native species in Urías estuary, SE Gulf of California, México. *Cahiers de Biologie Marine*, 45: 167–173.

Shenkar N. (2012). Ascidian (Chordata, Ascidiacea) diversity in the Red Sea. *Marine Biodiversity* 1–11. DOI 10.1007/s12526-012-0124-5

Salonna M, Gasparini F, Huchon D, Montesanto F, Haddas-Sasson M, Ekins M, McNamara M, Mastrototaro F, Gissi C. (2021). An elongated *COI* fragment to discriminate botryllid species and as an improved ascidian DNA barcode. *Scientific Reports*, 11(1): 1–19. [doi.org/10.1038/s41598-021-83127-x](https://doi.org/10.1038/s41598-021-83127-x).

Soria E. (1989). *Aspectos poblacionales y datos preliminares para la evaluación del callo de hacha Atrina maura (Sowerby, 1835) en la desembocadura del Río Balsas de Lázaro Cárdenas, Michoacán, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana San Nicolás Hidalgo, 27 p.*

Stachowicz JJ, Fried H, Osman RW, Whitlatch RB. (2002). Biodiversity, invasion resistance, and marine ecosystem function: reconciling pattern and process. *Ecology*, 83(9): 2575–2590. [doi.org/10.1890/0012-9658\(2002\)083\[2575:BIRAME\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2002)083[2575:BIRAME]2.0.CO;2).

Stefaniak L, Lambert G, Gittenberger A, Zhang H, Lin S, Whitlatch RB. (2009). Genetic conspecificity of the worldwide populations of *Didemnum vexillum* Kott, 2002. *Aquatic Invasions*, 4(1), 29–44. [doi.org/10.3391/ai](https://doi.org/10.3391/ai).

Streit OT, Lambert G, Erwin PM, López-Legentil S. (2021). Diversity and abundance of native and non-native ascidians in Puerto Rican harbors and marinas. *Marine Pollution Bulletin*, 167: 112262. [doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.112262](https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2021.112262).

Svane IB, Young CM. (1989). The ecology and behavior of ascidian larvae. *Oceanography and Marine Biology Annual Review*, 27: 45–90. <http://purl.fcla.edu/fau/fauir>.



Taylor JJ, Southgate PC, Rose RA. (1997). Fouling animals and their effects on the growth of silver-lip pearl oysters, *Pinctada maxima* (Jameson) in suspended culture. *Aquaculture*, 153: 31–40. doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00014-8.

Thieltges DW. (2005). Impact of an invader: epizootic American slipper limpet *Crepidula fornicata* reduces survival and growth in European mussels. *Marine Ecology Progress Series*, 286: 13–19. DOI:10.3354/meps286013.

Thompson JT, Newell RIE, Kennedy VS, Mann R. (1996). *Reproductive processes and early development*. 335–370 p. En: Kennedy V.S., R.I.E. Newell y A.F. Eble (Eds.) *The Eastern oyster Crassostrea virginica*. Maryland: Maryland Sea Grant Book.

Thornber C. (2007). Associational resistance mediates predator–prey interaction in a marine subtidal system. *Marine Ecology*, 28(4): 480–486. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2007.00187.x>

Tokioka T. (1955). Ascidians from the Palao Islands II. *Publications of the Seto Marine Biological Laboratory*, 1(3): 115–150. doi:10.5134/174438

Tokioka T. (1967). Pacific Tunicata of the United States National Museum. *Bulletin of the United States National Museum*, 1–247. doi.org/10.5479/si.03629236.251.1

Torchin ME, Lafferty KD, Kuris AM. (2002). Parasites and marine invasions. *Parasitology*. 124: 137–51. doi: 10.1017/s0031182002001506.

Tovar-Hernández MA, Suarez-Morales E, Yáñez-Rivera B. (2010). The parasitic copepod *Haplostomides hawaiiensis* (cyclopoida) from the invasive ascidian *Polyclinum constellatum* in the Southern Gulf of California. *Bulletin Marine Science*, 86(3): 637–648. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4459959>

Tovar-Hernández MA, Villalobos-Guerrero TF, Yáñez-Rivera B, Aguilar-Camacho JM, Ramírez-Santana ID. (2013). Guía de invertebrados acuáticos exóticos en Sinaloa, *Geomare*, A.A. USFWS, INE–SEMARTNAT. Mazatlán, México, 41 pp.

Van Name W G. (1921). Ascidians of the West Indian region and southeastern United States. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 44: 283–494.

Van Name WG. (1945). The North and South American ascidians. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 84: 1–476.

Villalobos SM, Lambert G, Shenkar N, López-Legentil S. (2017). Distribution and population dynamics of key ascidians in North Carolina harbors and marinas. *Aquatic Invasions*, 12(4): 447–458. <https://doi.org/10.3391/AI.2017.12.4.03>

Virgili R, Tanduo V, Katsanevakis S, Terlizzi F, Villani G, Fontana A, Crocetta F. (2022). The Miseno Lake (Central-Western Mediterranean Sea): An Overlooked Reservoir of Non-Indigenous

and Cryptogenic Ascidians in a Marine Reserve. *Frontiers Marine Science*, 481 pp. <https://doi.org/10.3389/FMARS.2022.866906>.

Wahl M. (1989). Marine epibiosis I: fouling and antifouling – some basic aspects. *Marine Ecology Progress Series*, 58(1–2): 175–189.

Wahl M, Hay ME, Enderlein P. (1997). Effects of epibiosis on consumer–prey interactions. *Hydrobiologia*, 355: 49–59.

Wood SN. (2011). Fast stable restricted maximum likelihood and marginal likelihood estimation of semiparametric generalized linear models. *Journal Royal Statistical Society Series B (Statistical Methodology)*, 73(1): 3–36. [doi.org/10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x](https://doi.org/10.1111/j.1467-9868.2010.00749.x).

Yee TW, Mitchell ND. (1991). Generalized additive models in plant ecology. *Journal Vegetation Science*, 2(5): 587–602. <https://doi.org/10.2307/3236170>

Zanter K. (2018). *Landsat 8 (L8) Data Users handbook. Version 3.0*. EROS. Dakota, USA. 106 pp.

Zhan A, Briski E, Bock DG, Ghabooli S, MacIsaac HJ. 2015. Ascidiaceans as models for studying invasion success. *Marine Biology*, 162: 2449–2470. <http://dx.doi.org/10.1007/s00227-015-2734-5>.

## 11. ANEXOS

### Anexo A. Lista de secuencias disponibles

Lista de secuencias disponibles en bases de datos (Genbank/BOLD) de especies del género *Distaplia* usadas en el presente estudio.

<b>ID Genbank/BOLD</b>	<b>Especie</b>	<b>Localidad de la muestra</b>	<b>Referencia</b>
ASCAN016-10	<i>D. cylindrica</i>	Antartica	Unpublished
ASCAN015-10	<i>D. colligans</i>	Antartica	Unpublished
KU299767	<i>D. colligans</i>	Chile	Turon et al. 2016
MZ580876	<i>D. occidentalis</i>	Alaska, USA North Carolina,	O'Mahoney et al. unpublished
KY111419	<i>D. bermudensis</i>	USA North Carolina,	Villalobos et al. 2017
MF034529-33	<i>D. bermudensis</i>	USA North Carolina,	Evans et al. 2017
MG525006-15	<i>D. bermudensis</i>	USA	Evans et al. 2018
MH258863-64	<i>D. bermudensis</i>	Bahamas North Carolina,	Counts et al. unpublished
MT572331-41	<i>D. bermudensis</i>	USA	Evans et al. 2021
MT637947	<i>D. bermudensis</i>	Puerto Rico	Streit et al. 2021
MW286122	<i>D. bermudensis</i>	Florida, USA	Nydam et al. unpublished
OM926002-06	<i>D. bermudensis</i>	Naples, Italy	Virgili et al. 2022

### Anexo B. Distancias estimadas entre haplotipos del género *Distaplia*.

Distancias estimadas genéticamente ( $p$ -distancia) entre haplotipos de especies del género *Distaplia* disponibles en GenBank. Distancias, muestran un porcentaje de divergencia.

ID Genbank/BOLD	Especies	<i>D. cylindrica</i>	<i>D. colligans</i>	<i>D. colligans</i>	<i>D. occidentalis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>
		ASCAN016-10	ASCAN015-10	KU299767	MZ580876	KY111419	MF034529
ASCAN016-10	<i>D. cylindrica</i>	-					
ASCAN015-10	<i>D. colligans</i>	0.0	-				
KU299767	<i>D. colligans</i>	20.7	20.7	-			
MZ580876	<i>D. occidentalis</i>	25.1	25.1	20.7	-		
KY111419	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	-	
MF034529	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.3	-
MG525006	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.0	0.3
MG525007	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.3	0.0
MH258863	<i>D. bermudensis</i>	25.8	25.8	28.1	21.1	18.7	18.7
MH258864	<i>D. bermudensis</i>	25.4	25.4	27.1	20.1	17.7	17.7
MT572331	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.0	0.3
MT572334	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.3	0.0
MT572335	<i>D. bermudensis</i>	27.1	27.1	30.1	26.1	0.0	0.3
MT572336	<i>D. bermudensis</i>	26.4	26.4	25.4	20.4	19.1	19.1
MT637947	<i>D. bermudensis</i>	29.8	29.8	27.8	24.4	14.0	14.0
MW286122	<i>D. bermudensis</i>	26.1	26.1	30.4	27.1	2.3	2.7
OM926002	<i>D. bermudensis</i>	29.8	29.8	27.8	24.4	14.0	14.0
OM926006	<i>D. bermudensis</i>	29.8	29.8	27.8	24.4	14.0	14.0

Continua

ID	Especies	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>
		MG525006	MG525007	MH258863	MH258864	MT572331	MT572334
ASCAN016-10	<i>D. cylindrica</i>						
ASCAN015-10	<i>D. colligans</i>						
KU299767	<i>D. colligans</i>						
MZ580876	<i>D. occidentalis</i>						
KY111419	<i>D. bermudensis</i>						
MF034529	<i>D. bermudensis</i>						
MG525006	<i>D. bermudensis</i>	-					
MG525007	<i>D. bermudensis</i>	0.3	-				
MH258863	<i>D. bermudensis</i>	18.7	18.7	-			
MH258864	<i>D. bermudensis</i>	17.7	17.7	2.0	-		
MT572331	<i>D. bermudensis</i>	0.0	0.3	18.7	17.7	-	
MT572334	<i>D. bermudensis</i>	0.3	0.0	18.7	17.7	0.3	-
MT572335	<i>D. bermudensis</i>	0.0	0.3	18.7	17.7	0.0	0.3
MT572336	<i>D. bermudensis</i>	19.1	19.1	17.1	15.4	19.1	19.1
MT637947	<i>D. bermudensis</i>	14.0	14.0	18.7	18.4	14.0	14.0
MW286122	<i>D. bermudensis</i>	2.3	2.7	18.7	17.7	2.3	2.7
OM926002	<i>D. bermudensis</i>	14.0	14.0	18.7	18.4	14.0	14.0
OM926006	<i>D. bermudensis</i>	14.0	14.0	18.7	18.4	14.0	14.0

Continua

ID	Genbank/BOLD	Especies	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>	<i>D. bermudensis</i>
			MT572335	MT572336	MT637947	MW286122	OM926002	OM926006
ASCAN016-10		<i>D. cylindrica</i>						
ASCAN015-10		<i>D. colligans</i>						
KU299767		<i>D. colligans</i>						
MZ580876		<i>D. occidentalis</i>						
KY111419		<i>D. bermudensis</i>						
MF034529		<i>D. bermudensis</i>						
MG525006		<i>D. bermudensis</i>						
MG525007		<i>D. bermudensis</i>						
MH258863		<i>D. bermudensis</i>						
MH258864		<i>D. bermudensis</i>						
MT572331		<i>D. bermudensis</i>						
MT572334		<i>D. bermudensis</i>						
MT572335		<i>D. bermudensis</i>	-					
MT572336		<i>D. bermudensis</i>	19.1	-				
MT637947		<i>D. bermudensis</i>	14.0	15.4	-			
MW286122		<i>D. bermudensis</i>	2.3	20.1	15.1	-		
OM926002		<i>D. bermudensis</i>	14.0	15.4	0.3	15.1	-	
OM926006		<i>D. bermudensis</i>	14.0	15.4	0.3	15.1	0	-