



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

DIVERSIDAD GENÓMICA DE LOS CORALES ESCLERACTÍNEOS
Agaricia agaricites, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea*
siderea DEL CARIBE MEXICANO.

TESIS

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de Recursos Naturales

(Orientación en Biología marina)

Presenta:

David Antonio López Villarreal

La Paz, Baja California Sur, diciembre de 2024.

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 13:00 horas del día 26 del Mes de noviembre del 2024, 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:

"Diversidad genómica de los corales escleractíneos *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea* del Caribe Mexicano"

Presentada por el alumno:

David Antonio López Villarreal

Aspirante al Grado de MAESTRO 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



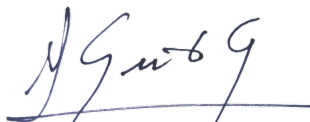
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Co-Director de Tesis



Dr. David Arturo Paz García
Co-Director de Tesis



Dr. Lorenzo Álvarez Filip
Co-Tutor de Tesis



Dra. Alejandra Nieto Garibay,
Directora de Estudios de Posgrado y
Formación de Recursos Humanos.



La Paz, Baja California Sur, a 26 de noviembre de 2024.

Los miembros del comité de tesis del estudiante David Antonio López Villarreal del Programa de Maestría en Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales, 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:
Excluir citas
Excluir bibliografía
Excluir coincidencias inferiores a 10 palabras
Excluir fuentes menores a 10 palabras
- Porcentajes de similitud:
5%
Se muestra captura de pantalla

Tesis maestría

INFORME DE ORIGINALIDAD

5%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	cibnor.repositorioinstitucional.mx Internet	272 palabras — 2%
2	cicese.repositorioinstitucional.mx Internet	81 palabras — 1%
3	ri.uaemex.mx Internet	35 palabras — < 1%
4	cibnor.gob.mx Internet	30 palabras — < 1%
5	www.frontiersin.org Internet	30 palabras — < 1%
6	www.researchgate.net Internet	23 palabras — < 1%
7	revistabionatura.com Internet	21 palabras — < 1%
8	avanceyperspectiva.cinvestav.mx Internet	19 palabras — < 1%

Firmas del Comité

Dr. David Arturo Paz Garcia

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Dr. Lorenzo Álvarez Filip

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. David Arturo Paz García
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Co-Director de Tesis

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C.
Co-Director de Tesis

Dr. Lorenzo Álvarez Filip
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICML)
Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM)
Co-Tutor de Tesis

Comité Revisor de Tesis

Dr. David Arturo Paz García
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dr. Lorenzo Álvarez Filip

Jurado de Examen

Dr. David Arturo Paz García
Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez
Dr. Lorenzo Álvarez Filip

Suplente

Dra. Carolina Galván Tirado

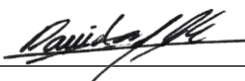
Resumen

Los corales escleractinios son organismos de importancia biológica por la capacidad de formar arrecifes que brindan hábitat a una gran variedad de organismos. Esta característica confiere la cualidad de formar ecosistemas sumamente diversos, en donde se crían y viven diversas especies de interés comercial. Actualmente, existe una disminución en las poblaciones y en la diversidad en los corales pétreos debido al estrés generado por actividades antropogénicas. El estudio de la diversidad genética nos permite tener una idea del potencial adaptativo de las poblaciones ante futuros cambios ambientales. El objetivo de este estudio es analizar la diversidad y estructuración genómica de los corales escleractinios *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea* de la región del Caribe Mexicano mediante la técnica de secuenciación de ADN asociadas a sitios de restricción de doble digestión (ddRAD-seq). Con el fin de lograr este objetivo, se secuenciaron 68 colonias de *S. siderea*, 42 de *A. agaricites* y 24 de *M. cavernosa*, pertenecientes a 5 localidades distintas pertenecientes al Caribe Mexicano. Debido a la integridad del ADN, los análisis de *M. cavernosa* no pudieron ser realizados. El número de colonias útiles se redujo a 41 para *S. siderea* y 24 para *A. agaricites*. Se obtuvieron 4,047 SNP's neutrales pertenecientes a *S. siderea* y 405 SNP's para *A. agaricites*. No se encontraron evidencias de divergencia poblacional espacial evidente para ambas especies. Sin embargo, se encontró evidencia de linajes crípticos al interior de ambas especies. Los resultados arrojaron la presencia de 2 linajes crípticos simpátricos pertenecientes a *S. siderea*, ($F_{st} = 0.308$; $P < 0.001$), mientras que los linajes encontrados al interior de *A. agaricites* fueron alopátricos ($F_{st} = 0.146$; $P < 0.001$). Tres de los cuatro linajes encontrados en ambas especies presentaron señales de endogamia, con un coeficiente de consanguinidad poblacional (F_{is}) de 0.15-0.19. Ninguno de los linajes encontrados para ambas especies fue particularmente susceptible a contraer la enfermedad de pérdida de tejido de corales pétreos. Los resultados de este trabajo se suman a las recientes evidencias que señalan la presencia de linajes crípticos al interior de corales escleractinios a nivel mundial. Por lo cual, para llegar a comprender los patrones de estructuración genética al interior de este grupo, es necesario continuar con este tipo de esfuerzos de investigación.

Palabras Clave: Diversidad genómica, ddRad-seq, corales pétreos, Caribe Mexicano, linajes crípticos.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5239-7582>

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. David Arturo Paz García



Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Summary

Scleractinian corals are biologically important due to their ability to form reefs that provide habitat for diverse species. This characteristic allows them to create highly diverse ecosystems, where numerous commercially important species live and reproduce. Currently, populations and diversity of stony corals are declining due to stress caused by anthropogenic activities. The study of genetic diversity provides insight into the adaptive potential of populations in the face of future environmental changes. This study aims to analyze the genomic diversity and structure of the scleractinian corals *Siderastrea siderea*, *Agaricia agaricites*, and *Montastraea cavernosa* from the Mexican Caribbean region. The analysis used the double-digest restriction site-associated DNA sequencing (ddRAD-seq) technique. To achieve this goal, 68 colonies of *S. siderea*, 42 of *A. agaricites*, and 24 of *M. cavernosa* from five different localities in the Mexican Caribbean were sequenced. However, analyses of *M. cavernosa* could not be performed due to insufficient DNA integrity. The number of usable colonies was reduced to 41 for *S. siderea* and 24 for *A. agaricites*. 4,047 neutral SNPs were obtained for *S. siderea* and 405 SNPs for *A. agaricites*. Spatial population structure methods did not detect evidence of population divergence. However, there is evidence of cryptic lineages within both species. The results revealed the presence of two sympatric cryptic lineages in *S. siderea* ($F_{st} = 0.308$; $P < 0.001$), while the lineages identified within *A. agaricites* were allopatric ($F_{st} = 0.146$, $P < 0.001$). Three of the four lineages found in both species showed signs of inbreeding, with a population inbreeding coefficient (F_{is}) ranging from 0.15 to 0.19. None of the lineages identified for either species demonstrated significant susceptibility to contracting stony coral tissue loss disease. These findings contribute to the growing body of evidence highlighting the global presence of cryptic lineages within scleractinian corals. Therefore, it is essential to continue such research efforts to understand the patterns of genetic structuring within this group.

Keywords: Genomic diversity, ddRad-seq, stony corals, Mexican Caribbean, cryptic lineages.

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-5239-7582>

Vo.Bo. Co-Directores de Tesis



Dr. David Arturo Paz García



Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Dedicatoria

A mis padres y hermanos, que incondicionalmente han estado a mi lado

A mi esposa Irlanda, quien ocupa un papel fundamental en mi vida

Y a todas las personas que han formado parte de este camino

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada (1244467). Así mismo, por el apoyo al Proyecto de Ciencia de Frontera 2019 (ID: 425888): "Respondiendo a una nueva crisis que enfrentan los arrecifes de coral en el Caribe mexicano: acciones para mitigar una enfermedad emergente de corales y la degradación de arrecifes" que sustenta el trabajo de investigación de mi tesis.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste S.C. (CIBNOR) y a la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos, por la oportunidad de matricularme en el programa de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales y a la beca de manutención ofrecida por la institución estos últimos meses.

A los miembros de mi comité: Dr. David Paz García, Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez y Dr. Lorenzo Álvarez Filip por sus comentarios, consejos y apoyo durante la realización de este trabajo.

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México (ICML-UNAM) por el apoyo brindado en la recolección de las muestras.

Al laboratorio de Investigación Integrativa para la Biodiversidad Genómica Marina del CIBNOR, por sus comentarios y consejos. A mi compañero Erick Bolaños, por sus oportunos consejos y retroalimentación. Eduardo Aguayo, Jason Tuang-tuang, Magali Sánchez, Diana Ramos.

A los responsables técnicos la MC. Delia Irene Rojas Posadas, responsable técnico del Laboratorio de Genética Molecular del CIBNOR y a la Dra. Noemí Bocanegra Castillo, responsable técnico del Laboratorio de Necton y Ecología de Arrecifes del CIBNOR por su recibimiento y apoyo a lo largo de este trabajo de investigación.

A la Dra. Paulina Mejía y la MC. Magali Sánchez, por su apoyo en el procesamiento de las muestras y elaboración de librerías.

A mi familia: Mi padre Jorge, mi madre Margarita, mis hermanos Jorge y Mamel, al igual que a mi esposa Irlanda. Gracias por estar a mi lado apoyándome. Tanto en las buenas como en las malas.

A la familia Higuera por continuar siendo mi familia adoptiva sudcaliforniana.

Gracias a todos.

Contenido

Resumen	i
Summary	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Contenido.....	v
Lista de figuras	vii
Lista de tablas	viii
Abreviaturas	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Diversidad y conectividad genética.....	3
2. ANTECEDENTES	5
2.1 Características biológicas de las especies estudiadas.....	5
2.2 Genética de poblaciones en corales del Atlántico Occidental.....	6
2.3 Caracterización oceanográfica del área de estudio	8
3. JUSTIFICACIÓN	9
4. HIPÓTESIS.....	10
5. OBJETIVOS.....	11
5.1 Objetivo general.....	11
5.2 Objetivos particulares	11
6. MATERIAL Y MÉTODOS	12
6.1 Recolección de muestras.....	12
6.2 Extracción de ADN.....	13
6.3 Elaboración de librerías ddRAD-seq.....	13
6.4 Análisis bioinformáticos	14
6.4.1 Análisis de las secuencias en crudo y demultiplexado.....	14
6.4.2 Limpieza de lecturas hospedero-simbionte.....	15
6.4.3 Pruebas de parametrización y ensamblaje <i>de novo</i>	15
6.4.4 Filtrado de colonias e identificación de SNP's bajo aparente selección.....	16
6.4.5 Análisis de diversidad genética, parentesco y <i>Fst</i>	17
6.4.6 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP).....	17
6.4.7 Análisis de Clusters (Structure)	18
7. RESULTADOS	19
7.1 Análisis de diversidad genómica neutral.....	19
7.1.1 Análisis de diversidad genómica neutral y parentesco de <i>Siderastrea siderea</i>	19
7.1.2 Análisis de diversidad genómica neutral y parentesco de <i>Agaricia agaricites</i>	23
7.2 Análisis de estructura genómica neutral.....	25
7.2.1 Estructura genética neutral de <i>Siderastrea siderea</i> por región geográfica	25
7.2.2 Estructura genómica neutral de <i>Siderastrea siderea</i> por linajes.....	28
7.2.3 Estructura genómica neutral de <i>Siderastrea siderea</i> por condición.....	35
7.2.4 Estructura genética neutral de <i>Agaricia agaricites</i> por región geográfica	39
7.2.5 Estructura genómica neutral de <i>Agaricia agaricites</i> por condición.....	42
8. DISCUSIÓN	43
8.1 Identificación y número de secuencias.....	43

8.2 Diversidad genética	44
8.3 Estructuración genética.....	45
8.3.1 Estructuración genética de <i>Siderastrea siderea</i>	45
8.3.2 Estructuración genética en <i>Agaricia agaricites</i>	47
8.3.3 Pruebas de estructuración genética por condición	47
8.4 Implicaciones de los resultados en la conservación de las especies involucradas	48
8.5 Áreas de investigación pendientes y limitantes de este estudio	49
9. CONCLUSIONES	50
10. LITERATURA CITADA	51
11. ANEXOS	56
Anexo A. Valores de cuantificación de ADN promedio mediante espectrofotometría por especie.....	56
Anexo B. Tabla de valores de datos faltantes por especie	56
Anexo C. Gráficos de delta K correspondiente a: a) <i>Siderastrea siderea</i> , b) <i>Agaricia agaricites</i>	57
Anexo D. Porcentaje de colonias útiles por especie. En rojo se distinguen el porcentaje de colonias que no son utilizables para el resto de análisis mientras que, en azul, se observan aquellas que fueron usadas en análisis posteriores.	57
Anexo E. Número de colonias consideradas útiles (más de 750,000 lecturas) de <i>Siderastrea siderea</i> . Para la alineación del host se utilizó un archivo concatenado de que incluía el genoma de organismos del género <i>Orbicella</i> , <i>Montastrea</i> , marcadores disponibles del género <i>siderastrea</i> y el transcriptoma de un concatenado de organismos llamado “master coral”	58
Anexo F. Número de colonias consideradas útiles (más de 750,000 lecturas) de <i>Agaricia agaricites</i> . Para la alineación del host se utilizó un archivo concatenado de que incluía el genoma de organismos del género <i>Orbicella</i> , <i>Montastrea</i> , marcadores disponibles del género <i>Agaricia</i> y el transcriptoma de un concatenado de organismos llamado “master coral”	58
Anexo G. Proporciones de lecturas pertenecientes al hospedero, simbiote, lecturas híbridas hospedero-simbiote y lecturas no identificadas para el coral <i>S. siderea</i>	59
Anexo H. Proporciones de lecturas pertenecientes al hospedero, simbiote, lecturas híbridas hospedero-simbiote y lecturas no identificadas para el coral <i>A. agaricites</i>	60
Anexo I. Identificación y detección de SNP’s neutros y bajo aparente selección.	61
Anexo J. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por región geográfica perteneciente al linaje 1.....	61
Anexo K. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por región geográfica perteneciente al linaje 2.....	62

Lista de figuras

Figura 1. Colonias de corales escleractinios. A) Colonia de <i>Siderastrea siderea</i> . B) Colonia de <i>Agaricia agaricites</i> y C) Colonia de <i>Montastrea cavernosa</i> (fotografía propiedad de Fish and Wildlife Research Institute, Florida, Estados Unidos.).....	5
Figura 2. Mapa de las localidades donde se recolectaron las muestras.	12
Figura 3. Mapa de calor con el coeficiente de parentesco Phi para <i>Siderastrea siderea</i> . Los valores van desde el 0.5 (en rojo) hasta -1 (en blanco).....	22
Figura 4. Mapa de calor con el coeficiente de parentesco Phi para <i>Agaricia agaricites</i> . Los valores van desde el 0.5 (en rojo) hasta -1 (en blanco).....	24
Figura 5. Valores de asignación determinados para <i>S. siderea</i> con un K=2	25
Figura 6. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente para <i>S. siderea</i>	26
Figura 7. Análisis discriminante de componentes principales por regiones perteneciente a <i>S. siderea</i>	27
Figura 8. Análisis discriminante de componentes principales por linaje perteneciente a <i>S. siderea</i>	28
Figura 9. Colonias de coral de <i>S. siderea</i> muestreadas en campo. Las colonias a y b pertenecen al linaje 1, mientras que las colonias b y d al linaje 2.	30
Figura 10. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente al linaje 1 de <i>S. siderea</i>	31
Figura 11. Análisis discriminante de componentes principales por región perteneciente al linaje 1 de <i>S. siderea</i>	32
Figura 12. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente al linaje 2 de <i>S. siderea</i>	33
Figura 13. Análisis discriminante de componentes principales por región perteneciente al linaje 2 de <i>S. siderea</i>	34
Figura 14. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente a los organismos por condición del linaje 1 de <i>S. siderea</i>	35
Figura 15. Análisis discriminante de componentes principales por condición perteneciente al linaje 1 de <i>S. siderea</i>	36
Figura 16. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente a los organismos por condición del linaje 2 de <i>S. siderea</i>	37
Figura 17. Análisis discriminante de componentes principales por condición perteneciente al linaje 2 de <i>S. siderea</i>	38
Figura 18. Valores de asignación determinados para <i>A. agaricites</i> con un K=2	39
Figura 19. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente para <i>A. agaricites</i>	39
Figura 20. Análisis discriminante de componentes principales para <i>A. agaricites</i> por regiones geográficas	40
Figura 21. Colonias de coral de <i>A. agaricites</i> muestreadas en campo. Las colonias a y b pertenecen al linaje del Norte, mientras que las colonias b y d pertenecen al Sur.....	41

Lista de tablas

Tabla 1. Número de individuos por especie y localidad	13
Tabla 2. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por región geográfica.....	20
Tabla 3. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por linaje	20
Tabla 4. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por condición perteneciente al linaje 1.	21
Tabla 5. Valores de diversidad genética de <i>Siderastrea siderea</i> por condición perteneciente al linaje 2.	21
Tabla 6. Valores de diversidad genética de <i>Agaricia agaricites</i>	23
Tabla 7. Valores de diversidad genética de <i>Agaricia agaricites</i> por condición.	23
Tabla 8. Valor de <i>Fst</i> para 4,047 SNP's neutrales correspondientes a <i>S. siderea</i> por región.....	28
Tabla 9. Valor de <i>Fst</i> para 4047 SNP's neutrales correspondientes a <i>S. siderea</i> por linaje genético	29
Tabla 10. Valor de <i>Fst</i> para 4,047 SNP's neutrales correspondiente al linaje 1 de <i>S. siderea</i> por región geográfica.....	32
Tabla 11. Valor de <i>Fst</i> para 4047 SNP's neutrales correspondiente al linaje 2 de <i>S. siderea</i> por región geográfica.....	34
Tabla 12. Valor de <i>Fst</i> para 4,047 SNP's neutrales correspondientes al linaje 1 de <i>S. siderea</i> por condición.	37
Tabla 13. Valor de <i>Fst</i> para 4,047 SNP's neutrales correspondientes al linaje 2 de <i>S. siderea</i> por condición.	38
Tabla 14. Valor de <i>Fst</i> para 403 SNP's neutrales correspondientes a <i>A. agaricites</i>	40
Tabla 15. Valor de <i>Fst</i> para 403 SNP's neutrales correspondientes a <i>A. agaricites</i> por condición	42

Abreviaturas

SNPs:	Polimorfismos de una sola base nucleotídica.
SCTLD:	Síndrome de pérdida de tejido de corales pétreos.
PCR:	Cadena en reacción de la polimerasa.
ddRad-seq:	Doble digestión asociada a sitios de restricción.
Fis:	Índice de coeficiente de consanguinidad.
Fst:	Índice de fijación de Nei.
ADCP:	Análisis discriminante de componentes principales.
AFLP:	Polimorfismos de longitud en fragmentos amplificados.
FDR:	Tasa de descubrimientos falsos.
BIC:	Criterio de información bayesiano.
Ho:	Heterocigosidad observada.
He:	Heterocigosidad esperada.
Ra:	Riqueza Alélica.

1. INTRODUCCIÓN

Los corales pétreos son organismos de importancia biológica debido a la amplia variedad de hábitat que ofrecen al resto de seres vivos debido a la capacidad de crear arrecifes de coral y a las distintas morfologías que estos pueden adoptar (Estrada-Saldívar, *et al.* 2021). Esta gran diversidad funcional permite crear ecosistemas sumamente diversos, en donde se habitan organismos de importancia tanto ecológica como comercial (Coker, *et al.* 2014; Álvarez-Filip, *et al.* 2019).

El mar Caribe como el resto de los océanos, se encuentran bajo una gran presión ambiental a causa de actividades de origen antropogénico. Todas estas actividades han terminado por generar un cambio funcional en los ecosistemas a nivel mundial, debido a la disminución en la riqueza de especies (Precht, *et al.* 2016; Álvarez-Filip, *et al.* 2022). La riqueza específica de corales pétreos para la región del Caribe está estimada en 53 especies (Beltrán-Torres & Carricart-Ganivet, 1999). La diversidad de corales escleractinios es menor en el Caribe a la encontrada en la región del Indo-Pacífico (500 spp), debido a que este último es el centro de dispersión de los corales escleractinios (Bellwood, *et al.* 2004; Baird, 2009). Esto reduce el potencial de adaptación del Caribe, evidenciando la vulnerabilidad de los sistemas arrecifales en la región, si se comparará con otros sitios de mayor diversidad (Bellwood, *et al.* 2004).

Las perturbaciones ambientales ocasionan que las poblaciones de corales sean susceptibles a fenómenos de blanqueamiento (pérdida de la zooxantela por estrés térmico) y a contraer enfermedades nuevas (Dias & Gondim, 2016). Algunos ejemplos de enfermedades son la enfermedad de la banda blanca (*White band disease*), que afecta a organismos del género *Acropora* o la enfermedad de pérdida de tejido en corales pétreos (*Stony Coral Tissue Loss Diseases*, SCTLD, por sus siglas en inglés) que afecta a una amplia diversidad de corales escleractinios (Weil & Rogers, 2011; Muller, *et al.* 2020).

El SCTLD, es una enfermedad que fue identificada por primera vez en el 2014 en las costas de Florida caracterizada por presentar el desprendimiento de tejido en los corales, que deja desprovisto de material orgánico al esqueleto calcáreo (Precht, *et al.* 2016; Álvarez-Filip, *et al.* 2019). La enfermedad tiene el potencial de propagarse por el resto de la colonia y llevarla a la muerte en pocos meses (Estrada-Saldívar, *et al.* 2020).

A pesar de que anteriormente se habían reportado casos de otras enfermedades en la región, ninguna otra enfermedad había representado tanto riesgo para el ecosistema arrecifal como el representado por el SCTLD (Precht, *et al.* 2016; Papke, *et al.* 2024). Esto debido a la gran cantidad de especies que afecta, llevando incluso a extinguirse localmente algunas especies de corales como el caso de *Dendrogyra cylindrus* (Estrada-Saldívar, *et al.* 2020; Álvarez-Filip, *et al.* 2022).

Las primeras colonias infectadas por SCTLD en el Caribe Mexicano fueron detectadas en 2018 (Álvarez-Filip, *et al.* 2019). Esta enfermedad ha modificado la heterogeneidad de los ambientes marinos al afectar a una gran variedad de especies constructoras de arrecifes y, por consiguiente, ha afectado de manera indirecta a una gran variedad de organismos arrecifales de importancia ecológica y comercial (Álvarez-Filip, *et al.* 2022)

La SCTLD por lo menos ha afectó a 25 especies de corales en la región del Caribe Mexicano, entre las que se encuentran las especies *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea* (Álvarez-Filip, *et al.* 2022). El SCTLD ha afectado una gran variedad de especies de coral, viéndose mayormente afectados los corales con formaciones masivas que generan un gran aporte a la construcción arrecifal (Estrada-Saldívar, *et al.* 2020; Álvarez-Filip, *et al.* 2022). Dentro de estas especies altamente susceptibles a contraer SCTLD encontramos a *S. siderea* y *M. cavernosa*. Mientras que organismos que forman colonias pequeñas como *A. agaricites*, se han visto afectados en menor medida, convirtiéndose en especies dominantes en la región (Estrada-Saldívar, *et al.* 2020; Álvarez-Filip, *et al.* 2022).

1.1 Diversidad y conectividad genética

La diversidad genética es la fuente primordial de la diversidad. Esta hace alusión a la variedad de genes que están contenidos al interior de una población o especie. Normalmente se ha asociado los niveles de diversidad genética con el potencial de adaptación de una especie. Una población un mayor acervo genético tiene mayores probabilidades de haber desarrollado alguna variante genómica que le permita adaptarse a un cambio ambiental, si se compara a lo que se esperaría de una población con nula diversidad genética. La diversidad genética es el resultado de la interacción de las fuerzas evolutivas: mutación, deriva, migración y selección natural. El origen de la variabilidad en el material genético son las mutaciones. Las mutaciones normalmente ocurren al momento de la replicación celular, pudiendo sustituir, insertar o eliminar un nucleótido (Becerra & Paredes, 2000; Piñero, *et al.* 2008). Si una mutación ocurre en una porción codificante del genoma, esta mutación podría generar un cambio en el codón (tripleto de nucleótidos que, en la traducción codifican un aminoácido) y este podría codificar un aminoácido distinto, a esta mutación se le conoce como mutación de cambio de sentido (Pierce, 2006). Por otra parte, si esta mutación ocurriera y cambiará el codón, pero este seguiría codificando el mismo aminoácido, recibiría el nombre de mutación silenciosa (Pierce, 2006).

La migración genera un cambio en las frecuencias alélicas al permitir un intercambio de genes de diferentes poblaciones, al igual que previene una divergencia genética (que podría ocasionar una especiación alopátrica) (Hunt, 1993; Pierce, 2006). La deriva genética ocasiona fluctuaciones aleatorias en la diversidad genética. Esta es ocasionada por la herencia al azar de genes y puede terminar por desaparecer ciertos alelos, siendo particularmente probable en poblaciones pequeñas (Frankham, *et al.* 2002; Pierce, 2006). Finalmente, la selección natural ocurre cuando, debido a una presión ambiental, ciertos organismos con genotipos específicos tienen una reproducción diferencial. Esto provoca que los alelos asociados con esos genotipos adaptativos se vuelvan más frecuente. Dependiendo de la intensidad de la selección, este proceso puede reducir la diversidad genética al eliminar genotipos menos adaptados. (Pierce, 2006).

La conectividad entre poblaciones hace referencia a la capacidad de intercambiar individuos entre localidades, que terminaran por reproducirse en su nueva localidad, de manera que exista un flujo genético entre los diferentes sitios (Hunt, 1993). Mientras mayor sea el flujo genético entre localidades, las poblaciones tenderán a una homogeneización genética (Green, 1994). De manera que, para organismos bentónicos como los arrecifes de coral, la forma de intercambiar reclutas entre localidades depende de la durabilidad de las larvas en la columna de agua y de la capacidad de las corrientes oceánicas de trasladarlas (Goodbody-Gringley, *et al.* 2012). El potencial de adaptación a cambios ambientales se encuentra ligado a la diversidad genética de las poblaciones (Frankham, *et al.* 2002). Es por ello por lo que resulta vital el estudio y la conservación de la diversidad genética, especialmente en poblaciones de organismos sésiles.

Anteriormente, se utilizaban un número limitado de marcadores moleculares que se encontraban en unas regiones específicas del genoma, pero cada vez es más común contar con un mayor número de marcadores incrementando la cobertura y representatividad del genoma. Los polimorfismos de una sola base nucleotídica (*Single Nucleotide Polymorphism*, o SNP's, por sus siglas en inglés) son variantes genómicas que se encuentran distribuidos a lo largo del genoma que pueden ser encontrados tanto en regiones codificantes como no codificantes (Vignal, *et al.* 2002; Grover & Sharma, 2016).

Con el avance que representó la secuenciación de nueva generación junto con la creación de los métodos de representación reducida del genoma (digase RADseq o ddRADseq) han permitido que especies no modelo puedan ser estudiadas bajo el concepto de genómica de poblaciones (Davey & Blaxter, 2010; Peterson, *et al.* 2012). Esto ha permitido que las inferencias realizadas no sólo provengan de regiones neutrales del genoma, sino poder detectar variantes que presentan frecuencias alélicas no esperadas bajo neutralidad (outliers) en regiones específicas del genoma y que potencialmente representan señales de selección natural (Grover & Sharma, 2016).

2. ANTECEDENTES

2.1 Características biológicas de las especies estudiadas

Siderastrea siderea (Fig. 1) es un coral de morfología masiva, de la familia Siderastreidae. Delimitar el área de distribución de las especies del género *Siderastrea* ha sido históricamente difícil por la presencia de estados intermedios entre *S. siderea* y *S. radians* (Beltrán-Torres & Carricart-Ganivet, 1999; Menezes, *et al.* 2014). *S. siderea*, es un coral común en la región del Caribe que posee una tasa de crecimiento menor a 1 cm de diámetro al año (Lewis, 1997). *Agaricia agaricites* (Fig. 1) es un coral de la familia Agariciidae, se distribuye desde las costas de Florida hasta Brasil, habita hasta los 20 m de profundidad (Beltrán-Torres & Carricart-Ganivet, 1999). Este es un coral incrustante de morfología diversa, adaptándose en función del flujo de las corrientes para maximizar la captura de materia suspendida que a la postre, será su alimento (Helmut & Sebens, 1993). *Montastraea cavernosa* (Fig. 1) pertenece a la familia Montastraeidae y es uno de los principales corales formadores de arrecife de la región del Caribe, posee una distribución que comprende Bermudas, Florida, llegando hasta costas de Brasil, alcanzando la costa Oeste Africana (Goodbody-Gringley, *et al.* 2012). Este coral puede ser encontrado a profundidades de 100 m, debido a su tolerancia a cambios en la temperatura del agua (Lesser, *et al.* 2010). Tiene la capacidad de formar colonias masivas, que pueden adoptar distintas formas en función de las condiciones ambientales (Amaral, 1994).



Figura 1. Colonias de corales escleractinios. A) Colonia de *Siderastrea siderea*. B) Colonia de *Agaricia agaricites* y C) Colonia de *Montastrea cavernosa* (fotografía propiedad de Fish and Wildlife Research Institute, Florida, Estados Unidos).

S. siderea y *M. cavernosa* presentan una liberación de gametos al medio, mismo donde ocurre la fertilización y el desarrollo larvario (Szmant, 1991; Lewis, 1997). Se ha observado en estudios

realizados en laboratorio para corales escleractinios que presentan este tipo de reproducción, que sus larvas pueden llegar a permanecer hasta 78 días en este estado y aun tener el potencial de asentarse y desarrollarse (Wilson & Harrison, 1998). Esto tiene implicaciones directas en la distribución y conectividad de las poblaciones de estas especies (Hedgecock, 1986), ya que podría favorecer la recolonización de localidades en donde hayan sido erradicadas, pero a causa de su lenta tasa de crecimiento, este sería un proceso que se daría a largo plazo.

S. siderea es un coral gonocórico que libera sus gametos durante los meses de julio a septiembre, con una sincronización asociada a los periodos lunares (Lewis, 1997). *M. cavernosa* es una especie gonocórica que se reproduce durante los meses de agosto y septiembre y al igual que *S. siderea*, los eventos reproductivos ocurren durante las lunas llenas de agosto y septiembre (Acosta & Zea, 1997). *A. agaricites* es una especie hermafrodita que incuba a sus larvas y las libera durante primavera-verano, pareciendo no mantener una relación entre sus eventos reproductivos y las fases lunares (Van Moorsel, 1983; Carlon & Olson, 1993; Prata, *et al.* 2022). El reclutamiento y reproducción de *S. siderea* y *A. agaricites* se ha visto afectado por la contaminación. Mientras que *S. siderea* ha presentado una reducción significativa en el tamaño de las gónadas en localidades contaminadas, *A. agaricites* ha presentado una disminución en su abundancia y en el número de reclutas en arrecifes eutrofizados (Guzmán & Holst, 1993; Lewis, 1997).

2.2 Genética de poblaciones en corales del Atlántico Occidental

Mediante el uso de polimorfismos de longitud en fragmentos amplificados (*Amplified Fragment Length Polymorphism*, AFLP por sus siglas en inglés) se encontraron evidencias de estructuración genética a nivel local (localidades separadas por 12 km) para *A. agaricites* en costas de Florida (Brazeau, *et al.* 2005). Debido al tipo de reproducción que presenta la especie, se cree que los reclutas poseen un potencial de dispersión reducido, limitando el flujo genético entre las distintas localidades (Brazeau, *et al.* 2005; Carlon & Olson, 1993; Prata, *et al.* 2022).

Estudios en *M. cavernosa*, presentaron evidencia de flujo genético a grandes distancias, habiendo evidencia de conectividad entre localidades separadas hasta por 3,000 km (Nunes, *et al.* 2009;

Goodbody-Gringley, *et al.* 2012). Mediante el uso de un marcador mitocondrial y dos nucleares se lograron identificar 3 subdivisiones distintas en el Atlántico. Estas fueron la región del Caribe y Atlántico Norte, el Atlántico Sur occidental y el Atlántico Oriental Tropical (Nunes, *et al.* 2009). En otro estudio utilizando AFLP, se encontró evidencia de flujo genético entre localidades a 1,500 km de distancia en el Mar Caribe (Brazeau, *et al.* 2013).

A pesar de la gran capacidad de dispersión que presenta *M. cavernosa*, se han encontrado evidencias de estructuración poblacional en regiones circundantes. En trabajos más recientes y por medio del estudio de 9 microsatélites y 9,000 SNP's, se encontraron evidencias de estructuración poblacional ocasionada por giros oceanográficos entre localidades ubicadas al este y oeste de la Isla de Cuba, con una separación entre 400 y 350 km (Sturm, *et al.* 2020). De igual manera se han encontrado evidencias de estructuración en esta especie entre corales superficiales y corales en arrecifes mesofóticos localizados en costas de Florida (divergencia entre las colonias someras y encontradas a más de 30 m) (Sturm, *et al.* 2022).

Los patrones oceanográficos moldean gran parte de la estructuración de las poblaciones. *Acropora palmata* es un coral escleractinio que se distribuye en el Caribe, con un periodo de asentamiento que va desde los 2 a 21 días. En un estudio de modelos de dispersión larvaria y utilizando datos genéticos, encontraron evidencias de estructuración genética en localidades de República Dominicana y Puerto Rico separadas por aproximadamente 100 km, a causa de remolinos que imposibilitaba el intercambio de reclutas (Baums & Cherubin, 2006).

Por otro lado, hay casos en los cuales, la estructuración genética no es causada por causas presencia de corriente o aislamiento geográfico y esta se encuentra en el interior de las mismas localidades de estudio. Este es el caso de *S. siderea*, en un estudio realizado en Panamá, se encontraron evidencias de 3 linajes distintos en una misma región por medio del estudio de más de 8,000 SNP's y análisis morfométricos (Aichelman, *et al.* 2024). Otro ejemplo de simpatria en corales escleractinios en otra región geográfica se presenta en los corales del género *Porites*, en Kiribati, en los cuales se ha encontrado evidencia de por lo menos tres linajes distintos (Starko, *et al.* 2023).

2.3 Caracterización oceanográfica del área de estudio

Las corrientes del Caribe son aguas cálidas que son descritas como una continuación de las corrientes del Norte del Brasil (Cetina, *et al.* 2006). El sur del Caribe mexicano se ve influenciado por la corriente de Caimán que, a su vez, fluye hacia el norte integrándose a la corriente de Yucatán, corriente fundamental en el traslado de aguas cálidas tropicales a latitudes más elevadas (Molinari & Morrison, 1988). La región del Caribe Mexicano cuenta con dos canales que fluyen paralelo a la costa, que pasan al este y oeste de Isla Cozumel.

El canal interior, pasa entre la península de Yucatán e Isla Cozumel y posee una profundidad promedio de 400 m con un ancho de 18 km. Mientras que el canal exterior posee una profundidad promedio de 1000 m de profundidad. El flujo del agua de ambos canales tiene una dirección hacia el noreste y alcanza una velocidad superficial promedio de 1.1 m/s (Cetina, *et al.* 2006; Athie, *et al.* 2011). Se ha observado un incremento en la intensidad del flujo en el interior del canal de Cozumel, a causa del principio de Bernoulli (Cetina, *et al.* 2006; Athie, *et al.* 2011).

3. JUSTIFICACIÓN

Los corales escleractíneos, son organismos de importancia biológica por la capacidad de formar arrecifes que brindan hábitat a una gran variedad de distintos organismos. Esta característica confiere la cualidad de formar ecosistemas sumamente diversos, en donde se reclutan y habitan diversas especies de interés comercial. Actualmente, existe una disminución en las poblaciones y en la diversidad en los corales pétreos debido al estrés generado por actividades de origen antropogénico. La mayoría de los corales escleractíneos presentan una tasa de crecimiento lenta, por lo cual, la recuperación ante eventos de mortalidad masivas son procesos que se darán a largo plazo. *M. cavernosa* y *S. siderea*, fueron catalogadas como especies altamente susceptibles a SCTLD. Es por ello por lo que es vital la realización de trabajos que evalúen la vulnerabilidad de las especies ante eventos como la aparición de SCTLD o eventos venideros. La información resultante de este estudio podrá ser utilizada en planes de restauración arrecifal.

4. HIPÓTESIS

- Debido a que *M. cavernosa* y *S. siderea* presentan una liberación de gametos al medio y a las corrientes que se presentan en la región de estudio, se espera que estas especies presenten panmixia. En cambio, debido a que *A. agaricia* es un coral incubador y su larva con un menor potencial de dispersión, se espera encontrar evidencia de estructuración genética.
- Se espera que las poblaciones no presenten un déficit de heterocigotos en ninguna especie. Esto debido a que *S. siderea* y *M. cavernosa*, poseen un amplio potencial de dispersión lo cual, reduce la probabilidad de la reproducción consanguínea. De igual manera, se espera que para *A. agaricites* su gran abundancia reduzca la probabilidad de reproducción endogámica.
- A causa de que no se ha encontrado evidencia en otros corales pétreos de linajes susceptibles a SCTL, se espera que los resultados genéticos sustentan la teoría de que no existen linajes susceptibles a contraer SCTL.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Estimar la diversidad genómica y estructuración poblacional de *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea* pertenecientes al Caribe Mexicano.

5.2 Objetivos particulares

- Estimar la diversidad genómica de *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea* mediante SNP's en tres regiones del Caribe Mexicano.
- Determinar si existe evidencia de estructuración genética entre estas tres regiones para *Agaricia agaricites*, *Montastraea cavernosa* y *Siderastrea siderea*.
- Determinar si existe evidencia de algún tipo de agrupación entre colonias contagiadas por SCTL D y colonias aparentemente sanas.

6. MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Recolección de muestras

Las muestras provienen de 6 localidades distintas ubicadas en el Caribe Mexicano, siendo “La Bocana” la localidad más septentrional y Sian Ka'an la localidad más sureña (Fig. 2). Se recolectaron un total de 82 muestras del coral *A. agaricites*, 84 de *M. cavernosa* y 77 de *S. siderea* (Tabla 1). El tejido fue recolectado utilizando un martillo y un clavo para desprender una porción de aproximadamente 2 cm² de la colonia. Las muestras fueron preservadas en RNAlater, y se depositaron en tubos eppendorf de 1.5 ml almacenados a una temperatura de -4°C.

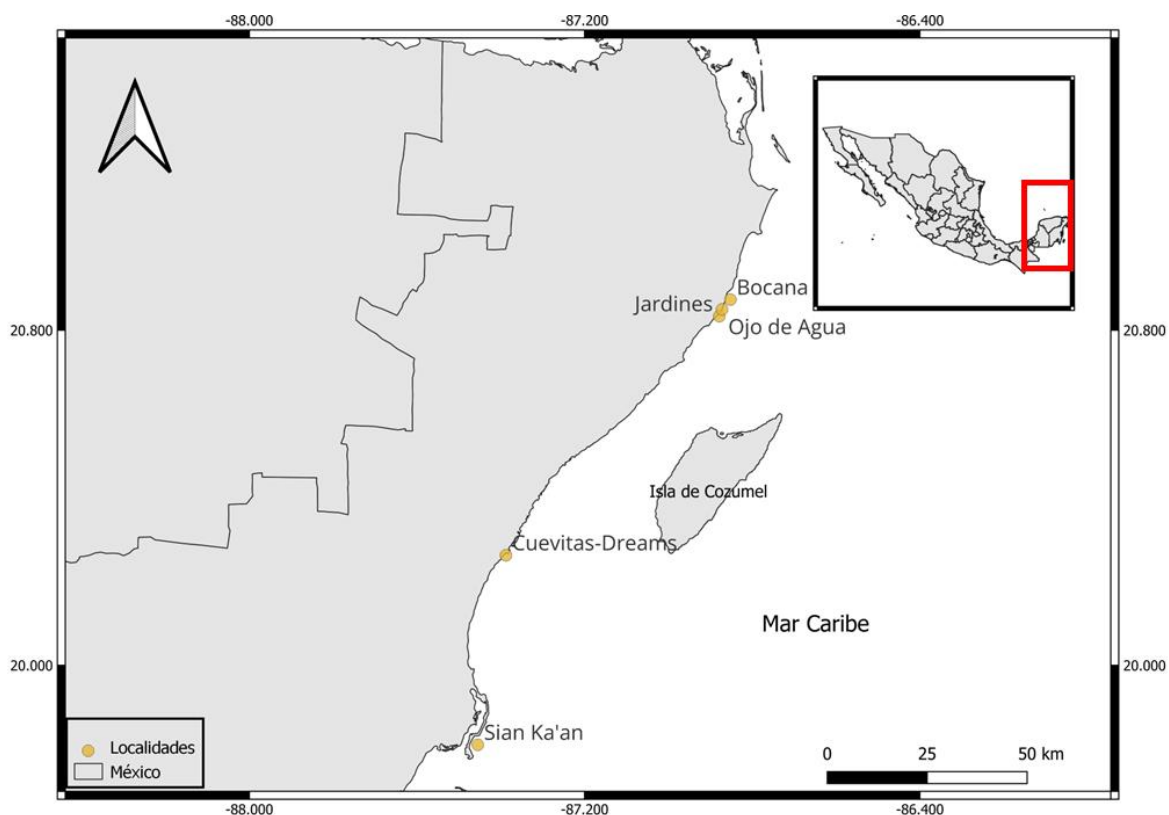


Figura 2. Mapa de las localidades donde se recolectaron las muestras.

Tabla 1. Número de individuos por especie y localidad

Localidades	<i>Agaricia agaricites</i>	<i>Montastraea cavernosa</i>	<i>Siderastrea siderea</i>
Bocana	4	3	-
Cuevitas-Dreams	30	33	27
Jardines	2	5	6
Ojo de Agua	1	3	4
Sian Ka'an	17	14	13
Tanchacté	28	26	27
Total	82	84	77

6.2 Extracción de ADN

Se aisló el ADN por medio del kit “DNeasy Blood & Tissue” con ligeras modificaciones, utilizando 10 µl de proteinasa K e incubando en baño maría a 56°C durante toda la noche. El ADN aislado fue cuantificado mediante espectrofotometría (Nanodrop TM 2000) y fluorometría (Qubit Thermo Scientific®). Con la finalidad de evaluar la integridad del ADN extraído, este fue visualizado mediante geles de agarosa-synergel al 1% utilizando una escalera de referencia con peso molecular de 1 kb. Los geles fueron visualizados en el fotodocumentador ChemiDoc™ (Biorad).

6.3 Elaboración de librerías ddRAD-seq

Las librerías de ADN asociado a restricción de doble digestión (ddRAD) fueron realizadas mediante el protocolo de Peterson y colaboradores (2012). Con la finalidad de evitar el efecto de lote, las muestras fueron mezcladas de manera aleatoria sin importar la especie analizada. Se digirieron alrededor de 100-200 ng de ADN genómico por muestra utilizando las enzimas de restricción EcoRI-HF y MspI (10 U totales por cada enzima de restricción). Seguido de este paso, se realizó una limpieza y purificación de los fragmentos por medio de 1.5X de perlas de AMPure (Beckman). La ligación de los adaptadores (P1-barcode y P2-common) fue realizada en una reacción con un volumen de 40 µl, donde el contenido de estas reacciones era: 30 µl del ADN digerido y 10 µl del

Master mix de ligación (1X Buffer T4 Ligasa, 100 U T4 ADN Ligasa, 0.1 μ M adaptador P2) y 2 μ M de adaptador P1. La solución fue dejada a incubar a temperatura ambiente durante toda la noche. Posteriormente, el ADN ligado fue purificado con 1.5X Ampure beads. Para comprobar que la ligación se había llevado a cabo correctamente se realizó un PCR. La PCR contó con una etapa de desnaturalización de 2 minutos a 94°C, seguido de 32 ciclos de 30 segundos a 94°C, un periodo de alineamiento de 30 segundos a 60°C y una extensión de 45 segundos a 72°C, al acabar cada ciclo las muestras fueron llevadas a 4°C. Una vez que concluida las PCR de comprobación, el DNA ligado fue cuantificado en Qubit (Thermo Scientific®) para elaborar pools equimolares de las muestras con diferente barcode. Cada pool fue sometida a una selección de fragmentos con un tamaño de 220 a 400 pb en Pippin Prep (Sage Science). Posterior a la selección de fragmentos, lo siguiente fue llevar a cabo un enriquecimiento, agregando un índice específico por pool que también contiene los adaptadores de secuenciación de Illumina. En total se mandaron a secuenciar 3 pools con un total de 48 individuos por cada uno. Las librerías fueron secuenciadas en la plataforma Illumina Hi-seq 4,000 (Novogene, Sacramento, California).

6.4 Análisis bioinformáticos

6.4.1 Análisis de las secuencias en crudo y demultiplexado

El nivel de calidad Phred de las secuencias fue analizado en el programa FastQC V0.12 con el objetivo de comprobar que no existan evidencias de errores aparentes. Se revisó que el promedio de la calidad de las secuencias se encontrara al nivel 30 de calidad Phred mediante el programa FastQC V0.12. Una calidad inferior en las secuencias aumentaría nuestro grado de error al momento de tratar de lograr la identificación de SNP's. Una vez comprobada que la calidad de las secuencias fuera superior a 30 en la escala Phred, lo siguiente fue realizar el demultiplexado de las lecturas por muestra. Esta acción fue realizada en el pipeline de STACKS v2.54 (Catchen, *et al.* 2013). Para el demultiplexado se empleó el comando "*proccess_radtags*" y se especificó que se descartaran las secuencias con bases ambiguas (-c), las lecturas con baja calidad (-q) y se rescataran barcodes con un mismatch (-r).

6.4.2 Limpieza de lecturas hospedero-simbionte

Se realizó un filtrado de las secuencias del holobionte para distinguir las lecturas que pertenezcan al hospedero y del simbiote. Si bien, no se cuenta con un genoma de referencia para las especies en cuestión, se utilizaron los genomas disponibles de especies emparentadas al igual que genes disponibles en NCBI de las especies *A. agaricites* y *S. siderea*. Los genomas utilizados pertenecen a *Pachyseris speciosa* (GCA_016490735.1), *Montastrea cavernosa* (Rippe, et al. 2021), *Orbicella faveolata* (GCF_002042975.1) y a una base de datos conjunta de especies del Caribe (Beavers, et al. 2023). Con esta información, se creó un archivo concatenado que posteriormente fue utilizado en el programa Bowtie2 (Langmead & Salzberg, 2012) para crear un índice que nos permita alinear e identificar las lecturas que pertenezcan al hospedero del resto del holobionte.

Con la finalidad de identificar las lecturas que pertenecen a las zooxantelas, se utilizó el genoma de los simbioses del género *Simbiodium* (GCA_001939145.1) *Brevolium* (GCA_000507305.1) *Cladocopium* (Liew, et al. 2016) y *Durusdinium* (Shoguchi, et al. 2021.). Estos genomas fueron utilizados para crear un índice exclusivo de simbioses y así identificar las lecturas que pertenezcan a este grupo. Una vez identificadas las lecturas que pertenecen al hospedero, se eliminaron aquellas colonias que tuvieran menos de 750,000 secuencias pertenecientes al coral.

6.4.3 Pruebas de parametrización y ensamblaje *de novo*

Debido a que al momento en la que esta tesis fue realizada no se contaba con genomas de referencias para las especies analizadas, se realizó un ensamblaje *de novo* en el pipeline STACKS. Por medio del comando "*denovo_map.pl*" se ejecutan de manera secuencial los módulos de construcción de loci en Stacks. Para ello se consideró el número máximo de diferencias permitidas entre dos alelos diferentes para conformar un loci putativo (*-M*), el número de alelos iguales necesarios para formar un stack (*-m*) y el número de diferencias permitidas entre los distintos stacks conformados para juntarlos o no en uno solo (*-n*), se realizaron una serie de pruebas con el objetivo de saber que combinaciones brindaban una mayor cantidad de SNP's. Los valores que otorgan un mayor rendimiento fueron -M 2 -m 3 -n 3 para ambas especies. Posteriormente se

utilizó el módulo “populations” para filtrar los loci obtenidos previamente, en este módulo se consideró el 80% mínimo de individuos en los que cada locus debe estar presente ($r= 0.8$) y el valor de frecuencia alélica menor en las localidades ($min_maf = 0.05$) y que el locus debe estar presente en por lo menos 2 de las 3 localidades ($p=2$) (Paris, *et al.* 2017).

6.4.4 Filtrado de colonias e identificación de SNP's bajo aparente selección

Una vez realizadas las pruebas de parametrización, se realizaron pruebas para evaluar el porcentaje de genotipos faltantes por colonias. Para ello se usó el comando `--missing-indv` y se eliminaron las colonias que presentaron valores mayores de 30% de datos faltantes en este rubro para volver a hacer el cálculo de porcentaje de genotipos faltantes con las colonias restantes. Con el comando `--max-missing` se evaluó y posteriormente se eliminaron los loci que tuvieran 20% de datos faltantes. Todos estos análisis fueron realizados por medio de VCFtools v0.1.16 (Danecek, *et al.* 2011).

Los SNP's que permanecieron después de estos filtros, se les llevaron a cabo pruebas de detección de loci outliers (candidatos a selección) por medio del programa Bayescan v 2.1 (Foll & Gaggiotti, 2008) y el paquete de R PCadapt v4.3.5 (Luu, *et al.* 2017). Bayescan emplea un método bayesiano (descrito por Beaumont & Balding, 2004) que calcula un coeficiente de F_{st} , el cual permite detectar aquellos loci outliers e identificar la fuerza y dirección de la selección (en función del valor alpha de cada loci). Los parámetros utilizados en este programa para ambas especies fueron: pr_odds de 100, $burn-in$ de 50,000 pasos y 100,000 interacciones. Los SNP's que obtuvieron un valor de q inferior a 0.05 se consideraron que se encontraban bajo selección.

PCadapt correlaciona la variación genética de los marcadores con los primeros valores de los componentes principales. Los valores de p obtenidos fueron corregidos por medio de una corrección de Bonferroni para ambas especies.

Posteriormente se detectaron aquellos loci que se encontraban en desequilibrio de Hardy-Weinberg. Se aplicaron 10,000 permutaciones y los valores de p fueron corregidos por medio de una prueba de *False Discovery Rate* (FDR, por sus siglas en inglés). Los loci que se encuentran en

desequilibrio en dos o más localidades para el caso de *S. siderea* y en una localidad para *A. agaricites*, fueron retirados, esto fue realizado en el paquete de R y Adegnet v2.1.10 (Jombart, 2008). Los SNP's detectados como outliers y en desequilibrio de Hardy-Weinberg fueron retirados por medio del programa VCFtools v0.1.16 utilizando el comando `– exclude`. Los archivos vcf obtenidos fueron exportados por medio del programa PGDSpider v2.1.1.5 (Lischer & Excoffier, 2012) a los formatos pertinentes para el resto de análisis.

6.4.5 Análisis de diversidad genética, parentesco y Fst

La diversidad genética fue evaluada para ambas especies por medio de los valores de heterocigocidad esperada (H_e), heterocigocidad observada (H_o), riqueza alélica (R_a) y el coeficiente de endogamia (F_{is}). Estos valores se obtuvieron por medio de la paquetería de R, Hierfstat v0.5-11 (Goudet, 2005) utilizando el comando de `basic.stats`. El coeficiente de parentesco o *relatedness phi*, fue calculado por medio de VCFtools con ayuda del comando `--relatedness2`. El valor máximo posible para este coeficiente es de 0.5 el cual únicamente es alcanzado por la comparación de un individuo consigo mismo (o en su defecto, con algún clon) (Manichikul, *et al.* 2010). Un valor de 0 nos habla de la inexistencia de una relación parental reciente mientras que valores negativos nos dan a entender que ambos individuos provienen de poblaciones distintas (Manichikul, *et al.* 2010). El valor de F_{st} global fue calculado por medio de la función `basic.stats`. Posteriormente se calculó los valores de F_{st} Posteriormente se realizó el cálculo de F_{st} entre regiones por medio de una comparación pareadas. Este cálculo se realizó en Arlequín mediante un proceso de 10,000 permutaciones. Los valores de P fueron corregidos por medio de la corrección de Bonferroni.

6.4.6 Análisis discriminante de componentes principales (ADCP)

Este tipo de análisis multivariado es útil para identificar y agrupar individuos que se encuentren relacionados. El análisis discriminante busca maximizar las diferencias entre grupos mientras reduce la variación en el interior del grupo. Siendo esta la principal diferencia entre este tipo de análisis y un análisis de componentes principales (Jombart, *et al.* 2010). Este análisis fue realizado

en la paquetería de R, Adegenet. Por medio del comando *find.clusters* se identificaron el número de clusters más probables con ayuda del valor del método de criterio de información bayesiano (BIC, por sus siglas en inglés). El número de clusters elegido es aquel que presente el valor de BIC menor y en el cual, los valores posteriores aumentan o disminuyen muy poco (Jombart, *et al.* 2010). Una vez identificado el número de clusters, se determinó el número mínimo de componentes a utilizar por medio de un análisis de validaciones cruzadas, para posteriormente graficar el ADCP por medio del comando *dacp*.

6.4.7 Análisis de Clusters (Structure)

El análisis de clusters fue realizado por medio de STRUCTURE v2.3.4. (Pritchard, *et al.* 2000). Se especificó que el número de grupos posibles fuera del 1 al 4. Cada posible escenario en cuanto al número de agrupaciones posibles fue probado 5 veces, con un *burn-in* de 10,000 y 100,000 interacciones de cadenas de Markov Monte Carlo (*Markov Chain Montecarlo*, MCMC, por sus siglas en inglés). El número de clusters más probables, fue identificado por medio de la graficación de los valores de delta-K, los cuales fueron obtenidos en el programa STRUCTURE SELECTOR (Ly & Liu, 2018) (<https://lmme.qdio.ac.cn/StructureSelector/>). Los resultados de STRUCTURE fueron recopilados y visualizados en CLUMPACK (Kopelman, *et al.* 2015).

7. RESULTADOS

Se consideró que una colonia había sido secuenciada de manera exitosa cuando estas poseían más de 750,000 lecturas. En total se secuenciaron con éxito 51 muestras de *S. siderea* mientras que para *A. agaricites*, 29 muestras. Únicamente fue posible secuenciar con éxito 1 colonia de *M. montastrea* por lo que no se pudo continuar con el análisis de dicha especie (Anexo D). Posterior a obtener las lecturas y de haber realizado los filtrados de lecturas simbiote-hospedero, lo siguiente fue realizar las pruebas de parametrización. Los parámetros que brindaron mejores resultados para el módulo de *denovo_map.pl*, fueron -M 2 -m 3 -n 3 para ambas especies. Lo siguiente fue determinar el número de SNP's bajo aparente selección por medio de PCadapt, Bayescan. De igual forma se descartaron aquellos marcadores que no se encontraban en equilibrio de Hardy-Weinberg. En total, 379 sitios variantes fueron removidos para el caso de *S. siderea*. 62 sitios variantes fueron removidos para *A. agaricites* (Anexo I). Para *Siderastrea* se utilizaron 4,047 SNP's mientras que para *A. agaricites* se obtuvieron 405 posterior a la remoción de marcadores bajo aparente selección.

7.1 Análisis de diversidad genómica neutral

7.1.1 Análisis de diversidad genómica neutral y parentesco de *Siderastrea siderea*

Los valores de heterocigosidad observada para las tres regiones en el caso de *S. siderea*, fueron valores similares y rondaron entre 0.18-0.19, mientras que los valores de heterocigosidad esperada obtenidos fueron de 0.26 a 0.27 (Tabla 2). La riqueza alélica fue similar para las tres regiones, siendo la región del sur, aquella con el menor valor producto probablemente del bajo tamaño de muestra, con una riqueza alélica de 1.65, mientras que el norte fue la localidad con el valor más alto (1.86, Tabla 2). Como se observa tanto en la H_o , como en el coeficiente de consanguinidad, se presentaron valores elevados de endogamia para las tres regiones analizadas para *S. siderea*.

Tabla 2. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por región geográfica

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Norte	24	1.68	0.18	0.26	0.26
Centro	12	1.67	0.19	0.26	0.21
Sur	5	1.65	0.18	0.27	0.23
Total	41	1.66	0.18	0.26	0.24

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Como se detalla más adelante, se encontraron evidencias de la presencia de dos linajes en el interior del área de estudio para el caso de *S. siderea*. Por lo cual, se decidió evaluar los valores de diversidad genética para ambos linajes. Como se observa en la Tabla 3, la diferencia entre los valores de heterocigosidad observada y la heterocigosidad esperada es menor si se compara con los valores obtenidos para el análisis basado en regiones geográficas. Sin embargo, a pesar de haberse reducido la brecha entre la heterocigosidad observada y esperada, se observa que sigue existiendo un déficit de heterocigotos para ambos linajes con un coeficiente de endogamia (Fis) promedio de 0.17 (Tabla 3). La riqueza alélica para el linaje 1 y 2 fue similar, con valores de 1.71 y 1.75, respectivamente.

Tabla 3. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por linaje

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Linaje 1	20	1.71	0.18	0.22	0.14
Linaje 2	21	1.75	0.19	0.23	0.19
Total	41	1.73	0.18	0.22	0.17

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Se evaluaron los valores de diversidad genética para *S. siderea* por condición. Este análisis evidenció igualmente el déficit de heterocigotos al igual que análisis anteriores (Tabla 4). Los valores de riqueza alélica promediaron un valor de 1.48 alelos por colonia, siendo este valor el más bajo para todas las agrupaciones propuestas (Tabla 4).

Tabla 4. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por condición perteneciente al linaje 1.

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Sano	7	1.49	0.17	0.28	0.295
Enfermo	13	1.48	0.18	0.27	0.24
Total	20	1.48	0.18	0.27	0.27

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Al igual que el resto de casos, el linaje 2 subdividido por condición también evidenció señales de endogamia. Observamos que el valor del coeficiente de endogamia Fis, promedio un valor de 0.25. Contrario a lo mostrado por el linaje 1, los valores de riqueza alélica para el linaje 2 por condición presentaron los valores más altos registrados para *S. siderea* en este estudio (Ra=1.80) (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por condición perteneciente al linaje 2.

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Sano	11	1.79	0.18	0.27	0.26
Enfermo	10	1.80	0.19	0.27	0.24
Total	21	1.80	0.19	0.27	0.25

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Posteriormente, se evaluó el coeficiente de parentesco con la finalidad de determinar si el exceso de homocigotos es derivado a causa de altos niveles de clonalidad y/o parentesco. No se encontraron evidencia de clones en las muestras analizadas (Fig. 3). Se observan “parches” con coloración rojo intenso que corresponde a relaciones de segundo grado entre los individuos pertenecientes al mismo linaje. De igual manera es de destacar el grado de diferenciación entre la colonia Nor_446 vs el resto de individuos (Fig. 3). Las colonias que resaltan con un rojo más intenso en el mapa de calor, son aquellas que fueron muestreadas 2 veces. Las etiquetas PCF_394 y PCF_395 pertenecen a una misma colonia. Caso similar a lo ocurrido con las muestras etiquetadas como PCF_448 y PCF_449 (Fig. 3).

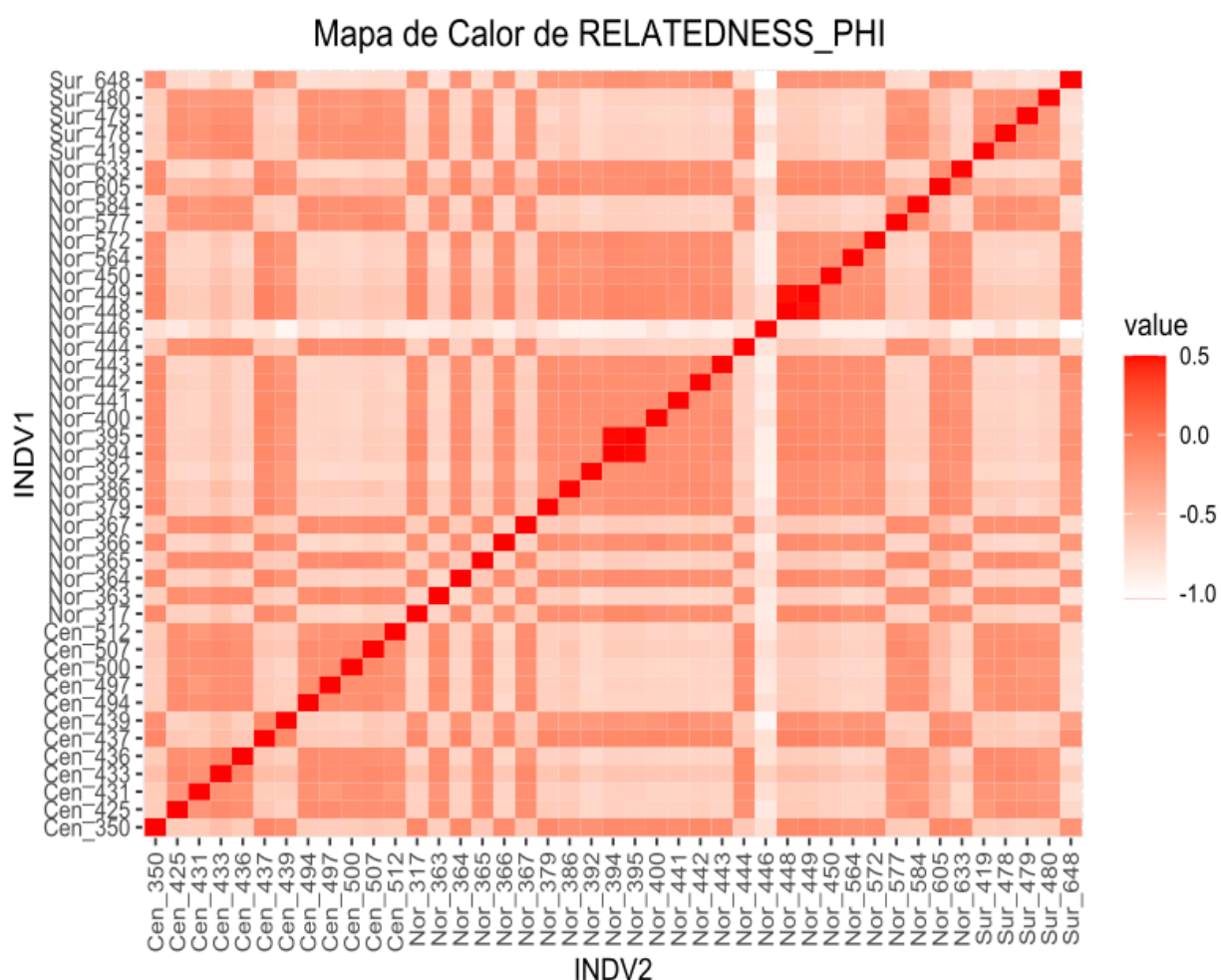


Figura 3. Mapa de calor con el coeficiente de parentesco Phi *para Siderastrea siderea*. Los valores van desde el 0.5 (en rojo) hasta -1 (en blanco).

7.1.2 Análisis de diversidad genómica neutral y parentesco de *Agaricia agaricites*

A. agaricites conservó colonias únicamente en dos localidades distintas. Los valores de Heterocigosidad observada fueron mayor para la región del norte (0.22) mientras que para el sur fue un valor de 0.19. La riqueza alélica fue mayor para la región del norte con 1.61, mientras que la región con el menor número de muestra fue de 1.33 (Tabla 6). Comparado a los resultados obtenidos por *S. siderea*, *A. agaricites* presentó un menor valor de coeficiente de endogamia (Fis=0.13) (Tabla 6).

Tabla 6. Valores de diversidad genética de *Agaricia agaricites*.

Región	N	Ra	Ho	He	Fis
Norte	21	1.61	0.22	0.25	0.15
Sur	3	1.33	0.19	0.15	-0.26
Total	24	1.47	0.20	0.23	0.13

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Al igual que lo hecho para *S. siderea*, se evaluaron los valores diversidad genética por condición para *A. agaricites*. Por medio de esta agrupación, se registraron los mismos valores de Fis y resultados muy similares con respecto a los valores de heterocigosidad observada y esperada registrados previamente (Tabla 6 y 7).

Tabla 7. Valores de diversidad genética de *Agaricia agaricites* por condición.

Región	N	Ra	Ho	He	Fis
Sano	12	1.84	0.20	0.25	0.15
Enfermo	12	1.87	0.23	0.26	0.11
Total	24	1.85	0.22	0.25	0.13

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Posteriormente, se obtuvieron los valores coeficientes de phi para determinar la existencia de clones. Las réplicas técnicas son aquellas con la etiqueta “1” y fueron aquellas que presentaron los valores de phi más elevados una vez que se comparó con su muestra de origen, acorde a lo esperado (Fig. 4). De igual manera se observa que las colonias del sur se encuentran emparentadas. Las colonias Sur_694 y Sur_695 obtuvieron un valor de relatedness phi de 0.17, lo cual los clasifica como parientes de segundo grado (Fig. 4). No se registraron evidencias de colonias clonales.

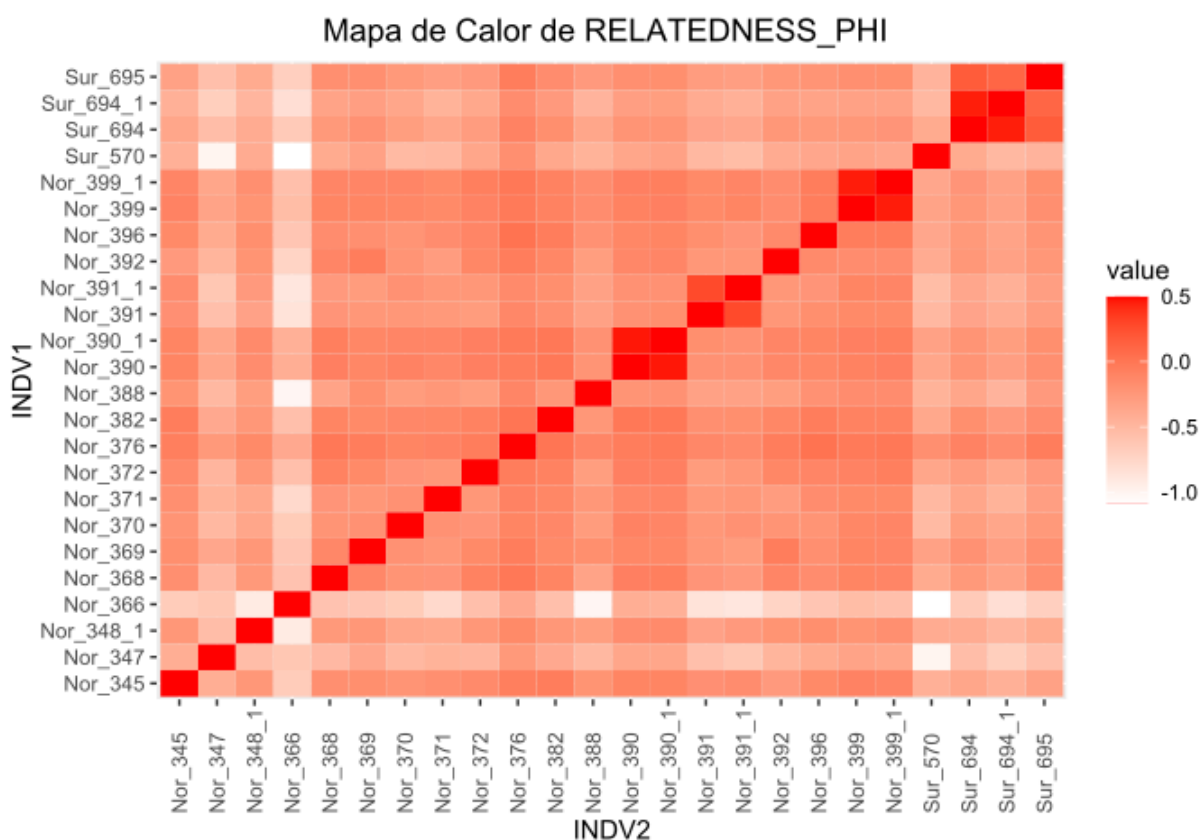


Figura 4. Mapa de calor con el coeficiente de parentesco Phi *para Agaricia agaricites*. Los valores van desde el 0.5 (en rojo) hasta -1 (en blanco).

7.2 Análisis de estructura genómica neutral

La estructuración genómica neutral fue determinada por tres métodos distintos. A través de un análisis de clusters, por medio de un análisis discriminante de componentes principales (ADCP) y mediante la evaluación de los valores de F_{st} . De igual manera, se realizó un análisis de ADCP y F_{st} por condición entre los corales sanos y enfermos, con la finalidad de determinar si existen linajes más susceptibles a contraer SCTL. D.

7.2.1 Estructura genética neutral de *Siderastrea siderea* por región geográfica

Se procedió a analizar las muestras mediante el programa STRUCTURE para obtener los niveles de estructuración de la población. Con el fin de encontrar el número de población más probable (K), se graficaron los valores de Delta-K en STRUCTURE SELECTOR, determinando que el valor de K más probable era 2 (Anexo C) (Fig. 5).

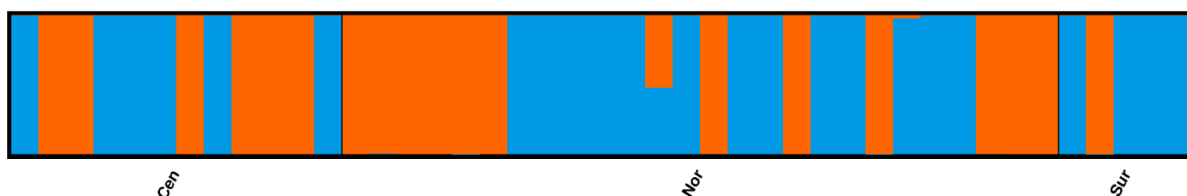


Figura 5. Valores de asignación determinados para *S. siderea* con un K=2.

Previo a la realización del ADCP, se intentó obtener el número de clusters óptimo por medio del valor de BIC. Por desgracia el cálculo de clusters por este medio no fue concluyente (Fig. 6).

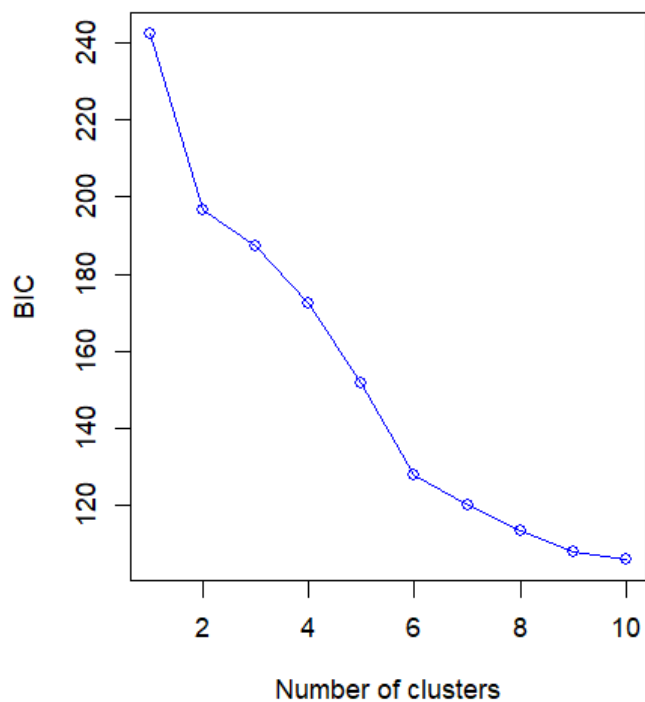


Figura 6. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente para *S. siderea*.

El ADCP para *S. siderea* agrupa a las regiones del centro y sur muy cercanas, mientras que la agrupación del norte, se mantiene alejado del resto de grupos, a pesar de haber cierto traslape (Fig. 7).

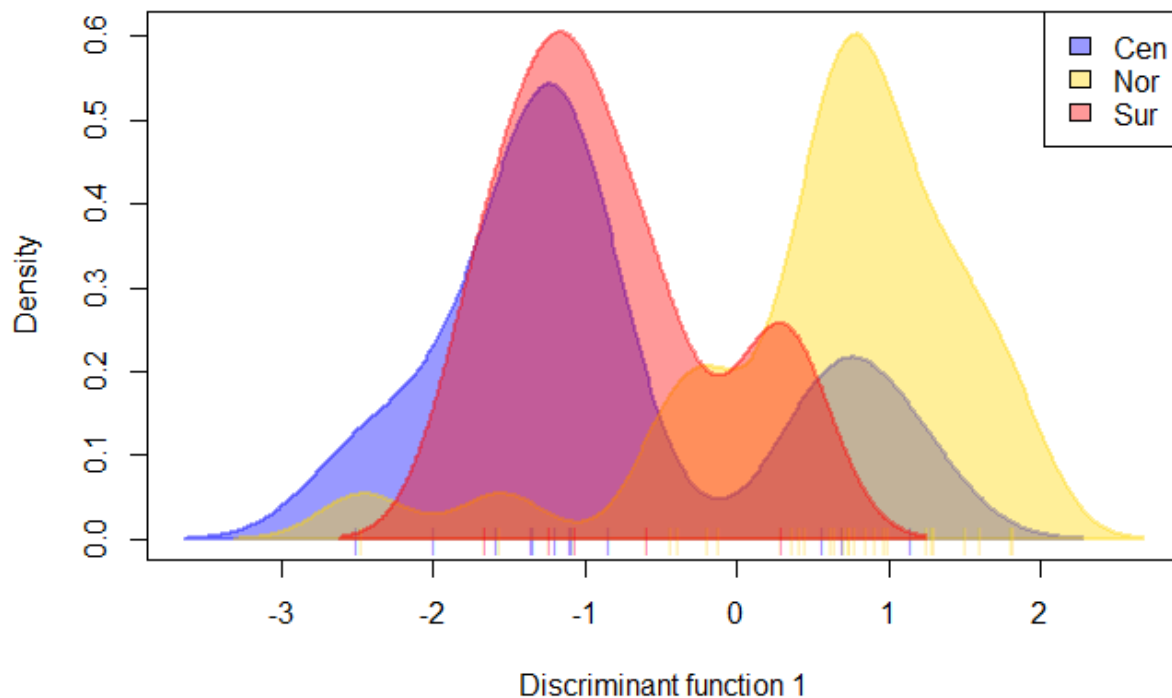


Figura 7. Análisis discriminante de componentes principales por regiones perteneciente a *S. siderea*.

Lo siguiente fue analizar los valores de F_{st} . Un valor de F_{st} igual a cero, nos habla de una completa igualdad entre las regiones analizadas, mientras que un valor de uno, nos habla de una completa diferenciación entre los sitios. Para las regiones analizadas en *S. siderea*, se obtuvieron valores inferiores a 0.1 para todas las comparaciones. A pesar de encontrar una baja diferenciación entre las regiones analizadas, se detectaron diferencias significativas entre las regiones del centro y sur, contra el norte (Tabla 8). Esto sustenta lo encontrado en el análisis de ADCP para esta especie, en donde las regiones del sur y centro, se encuentran emparentadas entre ellas.

Tabla 8. Valor de F_{st} para 4,047 SNP's neutrales correspondientes a *S. siderea* por región.

Región	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.002	0.019
Centro	0.086*	-	0.754
Sur	0.085	0	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

7.2.2 Estructura genómica neutral de *Siderastrea siderea* por linajes

El análisis de DAPC obtenido al momento de graficar los linajes no presenta traslape, a diferencia de lo que se observó en dicho análisis basado en regiones geográficas (Fig. 8). Estos linajes parecen explicar de mejor manera la estructura poblacional presentada en *S. siderea*.

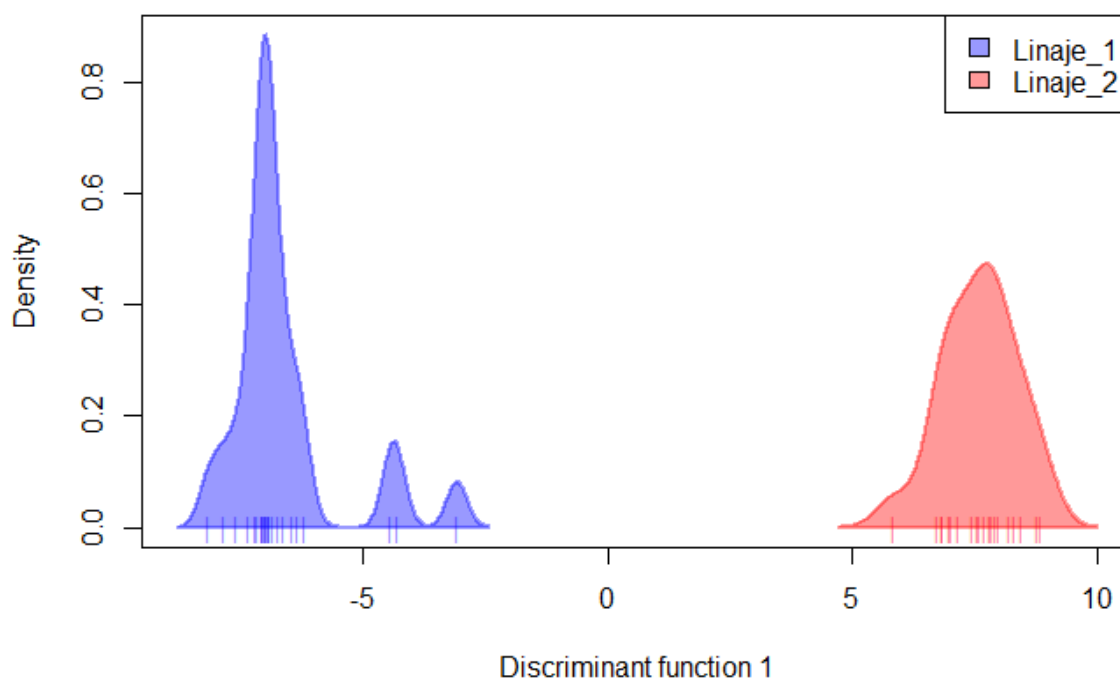
**Figura 8.** Análisis discriminante de componentes principales por linaje perteneciente a *S. siderea*.

Tabla 9. Valor de *Fst* para 4047 SNP's neutrales correspondientes a *S. siderea* por linaje genético.

Linaje	Linaje 1	Linaje 2
Linaje 1	-	0.000
Linaje 2	0.308*	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

A continuación, se muestran colonias que forman parte de los linajes 1 y 2. Las colonias del linaje 1, con ID "Col 431" y "PCF 450" son colonias pertenecientes a la región centro (Cuevitas) y Norte (Tanchacté) respectivamente (fig. 9). Las colonias "Col 433" y "PCF 379" pertenecen a las mismas regiones anteriormente mencionadas. La "Col 433" pertenece a la región centro (Cuevitas) mientras que la "PCF 379" pertenece al Norte.

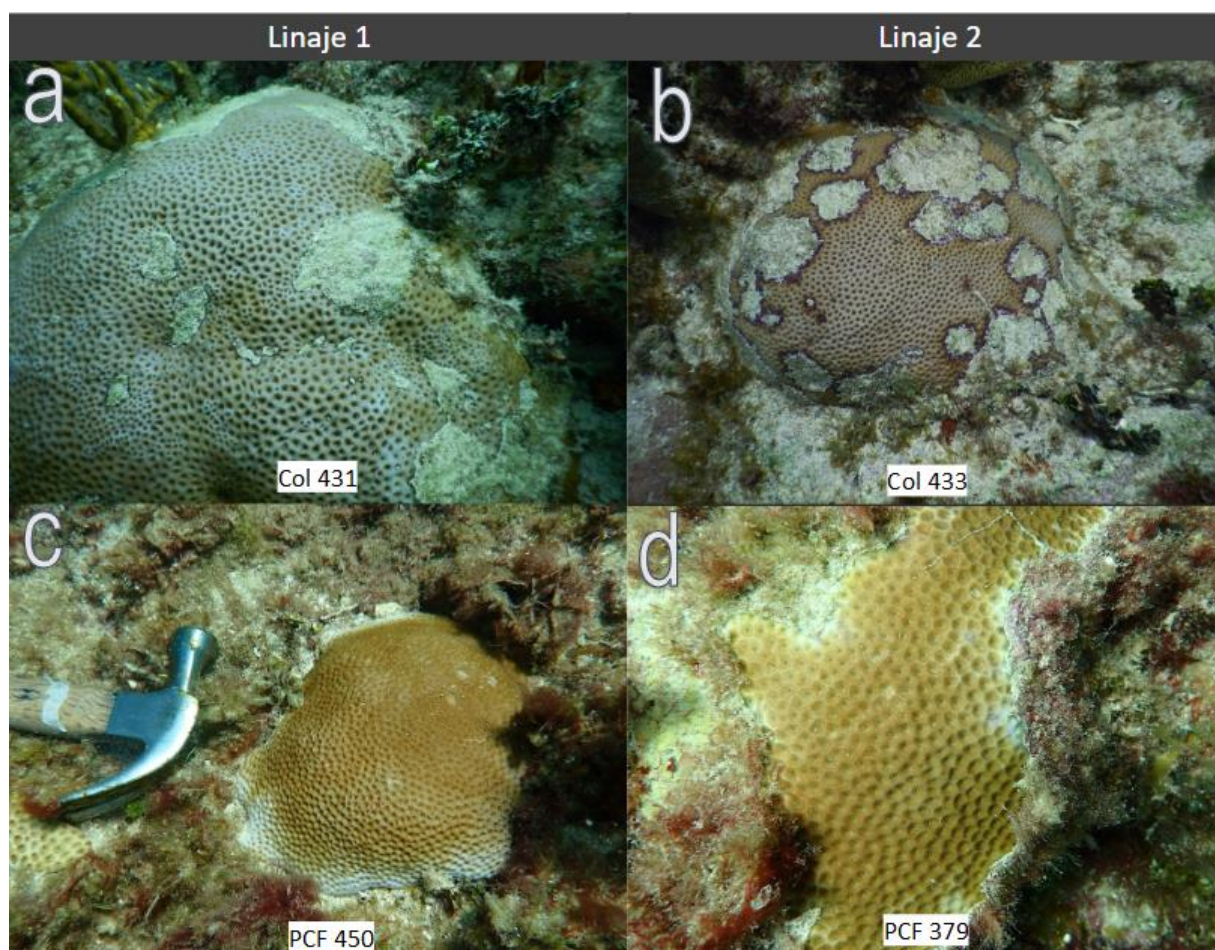


Figura 9. Colonias de coral de *S. siderea* muestreadas en campo. Las colonias a y b pertenecen al linaje 1, mientras que las colonias b y d al linaje 2.

Una vez determinada la presencia de dos linajes para la especie de *S. siderea*, se realizaron análisis de estructuración genética por región geográfica para cada uno de los linajes. El análisis de BIC para el linaje 1, no fue concluyente (Fig. 10).

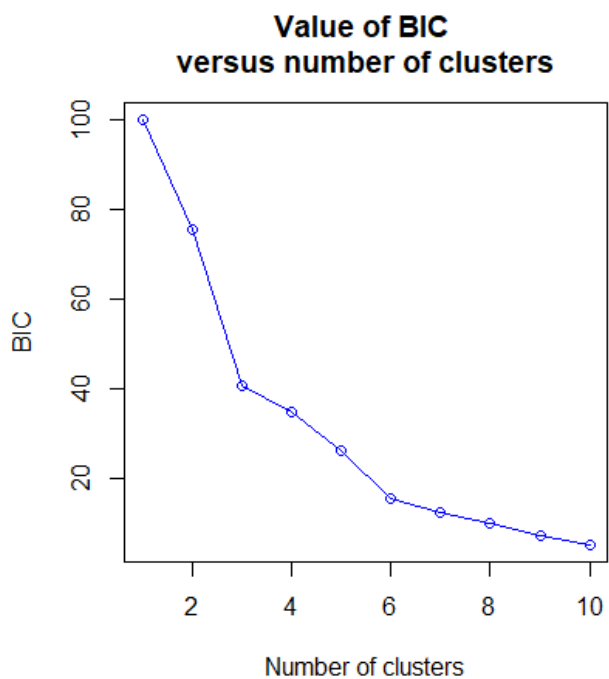


Figura 10. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente al linaje 1 de *S. siderea*.

Una vez que se realizó el ADCP, no se observaron diferencias aparentes entre la región del Norte y Centro para el linaje 1 (Fig. 11). Debido a que solo un individuo del Sur pertenecía a este linaje es que esta región fue retirada para este análisis.

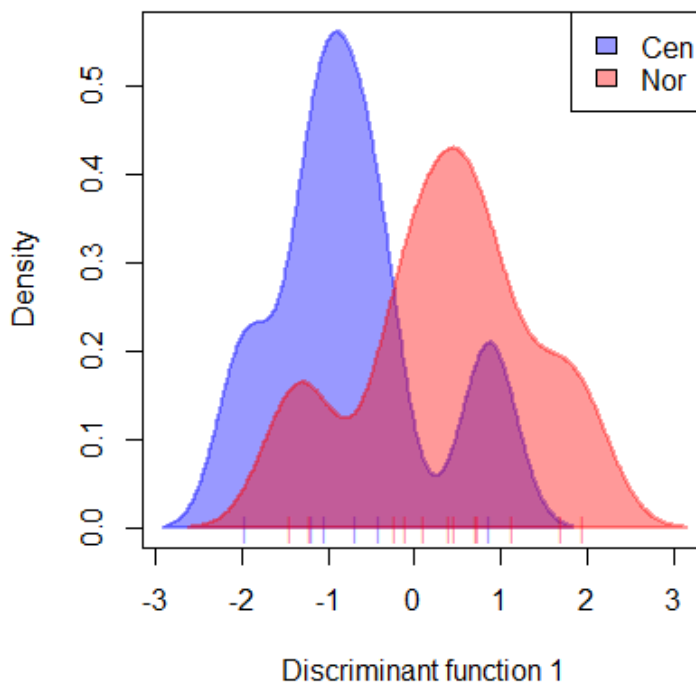


Figura 11. Análisis discriminante de componentes principales por región perteneciente al linaje 1 de *S. siderea*.

Lo anteriormente encontrado en el ADCP para el linaje 1 se sustenta con los valores de F_{st} . Las distancias genéticas entre las localidades Centro y Sur no fueron significativas (Tabla 10). Por lo cual, parece ser que los individuos del linaje presentan una distribución panmíctica.

Tabla 10. Valor de F_{st} para 4,047 SNP's neutrales correspondiente al linaje 1 de *S. siderea* por región geográfica.

Región	Norte	Centro
Norte	-	0.22
Centro	0.042	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

Pasando a los análisis de estructuración genética para el linaje 2, se realizó el análisis BIC, el cual no fue concluyente (Fig. 12).

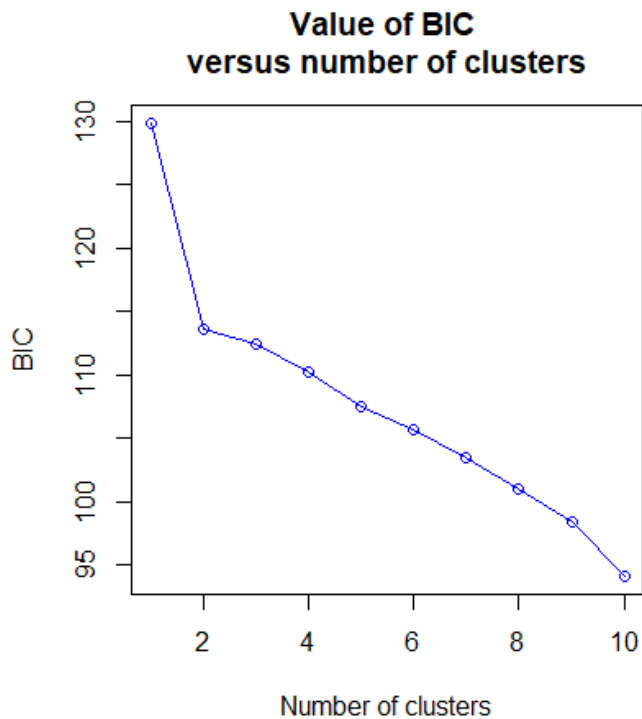


Figura 12. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente al linaje 2 de *S. siderea*.

Se realizó un ADCP para el linaje 2, en el cual se observaron la presencia de dos agrupaciones. La región del Sur aparenta ser la más distante, mientras que se observa cierto traslape entre las localidades del Centro y Norte (Fig. 13). La región del Centro se encuentra igualmente traslapada con la región del Sur. Esto puede ser evidencia de que la región Centro puede ser un área de transición entre la región Norte y Sur.

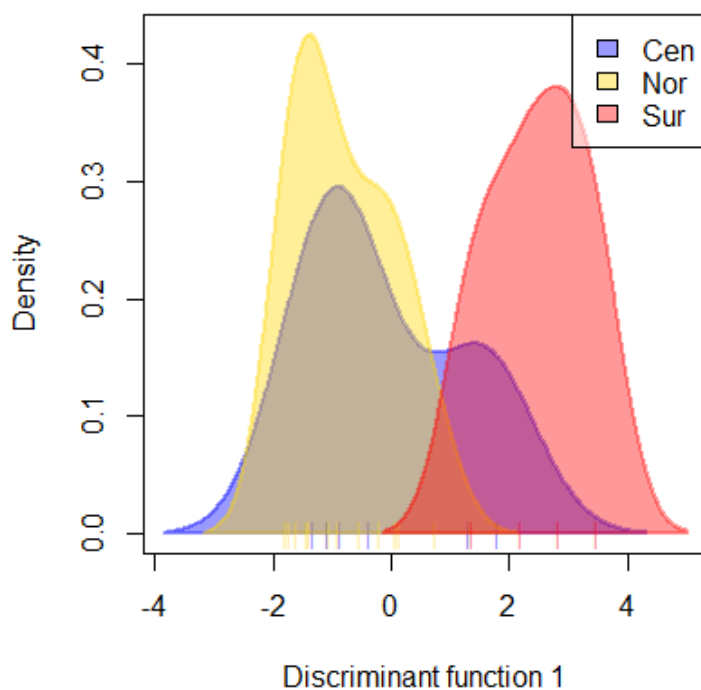


Figura 13. Análisis discriminante de componentes principales por región perteneciente al linaje 2 de *S. siderea*.

Los valores de F_{st} entre el norte y el resto de las regiones fueron superiores a 0.1. A diferencia de lo encontrado para el linaje 1 de *S. siderea* el linaje 2 mostró evidencias de estructuración genética por región geográfica (Tabla 11). Las distancias genéticas entre las regiones del Norte y Centro-Sur resultó menor a lo encontrado entre los linajes 1 y 2, pero igualmente presentó valores significativos (Norte-Centro $F_{st}=1.31$, Norte-Sur $F_{st}= 0.16$, Tabla 11).

Tabla 11. Valor de F_{st} para 4047 SNP's neutrales correspondiente al linaje 2 de *S. siderea* por región geográfica.

Región	Norte	Centro	Sur
Norte	-	0.004*	0.016*
Centro	0.131*	-	0.606
Sur	0.160*	0.001	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

7.2.3 Estructura genómica neutral de *Siderastrea siderea* por condición

Se analizaron las muestras por condición de *Siderastrea siderea*, esto con la finalidad de determinar si existían organismos o linajes más susceptibles a contraer el SCTLD. Este análisis fue realizado para ambos linajes encontrados. Para el linaje 1, el análisis de cluster realizado por BIC no fue concluyente (Fig. 14).

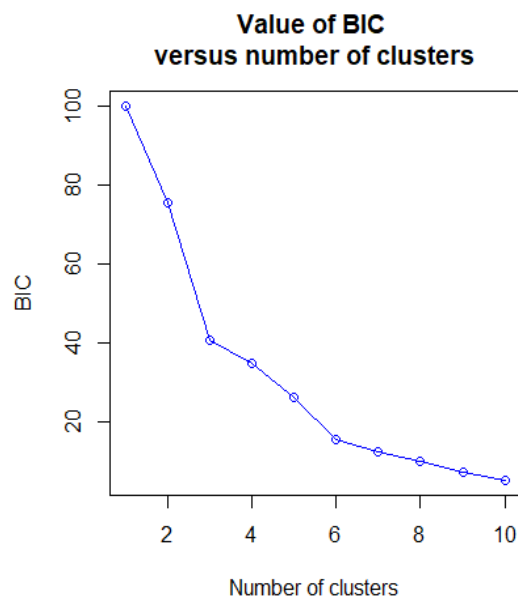


Figura 14. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente a los organismos por condición del linaje 1 de *S. siderea*.

El ADCP no arrojó evidencias de estructuración entre los organismos sanos y enfermos pertenecientes al linaje 1. Se observa que existe un traslape entre los organismos sanos y enfermos (Fig. 15). Los organismos agrupados como “sanos” presentan tres curvas normales, asociadas a las localidades norte, centro y sur. En cambio, al no contar con muestras enfermas del sur, solo se detectan dos curvas asociadas a las localidades norte y centro.

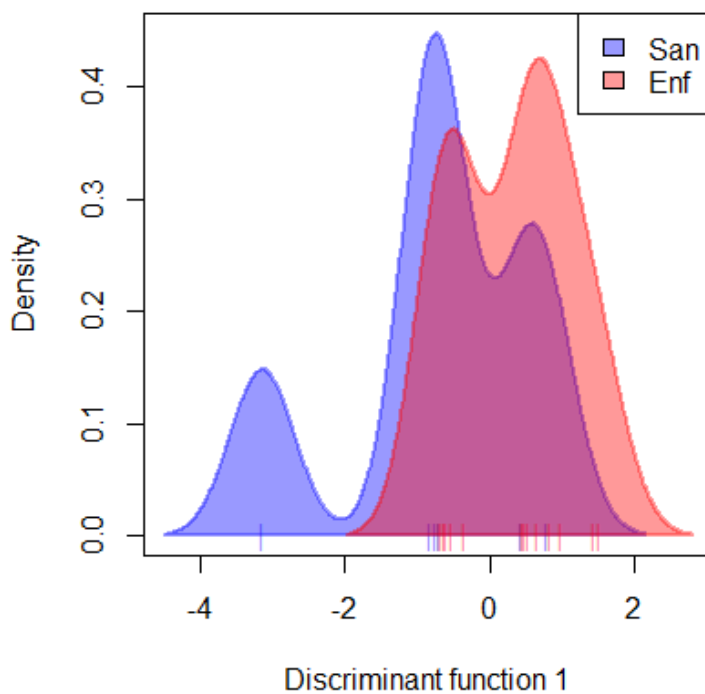


Figura 15. Análisis discriminante de componentes principales por condición perteneciente al linaje 1 de *S. siderea*.

Lo encontrado en el ADPC fue sustentado por medio de las distancias genéticas encontradas. Se observó un F_{st} entre los organismos sanos y enfermos de 0.03 no significativo (Tabla 12). Al no encontrar evidencias de estructuración por condición en el linaje 1, no existen evidencias que señalan el parentesco entre individuos contagiados por SCTL D.

Tabla 12. Valor de F_{st} para 4,047 SNP's neutrales correspondientes al linaje 1 de *S. siderea* por condición.

Condición	Sano	Enfermo
Sano	-	0.28
Enfermo	0.03	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

Algo similar fue encontrado en el análisis de estructuración genética por condición para el linaje 2. Para este linaje ninguno de los análisis realizados encontró evidencias suficientes para señalar la existencia de colonias de coral que sean particularmente susceptibles a contraer SCTLD. El análisis de BIC para el linaje 2 por condición, no arroja un número claro de agrupaciones propuestas (Fig. 16).

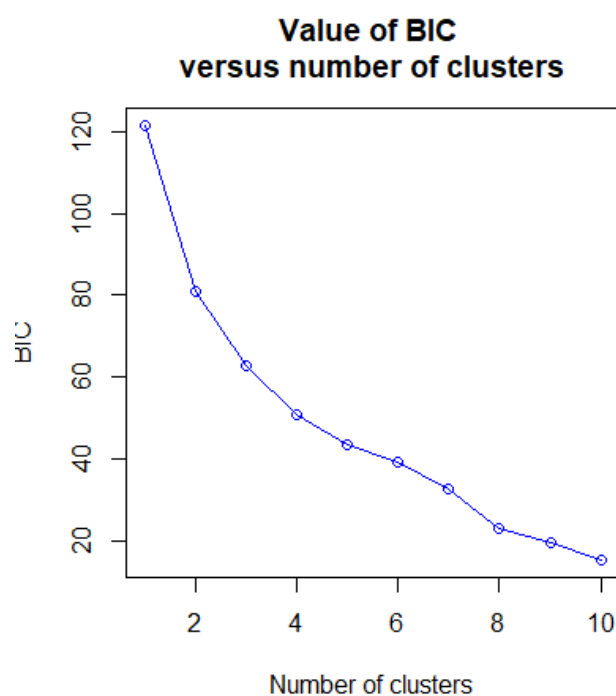


Figura 16. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente a los organismos por condición del linaje 2 de *S. siderea*.

El análisis de ADCP no arrojó evidencias de diferenciación evidentes entre los organismos sanos y enfermos (Fig. 17) siendo estos resultados similares a los encontrados para el linaje 1. Por lo

cual ningún linaje perteneciente a *S. siderea*, resultó particularmente susceptible a contagiarse por SCTLD.

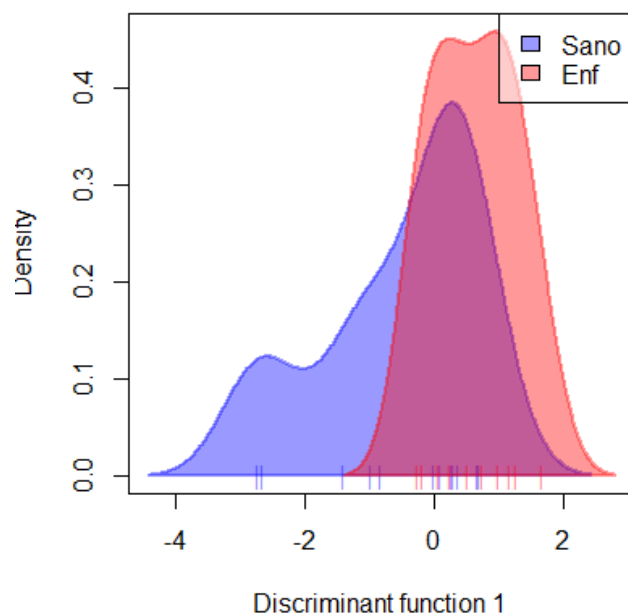


Figura 17. Análisis discriminante de componentes principales por condición perteneciente al linaje 2 de *S. siderea*.

La última prueba realizada fue la determinación de los valores de F_{st} para la agrupación entre organismos sanos o enfermos, en la cual arrojó valores de diferenciación de - 0.003 evidencia de que la agrupación entre organismos sanos y enfermos es artificial (Tabla 13).

Tabla 13. Valor de F_{st} para 4,047 SNP's neutrales correspondientes al linaje 2 de *S. siderea* por condición.

Condición	Sano	Enfermo
Sano	-	0.85
Enfermo	-0.003	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

7.2.4 Estructura genética neutral de *Agaricia agaricites* por región geográfica

El primer análisis para probar la estructuración genética fue el análisis de clusters. El valor de K óptimo detectado en STRUCTURE SELECTOR fue de 2 (Anexo C). Se observan diferencias en algunos individuos entre las regiones del norte y sur en los valores de asignación graficados en la figura 18. Aunque también es importante mencionar que esto puede ser ocasionado por un efecto de muestreo generado al bajo número de colonias secuenciadas exitosamente.



Figura 18. Valores de asignación determinados para *A. agaricites* con un K=2.

Lo siguiente fue realizar el análisis de ADCP. Para ello era necesario calcular primero el valor de BIC. Este valor se mantuvo relativamente constante conforme cambian los valores de K, sin embargo, se observa una ligera pendiente entre los valores de K=1 y K=2. El valor de BIC más bajo se observa cuando el número de clusters es igual a 15 (Fig. 19).

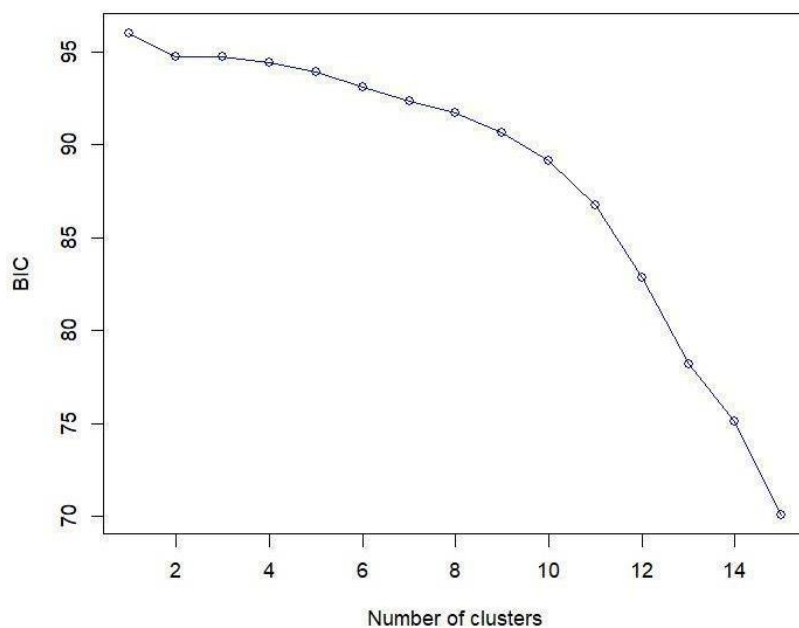


Figura 19. Número de clusters o grupos contra el valor de Criterio de Información Bayesiana (BIC) correspondiente para *A. agaricites*.

El análisis discriminante de componentes principales correspondiente a *A. agaricites* se compone de una función discriminante. En este gráfico se puede observar un par de agrupaciones claramente diferenciadas (Fig. 20).

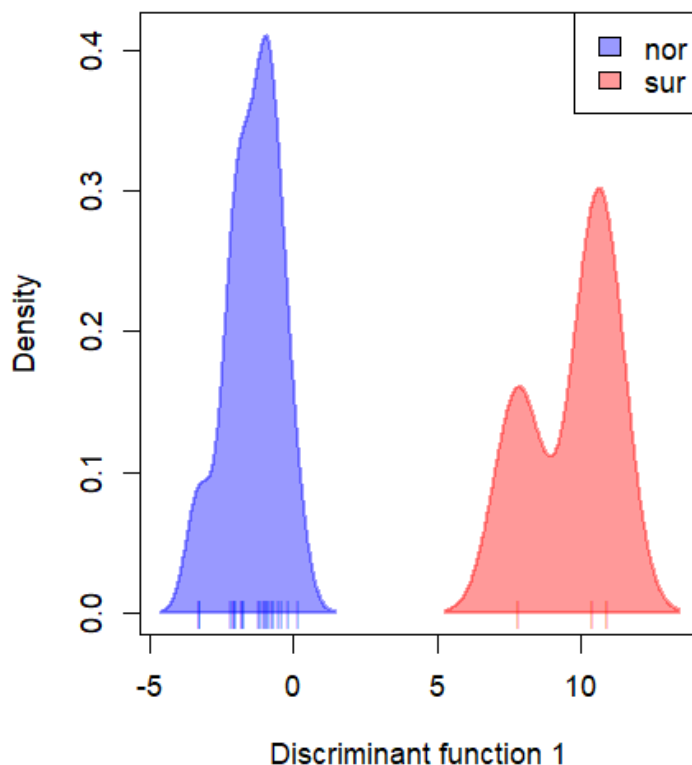


Figura 20. Análisis discriminante de componentes principales para *A. agaricites* por regiones geográficas.

Lo anteriormente descrito se soporta en el análisis de F_{st} de ambas localidades, el cual fue de 0.146 presentando diferencias significativas (Tabla 14). Los tres análisis realizados a *A. agaricites* apuntan a la presencia de un linaje por región.

Tabla 14. Valor de F_{st} para 403 SNP's neutrales correspondientes a *A. agaricites*.

Región	Norte	Sur
Norte	-	0.000
Sur	0.146*	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

A continuación, se muestran colonias que forman parte de los linajes Norte y Sur. Las colonias del Norte son “PCF 392” y “PCF 396”. Las colonias del Sur son “PCF 570” y “PCF 695” (Fig. 21)

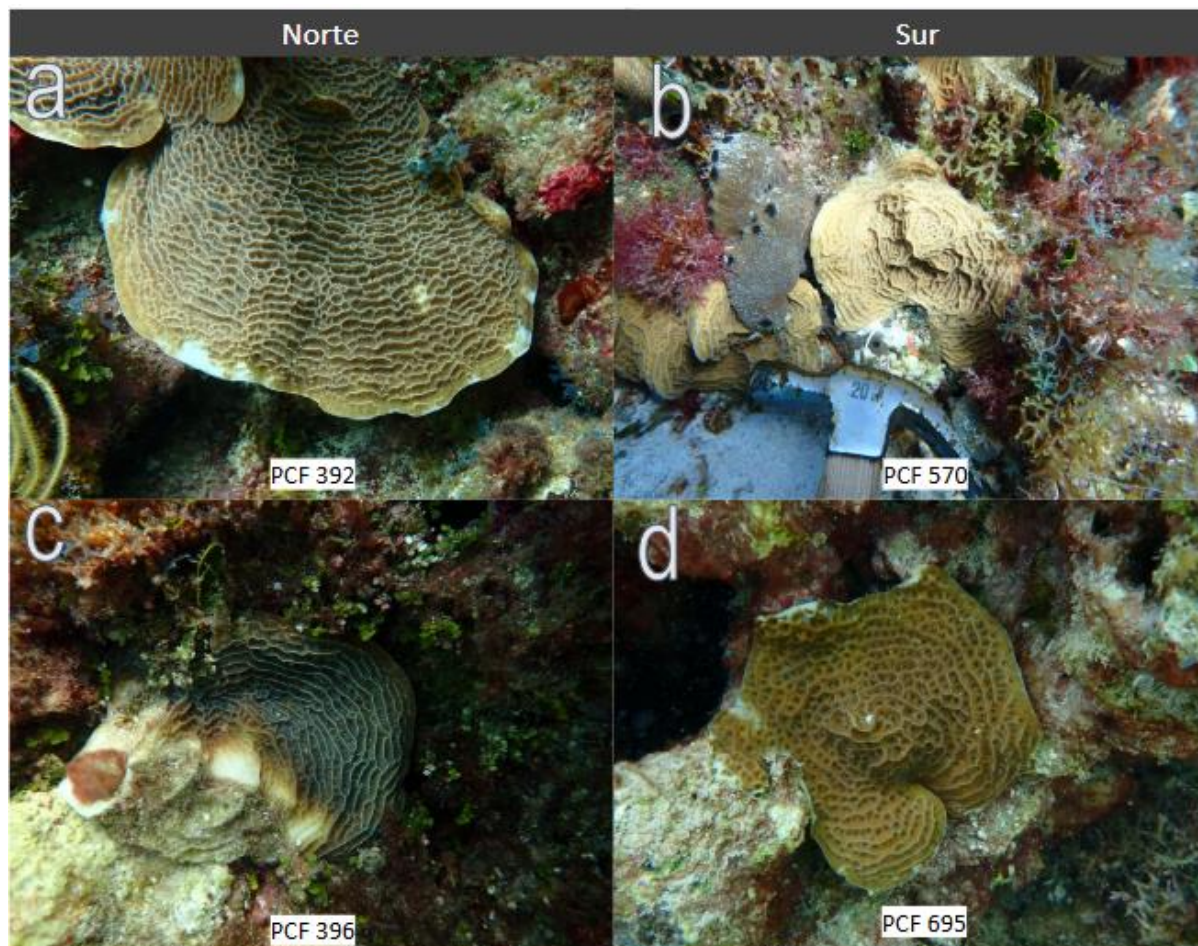


Figura 21. Colonias de coral de *A. agaricites* muestreadas en campo. Las colonias a y b pertenecen al linaje del Norte, mientras que las colonias b y d pertenecen al Sur.

7.2.5 Estructura genómica neutral de *Agaricia agaricites* por condición

Para el análisis de estructuración genética por condición perteneciente a *A. agaricites*, se realizó un ADCP. Se observa un gran traslape entre los organismos sanos vs los enfermos (Fig. 22). Lo cual podría ser evidencia de la no estructuración entre ambos grupos.

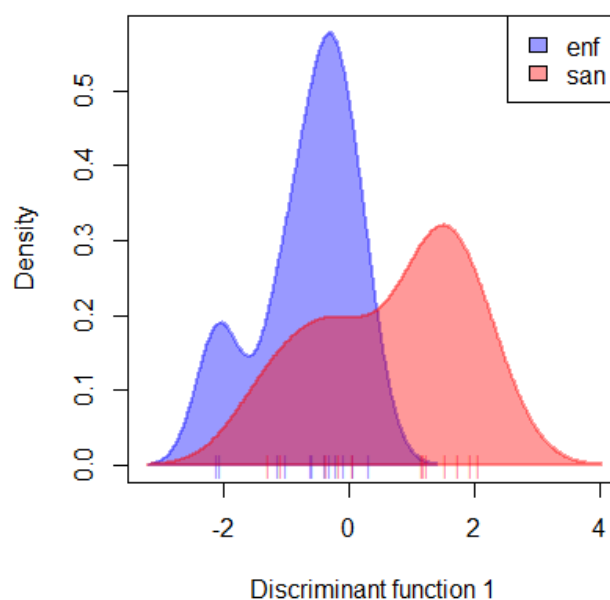


Figura 22. Análisis discriminante de componentes principales para *A. agaricites* por condición.

Posterior al ADCP, se calcularon las distancias genéticas entre los grupos de sanos o enfermos. Se obtuvo un valor significativo de 0.03 entre los individuos sanos vs enfermos (Tabla 15). Esto pudiera ser evidencia de que existan organismos susceptibles a contraer SCTL. Sin embargo, es importante considerar que, de los cuatro organismos pertenecientes al Sur, se encontraban también sanos. Mientras que sólo un organismo enfermo de esta región fue secuenciado exitosamente.

Tabla 15. Valor de F_{st} para 403 SNP's neutrales correspondientes a *A. agaricites* por condición.

Condición	Sano	Enfermo
Sano	-	0.011
Enfermo	0.03*	-

Los valores de P, se encuentran a la derecha de la diagonal. Valores significativos marcados con *

8. DISCUSIÓN

El presente estudio representa el primer trabajo realizado con análisis que utilizan una representación reducida del genoma para *Siderastrea siderea* y *Agaricia agaricites* en el Caribe Mexicano. Recientemente ha habido un auge en estudiar a especies altamente susceptibles de contraer SCTLD, como es el caso de *S. siderea*. Esto se ha visto reflejado en un aumento en el número de trabajos que tratan de comprender los patrones de estructuración poblacional en la especie en el último año (p. ej. Aichelman, *et al.* 2024; Gallery, *et al.* 2024). En cambio, los estudios realizados a *agaricites* se han visto limitados y no han sido actualizados con herramientas más modernas (i, e, AFLP, Brazeau, *et al.* 2005).

8.1 Identificación y número de secuencias

Uno de los principales retos al realizar este trabajo fue obtener una cantidad adecuada de lecturas por colonia. En general, las muestras que presentaron un número limitado de lecturas (menor de 750,000) fueron aquellas que poseían un ADN degradado o impuro (Anexo A). Que el ADN se encuentre degradado no permite obtener fragmentos homólogos para las colonias analizadas, lo cual es particularmente importante para la metodología de ddRAD-Seq (Peterson, *et al.* 2012; Puritz, *et al.* 2014). Este inconveniente representó la causa definitiva por la cual no se pudo continuar con el resto de los análisis contemplados para *M. cavernosa* (Anexo D).

Otra de las consecuencias de poseer un ADN degradado fue visible en cuanto al número de lecturas totales obtenidas. *S. siderea* fue la especie que presentó una mejor calidad en cuanto al ADN extraído (Anexo A). Esto se tradujo en que fue la especie con el mayor número de lecturas totales obtenidas (Anexo E y F). Lo cual tuvo una repercusión directa entre el número de SNP's obtenidos entre *S. siderea* y *A. agaricia*. *S. siderea* tuvo una representación consistente a lo largo del genoma, lo que permitió identificar una mayor cantidad de SNP's (Anexo I). En cambio, *A. agaricites* poseía una menor cantidad de lecturas homólogas entre las colonias analizadas disminuyendo el número de SNP's totales obtenidos (Anexo I).

8.2 Diversidad genética

S. siderea es una especie relativamente común en la región del Caribe, pero como el resto de corales, se ha visto afectada por una gran variedad de causas (episodios de blanqueamiento, derrame de hidrocarburos, SCTL, entre otras causas) (Guzmán & Holst, 1993; Brandt & McManus, 2009; Álvarez-Filip, *et al.* 2019). Esto potencialmente ha tenido un efecto en la población de esta especie a nivel de abundancia el cual se ha reducido con el paso de los años, sin embargo, no se tiene evidencia de si esta disminución ha impactado el tamaño efectivo poblacional resultando en efectos de deriva genética evidenciado por la reproducción entre colonias consanguíneas, generando un déficit de heterocigotos como se observa en la Tabla II (Frankham, *et al.* 2002; Pierce, 2006). Sin embargo, una posibilidad es que las afecciones como el SCTL han llegado a tal punto en el cual, han cambiado la composición de corales, reduciendo la cobertura de corales de morfologías masivas y aumentando la cobertura de corales incrustantes (Álvarez-Filip, *et al.* 2022). Por lo cual, no es de extrañar que una especie como *A. agaricites*, que no se ha visto particularmente afectada por afecciones como SCTL y que es una especie sumamente abundante presentara menores indicios de endogamia si se compara con los resultados encontrados para *S. siderea*. Se ha reportado que existe cierta correlación en invertebrados marinos que liberan sus gametos al medio (como *S. siderea*) con la tendencia a presentar valores de F_{is} positivos (Addison & Hart, 2005).

Si bien, persistieron las evidencias de endogamia, se observó una reducción del coeficiente de endogamia F_{is} cuando los organismos de *S. siderea* fueron separados por linajes (Tabla 2 y 3). Esto puede deberse a causa del efecto Wahlund, ya que al haber una subestructuración en donde cada linaje posee frecuencias alélicas distintas, termina por generar una disminución en los valores de heterocigosidad observada (De Meeûs, 2017). Otra explicación de la endogamia presentada en *S. siderea*, sería a la alta estructuración que ha presentado la especie en la región. Estudios previos a la implementación de herramientas de secuenciación de nueva generación, habían señalado que *S. siderea* era una especie con un potencial de dispersión sumamente grande (conectividad entre localidades separadas por 1,200 km) (Nunes, *et al.* 2011). Ha sido hasta

recientemente, que se han encontrado evidencias de linajes crípticos en la especie (Rippe, *et al.* 2021; Aichelman, *et al.* 2024; Gallery, *et al.* 2024).

Como se ha mencionado en este estudio, los linajes de *S. siderea* han presentado un déficit de heterocigotos. Eventos que ocasionen una disminución en el tamaño poblacional de *S. siderea* no harán más que acentuar los niveles de endogamia en la especie. De continuar aumentando los niveles de endogamia podrían introducir a los linajes en un evento conocido como “vortex a la extinción” (Caughley, 1994). Este fenómeno es ocasionado por un aumento en los niveles de endogamia en donde, una población reducida termina por acumular alelos deletéreos a causa de la reproducción consanguínea, ocasionando que el fitness de la población se vea reducido. Esto genera un efecto en cadena en donde cualquier cambio ambiental podría llevar a la extinción de una población (Caughley, 1994).

Una de las posibles explicaciones a los altos niveles de endogamia podría ser ocasionado por altos niveles de clonalidad en la *S. siderea*. Sin embargo, los resultados arrojaron que no existían evidencias de colonias clonales durante la realización de este trabajo, sin embargo, se observaron evidencias de relaciones familiares al interior de cada linaje (Fig. 2). La predominancia de la reproducción sexual en ambas especies, permite mantener la variabilidad genética mediante la creación de genotipos distintos a la de los progenitores, lo cual es vital para las poblaciones de coral debido al mayor grado de adaptabilidad que les permite (Frankham, *et al.* 2002). Otro de los beneficios de la reproducción sexual en corales, es que se ha reportado que existe un crecimiento diferencial entre colonias reproducidas sexual y asexualmente (Elahi & Edmunds, 2007). Las colonias reproducidas sexualmente presentan un mayor crecimiento, permitiendo un aporte mayor a la construcción arrecifal y creando una mayor cantidad de hábitat en menor tiempo.

8.3 Estructuración genética

8.3.1 Estructuración genética de *Siderastrea siderea*

No se encontró evidencia concluyente de estructuración espacial acorde a la hipótesis planteada, sin embargo, se detectó la presencia de dos linajes simpátricos pertenecientes a *S. siderea* (Fig. 5

y Tabla 6). La detección de linajes crípticos con elevados niveles de divergencia se han estado reportando como el caso del coral desovador del género *Porites*, registró evidencias de 3 linajes crípticos al interior de su grupo, con un valor máximo de F_{st} entre linajes de 0.361, similar a los valores encontrados en este estudio ($F_{st} = 0.308$) (Starko, *et al* 2023). Estudios recientes han reportado resultados similares encontrando linajes crípticos al interior de *S. siderea* (Rippe, *et al.* 2021; Aichelman, *et al.* 2024; Gallery, *et al.* 2024). Se han detectado por lo menos 4 linajes distintos en costas de Florida los cuales difieren principalmente por encontrarse en profundidades diferentes o por su distancia con la línea de costa (Rippe, *et al.* 2021; Gallery, *et al.* 2024). Si bien, en las costas de Panamá se han encontrado evidencias de 3 linajes crípticos, estos linajes divergen por encontrarse en arrecifes costeros y marinos, en donde la profundidad no tiene un rol tan determinante (Aichelman, *et al.* 2024).

La divergencia entre linajes de *S. siderea* encontrados en este estudio no ha sido a causa de un aislamiento por distancia, debido a que estos linajes son simpátricos. Una posible explicación es que cada linaje parece estar especializado a condiciones ambientales específicas, lo cual parece no estar permitiendo el intercambio de reclutas entre linajes, permitiendo la divergencia de los mismos con el paso del tiempo (Grupstra, *et al.* 2024). Los resultados obtenidos en este trabajo no revelan señales de estructuración por profundidad (ambos linajes son encontrados en el rango de 2 a 10 metros de profundidad) o por región. Esto sugiere a pensar que al momento en que los linajes llegaron al área de estudio, ya eran lo suficientemente divergentes como para permitir un entrecruzamiento entre ambos linajes, a pesar de encontrarse en una misma localidad. La otra hipótesis sería que los linajes están siendo segregados por alguna variable ambiental que no se explora en este estudio (por ejemplo, fuerza de la corriente o disposición en el arrecife) (Grupstra, *et al.* 2024). Tomando en cuenta el nivel de divergencia en términos de F_{st} , otra potencial explicación es que son linajes (e.g. especies) totalmente independientes que coexisten en el espacio. Para poner a prueba esta hipótesis se requiere un análisis filogenómico formal para tener evidencia de la profundidad de la divergencia.

El linaje 1, no presentó evidencias de estructuración genética significativas una vez que fue separado del linaje 2 (Tabla 7). Esto es lo esperado para una especie que desova en el medio, esto

debido al gran potencial de dispersión que este tipo de reproducción otorga (Hedgecock, 1986; Lewis, 1997). El linaje 2 presentó señales de subestructuración entre la región Norte y Centro-Sur ($F_{st}= 0.13$). Los niveles de F_{st} son similares a los encontrados en linajes de *S. siderea* encontrados en Panamá (Aichelman, *et al.* 2024). Esto pudiera significar que el linaje 2 se encuentra en un proceso de divergencia, aunque haría falta una mayor cantidad de datos que permita afirmar dicho proceso.

8.3.2 Estructuración genética en *Agaricia agaricites*

Se esperaba que *A. agaricites* mostrara evidencias de estructuración genética ocasionados por la distancia. Sin embargo, se detectó la presencia de 2 linajes distintos al interior de la especie. Estos linajes se encuentran separados por una distancia de aproximadamente 150 km (Fig. 17, Tabla 11). Los resultados confirmaron la hipótesis postulada para un organismo con un tipo de reproducción del tipo incubadora (Van Moorsel, 1983; Prata, *et al.* 2022). Este tipo de reproducción permite asegurar una mayor tasa de éxito a coste de un potencial de dispersión reducido. Estos datos corroboran los análisis realizados con AFLP en donde se sustenta que existen evidencias de estructuración entre localidades próximas, separadas por 12 km (Brazeau, *et al.* 2005). La evidencia de estructuración entre localidades separadas por 12 km puede que sean evidencias de un proceso incipiente de especiación el cual se observa a detalle entre los linajes encontrados en este estudio. *A. agaricites* (al igual que *S. siderea*) se une junto a muchos otros corales pétreos al grupo de corales que poseen linajes crípticos, los cuales son aparentemente indistinguibles por medio de características morfológicas evidentes (Grupstra, *et al.* 2024). Cada vez existe más evidencia que señala la posibilidad de especies crípticas englobadas bajo el nombre de una sola especie.

8.3.3 Pruebas de estructuración genética por condición

Con la finalidad de probar la hipótesis de la existencia de linajes susceptibles a contraer SCTLD, se probó a los individuos sanos vs los enfermos con la finalidad de determinar señales de estructura entre los grupos. En caso de que los organismos agrupados como enfermos o sanos estuvieran

emparentados, esto se reflejaría en un aumento en los niveles de *Fst* entre grupos. Ya que los organismos no estarían agrupados al azar y esto generaría un aumento en los valores de distancia genética entre las agrupaciones. Sin embargo, no fue posible detectar señales de estructuración por condición al interior de ningún linaje (Fig. 18, 20 y 24). Estos resultados van acordes a lo encontrado en estudios realizados en otras especies. Se han reportado resultados similares para el coral pétreo *Orbicella faeveolata*, en donde se sugiere que el tipo de simbionte tiene una mayor influencia en contraer SCTLTD que el linaje mismo (Klein, *et al.* 2024).

8.4 Implicaciones de los resultados en la conservación de las especies involucradas

Si bien, a lo largo de este estudio hemos trabajado con marcadores neutrales, una vez que comienza un proceso incipiente de especiación, cada grupo divergente comenzará por acumular mutaciones neutrales a lo largo del tiempo. Comprender que tan diversa es un linaje o población es fundamental para comprender su resiliencia ante futuros cambios ambientales. Un linaje con altos niveles de endogamia es el reflejo de una población con un acervo genético reducido.

Conocer el panorama actual al que se enfrentan *S. siderea* y *A. agaricites* es de utilidad para tomar medidas de conservación. Una población con signos de endogamia es más susceptible a factores como la deriva genética. La deriva genética ocasiona que haya una reducción en la diversidad genética aumentando aún más los niveles de consanguinidad (Pierce, 2006). Para evitar la acumulación de mutaciones deletéreas a causa de la pérdida de diversidad, que terminarían por reducir el fitness poblacional, sería necesario reducir las fuentes de contaminación y perturbación ambiental en las zonas de distribución de esta especie (Kyriazis, *et al.* 2021). Esto debido a que existe cierta correlación entre la perturbación ambiental y la presencia de enfermedades en corales pétreos (Aeby, *et al.* 2011; Álvarez-Filip, *et al.* 2022). Esto podría reducir la susceptibilidad de las colonias a cierto tipo de enfermedades, lo cual es fundamental para reducir la tendencia de mortalidad a la que *S. siderea* se enfrenta. De igual manera sería importante determinar si existe algún factor abiótico que origine la estructuración al interior de *S. siderea*. La información resultante de dicha investigación podría ser de utilidad para futuros esfuerzos de restauración arrecifal que se deseen hacer en un futuro.

A. agaricites es una de las especies más abundantes de la región del Caribe y ha visto reducida su competencia con otras especies de coral debido a las mortalidades causadas por SCTL, lo cual la ha convertido en una especie aún más común en la región (Álvarez-Filip, *et al.* 2022). Si bien, no presentó evidencias de endogamia, parece ser una especie fuertemente estructurada en toda su área de distribución (Brazeau, *et al.* 2005). Debido a esto y a su tipo de reproducción con dispersión limitada, en caso de verse fuertemente afectada por algún evento de mortalidad severa, tiene un potencial de recuperación menor al que presenta una especie desovadora. Un ejemplo de coral incubador anteriormente común y que ahora se encuentra en peligro de extinción, es el coral *Helioseris cucullata* (Hernández-Agreda, *et al.* 2024).

8.5 Áreas de investigación pendientes y limitantes de este estudio

Este trabajo representa el primer esfuerzo de investigación para las especies involucradas que trata de comprender sus patrones de diversidad genómica y estructuración genética en el país, pero aún queda un largo camino por recorrer. Debido a la naturaleza de trabajar con SNP's neutrales, no es posible indagar o realizar inferencias de adaptabilidad. Una de las limitaciones en el estudio de *A. agaricites* fue el bajo número de lecturas que se recuperaron. Una de las bondades de trabajar con ddRad-Seq es la posibilidad de trabajar con especies no modelo (Peterson, *et al.* 2012). Sin embargo, para el filtrado de las lecturas del hospedero, es necesario contar con cuánto menos, el genoma de un individuo perteneciente a la misma familia. En el momento que algún miembro de la familia agaricidae sea secuenciado, las lecturas pertenecientes a *A. agaricites* podrían ser re-analizadas con la finalidad de obtener un mayor número de SNP's. Esto podría ayudar a recuperar una mayor cantidad de SNP's adaptativos en el momento en que se desee hacer el estudio integrativo en donde se incorporen variables ambientales a los datos genómicos. De igual manera sería importante realizar un análisis filogenómico entre los diferentes linajes en conjunto con análisis morfológicos con la finalidad de determinar si los linajes presentan unidades evolutivas independientes y/o coevolucionan en el tiempo.

9. CONCLUSIONES

Este estudio permitió identificar la presencia de por lo menos dos linajes crípticos en *S. siderea* y *A. agaricites*. El coral *S. siderea* que esta presenta una estructura poblacional debida a la existencia a linajes independientes que coexisten en la región del Caribe, presentó evidencias de endogamia posiblemente debido al tamaño poblacional reducido y a eventos de mortalidad. *A. agaricites* no presentó evidencias de endogamia, lo cual podría traducirse a poseer una mayor diversidad genética que le permitiría tener una mayor resiliencia ante cambios ambientales venideros. Sin embargo, no es una especie que se encuentre exenta ante futuros cambios ambientales o la aparición de enfermedades nuevas.

No se encontró evidencias de linajes que fueran particularmente susceptibles a contraer SCTLD. Factores como el tipo de simbiote parecen estar mayormente relacionados al SCTLD que el linaje. Para tratar de mitigar la aparición de afecciones como el SCTLD, es necesario reducir las perturbaciones ambientales. Aumentar los esfuerzos de conservación de los sistemas arrecifales es de particular importancia para evitar la pérdida de más colonias de *S. siderea* ya que esto no haría más que aumentar la posibilidad de la reproducción consanguínea. Debido a la reciente evidencia encontrada en distintos corales escleractinios, sería importante cuestionarnos si realmente estos linajes crípticos forman o no parte de complejos de especies englobados en un par de taxas. Sería necesario realizar un esfuerzo extensivo a gran escala que permita analizar tanto a *S. siderea* como *A. agaricites* con la finalidad de determinar y comprender mejor la historia evolutiva de los linajes incluidos al interior de estas especies.

10. LITERATURA CITADA

- Acosta, A., & Zea, S. (1997). Sexual reproduction of the reef coral *Montastrea cavernosa* (Scleractinia: Faviidae) in the Santa Marta area, Caribbean coast of Colombia. *Marine Biology*, 128: 141-148. doi:10.1007/s002270050077
- Addison, J., & Hart, M. (2005). Spawning, copulation and inbreeding coefficients in marine invertebrates. *Biology Letters*, 1(4): 450-453. doi:10.1098/rsbl.2005.0353
- Aeby, G. S., Williams, G. J., Franklin, E. C., Kenyon, J., Cox, E. F., Coles, S., & Work, T. M. (2011). Patterns of coral disease across the Hawaiian archipelago: relating disease to environment. *PLoS one*, 6(5): e20370. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0020370>
- Aichelman, H. E., Benson, B. E., Gomez-Campo, K., Martinez-Ruggerio, M. I., Fifer, J. E., Tsang, L., & Davies, S. W. (2024). Cryptic diversity shapes coral symbioses, physiology, and response to thermal challenge. *bioRxiv*, 2024-07. <https://doi.org/10.1101/2024.07.09.602709>
- Álvarez-Filip, L., Estrada-Saldívar, N., Pérez-Cervantes, E., Molina-Hernández, A., & González-Barrios, F. J. (2019). A rapid spread of the stony coral tissue loss disease outbreak in the Mexican Caribbean. *PeerJ*, 7, e8069. <https://doi.org/10.7717/peerj.8069>
- Álvarez-Filip, L., González-Barrios, F. J., Pérez-Cervantes, E., Molina-Hernández, A., & Estrada-Saldívar, N. (2022). Stony coral tissue loss disease decimated Caribbean coral populations and reshaped reef functionality. *Communications Biology*, 5(1): 440. <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03398-6>
- Amaral, F. D. (1994). Morphological variation in the reef coral *Montastrea cavernosa* in Brazil. *Coral Reefs*, 13: 113-117. <https://doi.org/10.1007/BF00300771>
- Baird, A. H., Guest, J. R., & Willis, B. L. (2009). Systematic and biogeographical patterns in the reproductive biology of scleractinian corals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40: 551-571. <https://doi.org/10.1146/annurev.ecolsys.110308.120220>
- Baums, I. B., Paris, C. B., & Chérubin, L. M. (2006). A bio-oceanographic filter to larval dispersal in a reef-building coral. *Limnology and Oceanography*, 51(5): 1969-1981. <https://doi.org/10.4319/lo.2006.51.5.1969>
- Beaumont, M. A., & Balding, D. J. (2004). Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Molecular Ecology*, 13(4): 969-980. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2004.02125.x>
- Beavers, K. M., Van Buren, E. W., Rossin, A. M., Emery, M. A., Veglia, A. J., Karrick, C. E., & Mydlarz, L. D. (2023). Stony coral tissue loss disease induces transcriptional signatures of in situ degradation of dysfunctional Symbiodiniaceae. *Nature Communications*, 14(1): 2915. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38612-4>
- Becerra, V., & Paredes, M. 2000. Uso de marcadores bioquímicos y moleculares en estudios de diversidad genética. *Agricultura Técnica*, 60(3): 270-281.
- Bellwood, D. R., Hughes, T. P., Folke, C., & Nyström, M. (2004). Confronting the coral reef crisis. *Nature*, 429(6994): 827-833. <https://doi.org/10.1038/nature02691>
- Beltrán-Torres, A. U., & Carricart-Ganivet, J. P. (1999). Lista revisada y clave para los corales pétreos zooxantelados (Hydrozoa: Milleporina; Anthozoa: Scleractinia) del Atlántico mexicano. *Revista de Biología Tropical*, 47(4): 813-829.
- Brandt, M. E., & McManus, J. W. (2009). Disease incidence is related to bleaching extent in reef-building corals. *Ecology*, 90(10): 2859-2867. <https://doi.org/10.1890/08-0445.1>

- Brazeau, D. A., Sammarco, P. W., & Gleason, D. F. (2005). A multi-locus genetic assignment technique to assess sources of *Agaricia agaricites* larvae on coral reefs. *Marine Biology*, 147: 1141-1148. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0022-5>
- Brazeau, D. A., Lesser, M. P., & Slattery, M. (2013). Genetic structure in the coral, *Montastraea cavernosa*: assessing genetic differentiation among and within mesophotic reefs. *PLoS one*, 8(5):e65845. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065845>
- Carlson, D. B., & Olson, R. R. (1993). Larval dispersal distance as an explanation for adult spatial pattern in two Caribbean reef corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 173(2): 247–263. doi:10.1016/0022-0981(93)90056-t
- Catchen, J., Hohenlohe, P. A., Bassham, S., Amores, A., & Cresko, W. A. (2013). Stacks: an analysis tool set for population genomics. *Molecular Ecology*, 22(11): 3124-3140. <https://doi.org/10.1111/mec.12354>
- Caughley, G. (1994). Directions in conservation biology. *The Journal of Animal Ecology*, 63(2): 215. doi:10.2307/5542
- Coker, D. J., Wilson, S. K., & Pratchett, M. S. (2014). Importance of live coral habitat for reef fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 24: 89-126. <https://doi.org/10.1007/s11160-013-9319-5>
- Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., & 1000 Genomes Project Analysis Group. (2011). The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15): 2156-2158. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>
- Davey, J. W., & Blaxter, M. L. (2010). RADSeq: next-generation population genetics. *Briefings in Functional Genomics*, 9(5): 416-423. <https://doi.org/10.1093/bfpg/elq031>
- De Meeûs, T. (2017). Revisiting FIS, FST, Wahlund effects, and null alleles. *Journal of Heredity*, 109(4): 446–456. doi:10.1093/jhered/esx106
- Dias, T. L. P., & Gondim, A. I. (2016). Bleaching in scleractinians, hydrocorals, and octocorals during thermal stress in a northeastern Brazilian reef. *Marine Biodiversity*, 46: 303-307. <https://doi.org/10.1007/s12526-015-0342-8>
- Elahi, R., & Edmunds, P. J. (2007). Consequences of fission in the coral *Siderastrea siderea*: growth rates of small colonies and clonal input to population structure. *Coral Reefs* 26: 271-276. <https://doi.org/10.1007/s00338-006-0190-x>
- Estrada-Saldívar, N., Molina-Hernández, A., Pérez-Cervantes, E., Medellín-Maldonado, F., González-Barrios, F. J., & Alvarez-Filip, L. (2020). Reef-scale impacts of the stony coral tissue loss disease outbreak. *Coral Reefs*, 39: 861-866. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01949-z>
- Etter, P. D., Bassham, S., Hohenlohe, P. A., Johnson, E. A., & Cresko, W. A. (2011). SNP discovery and genotyping for evolutionary genetics using RAD sequencing. *Molecular Methods for Evolutionary Genetics*, 24: 157-178. https://doi.org/10.1007/978-1-61779-228-1_9
- Excoffier, L. & Lischer, H. (2010). Arlequin suite ver 3.5: A new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02847.x>
- Foll, M. (2012). BayeScan v2. 1 user manual. *Ecology*, 20(10): 1450-1462.
- Foll, M., & Gaggiotti, O. (2008). A genome-scan method to identify selected loci appropriate for both dominant and codominant markers: a Bayesian perspective. *Genetics*, 180(2): 977-993. <https://doi.org/10.1534/genetics.108.092221>
- Frankham, R., Ballou, S. E. J. D., Briscoe, D. A., & Ballou, J. D. (2002). *Introduction to conservation genetics*. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.

- Gallery, D. N., Rippe, J. P., & Matz, M. V. (2024). Decrypting corals: Does regulatory evolution underlie environmental specialisation of coral cryptic lineages? *Molecular Ecology*, e17546. <https://doi.org/10.1111/mec.17546>
- Goodbody-Gringley, G., Woollacott, R. M., & Giribet, G. (2012). Population structure and connectivity in the Atlantic scleractinian coral *Montastraea cavernosa* (Linnaeus, 1767). *Marine Ecology*, 33(1): 32-48. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2011.00452.x>
- Goudet, J. (2005). Hierfstat, a package for R to compute and test hierarchical F-statistics. *Molecular Ecology Notes*, 5(1): 184-186. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2004.00828.x>
- Green, D. 1994. Connectivity and complexity in landscapes and ecosystems. *Pacific Conservation Biology*, 1(3): 194-200. <https://doi.org/10.1071/PC940194>
- Grover, A., & Sharma, P. C. (2016). Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 36(2): 290-302. <https://doi.org/10.3109/07388551.2014.959891>
- Grupstra, C. G., Gómez-Corrales, M., Fifer, J. E., Aichelman, H. E., Meyer-Kaiser, K. S., Prada, C., & Davies, S. W. (2024). Integrating cryptic diversity into coral evolution, symbiosis and conservation. *Nature Ecology & Evolution*, 8(4): 622-636. <https://doi.org/10.1038/s41559-023-02319-y>
- Guzmán, H. M., & Holst, I. (1993). Effects of chronic oil-sediment pollution on the reproduction of the Caribbean reef coral *Siderastrea siderea*. *Marine Pollution Bulletin*, 26(5): 276-282. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(93\)90068-U](https://doi.org/10.1016/0025-326X(93)90068-U)
- Hedgecock, D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? *Bulletin of Marine Science*, 39(2): 550-564.
- Hernández-Agreda, A., Huckeba, J., Prata, K. E., Vermeij, M. J., & Bongaerts, P. (2024). Hybridization and inbreeding affect the survival of a critically endangered coral. *Current Biology*, 34(21): 5120-5129. doi: 10.1016/j.cub.2024.09.035.
- Hunt, A. 1993. Effects of contrasting patterns of larval dispersal on the genetic connectedness of local populations of two intertidal starfish, *Patiriella calcar* and *P. exigua*. *Marine Ecology Progress Series*, 92: 179-186.
- Jombart, T. (2008). adegenet: a R package for the multivariate analysis of genetic markers. *Bioinformatics*, 24(11): 1403-1405. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn129>.
- Jombart, T., Devillard, S., & Balloux, F. (2010). Discriminant analysis of principal components: a new method for the analysis of genetically structured populations. *BMC Genetics*, 11: 1-15. <https://doi.org/10.1186/1471-2156-11-94>.
- Klein, A. M., Sturm, A. B., Eckert, R. J., Walker, B. K., Neely, K. L., & Voss, J. D. (2024). Algal symbiont genera but not coral host genotypes correlate to stony coral tissue loss disease susceptibility among *Orbicella faveolata* colonies in South Florida. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1287457. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1287457>
- Kopelman, N. M., Mayzel, J., Jakobsson, M., Rosenberg, N. A., & Mayrose, I. (2015). Clumpak: a program for identifying clustering modes and packaging population structure inferences across K. *Molecular Ecology Resources*, 15(5): 1179-1191. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12387>
- Kyriazis, C. C., Wayne, R. K., & Lohmueller, K. E. (2021). Strongly deleterious mutations are a primary determinant of extinction risk due to inbreeding depression. *Evolution Letters*, 5(1): 33-47. <https://doi.org/10.1002/evl3.209>
- Langmead, B., & Salzberg, S. L. (2012). Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods*, 9(4): 357-359. <https://doi.org/10.1038/nmeth.1923>

- Lesser, M. P., Slattery, M., Stat, M., Ojimi, M., Gates, R. D., & Grottoli, A. (2010). Photoacclimatization by the coral *Montastraea cavernosa* in the mesophotic zone: light, food, and genetics. *Ecology*, 91(4): 990-1003. <https://doi.org/10.1890/09-0313.1>
- Lewis, J. B. (1997). Abundance, distribution and partial mortality of the massive coral *Siderastrea siderea* on degrading coral reefs at Barbados, West Indies. *Marine Pollution Bulletin*, 34(8): 622-627. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(96\)00184-1](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(96)00184-1)
- Li, Y. L., & Liu, J. X. (2018). StructureSelector: A web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple methods. *Molecular Ecology Resources*, 18(1): 176-177. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12719>
- Liew, Y. J., Aranda, M., & Voolstra, C. R. (2016). Reef genomics. Org-a repository for marine genomics data. *Database*, 2016, baw152. <https://doi.org/10.1093/database/baw152>
- Lischer, H. E., & Excoffier, L. (2012). PGD Spider: an automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatics*, 28(2): 298-299. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr642>.
- Luu, K., Bazin, E., & Blum, M. G. (2017). pcadapt: an R package to perform genome scans for selection based on principal component analysis. *Molecular Ecology Resources*, 17(1): 67-77. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12592>.
- Manichaikul, A., Mychaleckyj, J. C., Rich, S. S., Daly, K., Sale, M., & Chen, W. M. (2010). Robust relationship inference in genome-wide association studies. *Bioinformatics*, 26(22): 2867-2873. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btq559>.
- Menezes, N., Neves, E., Kikuchi, R. K., & Johnsson, R. (2014). Morphological variation in the Atlantic genus *Siderastrea* (Anthozoa, Scleractinia). *Papéis Avulsos de Zoologia*, 54: 199-208. <https://doi.org/10.1590/0031-1049.2014.54.16>.
- Molinari, R. L., & Morrison, J. (1988). The separation of the Yucatan Current from the Campeche Bank and the intrusion of the Loop Current into the Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 93(9): 10645-10654. <https://doi.org/10.1029/JC093iC09p10645>.
- Muller, E. M., Sartor, C., Alcaraz, N. I., & Van Woesik, R. (2020). Spatial epidemiology of the stony-coral-tissue-loss disease in Florida. *Frontiers in Marine Science*, 7, 163. <https://doi.org/10.3389/fmars.2020.00163>
- Nunes, F. L., Norris, R. D., & Knowlton, N. (2011). Long distance dispersal and connectivity in amphiatlantic corals at regional and basin scales. *PloS one*, 6(7), e22298. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022298>
- Nunes, F., Norris, R. D., & Knowlton, N. (2009). Implications of isolation and low genetic diversity in peripheral populations of an amphiatlantic coral. *Molecular Ecology*, 18(20): 4283-4297. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2009.04347.x>
- Papke, E., Carreiro, A., Dennison, C., Deutsch, J. M., Isma, L. M., Meiling, S. S., & Ushijima, B. (2024). Stony coral tissue loss disease: a review of emergence, impacts, etiology, diagnostics, and intervention. *Frontiers in Marine Science*, 10: 1321271. <https://doi.org/10.3389/fmars.2023.1321271>
- Paris, J. R., Stevens, J. R., & Catchen, J. M. (2017). Lost in parameter space: a road map for stacks. *Methods in Ecology and Evolution*, 8(10): 1360-1373. <https://doi.org/10.1111/2041-210X.12775>
- Pembleton, L. W., Cogan, N. O., & Forster, J. W. (2013). St AMPP: An R package for calculation of genetic differentiation and structure of mixed-ploidy level populations. *Molecular Ecology Resources*, 13(5): 946-952. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12129>

- Peterson, B. K., Weber, J. N., Kay, E. H., Fisher, H. S., & Hoekstra, H. E. (2012). Double digest RADseq: an inexpensive method for de novo SNP discovery and genotyping in model and non-model species. *PLoS one*, 7(5), e37135. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0037135>
- Pierce, B. A. (2006). *Genética: Un enfoque conceptual*. 2^{da} edición. Editorial Médica Panamericana, México.
- Prata, K. E., Riginos, C., Gutenkunst, R. N., Latijnhouwers, K. R., Sánchez, J. A., Englebert, N., & Bongaerts, P. (2022). Deep connections: Divergence histories with gene flow in mesophotic *Agaricia* corals. *Molecular Ecology*, 31(9): 2511-2527. <https://doi.org/10.1111/mec.16391>.
- Precht, W. F., Gintert, B. E., Robbart, M. L., Fura, R., & Van Woeseik, R. (2016). Unprecedented disease-related coral mortality in Southeastern Florida. *Scientific Reports*, 6(1): 1-11. <https://doi.org/10.1038/srep31374>
- Pritchard, J. K., Stephens, M., & Donnelly, P. (2000). Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 155(2): 945-959. <https://doi.org/10.1093/genetics/155.2.945>
- Puritz, J. B., Matz, M. V., Toonen, R. J., Weber, J. N., Bolnick, D. I., & Bird, C. E. (2014). Demystifying the RAD fad. *Molecular Ecology*, 23:5937-5342. <https://doi.org/10.1111/mec.12965>
- Rippe, J. P., Dixon, G., Fuller, Z. L., Liao, Y., & Matz, M. (2021). Environmental specialization and cryptic genetic divergence in two massive coral species from the Florida Keys Reef Tract. *Molecular Ecology*, 30(14): 3468-3484. <https://doi.org/10.1111/mec.15931>
- Shoguchi, E., Beedessee, G., Hisata, K., Tada, I., Narisoko, H., Satoh, N., & Shinzato, C. (2021). A new dinoflagellate genome illuminates a conserved gene cluster involved in sunscreen biosynthesis. *Genome Biology and Evolution*, 13(2): evaa235. <https://doi.org/10.1093/gbe/evaa235>
- Stanley Jr, G. D. (2003). The evolution of modern corals and their early history. *Earth-Science Reviews*, 60(3-4): 195-225. [https://doi.org/10.1016/S0012-8252\(02\)00104-6](https://doi.org/10.1016/S0012-8252(02)00104-6)
- Starko, S., Fifer, J. E., Claar, D. C., Davies, S. W., Cunning, R., Baker, A. C., & Baum, J. K. (2023). Marine heatwaves threaten cryptic coral diversity and erode associations among coevolving partners. *Science advances*, 9(32): eadf0954. Doi: 10.1126/sciadv.adf0954
- Sturm, A. B., Eckert, R. J., Méndez, J. G., González-Díaz, P., & Voss, J. D. (2020). Population genetic structure of the great star coral, *Montastraea cavernosa*, across the Cuban archipelago with comparisons between microsatellite and SNP markers. *Scientific Reports*, 10(1): 15432. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-72112-5>
- Sturm, A. B., Eckert, R. J., Carreiro, A. M., & Voss, J. D. (2022). Population genetic structure of the broadcast spawning coral, *Montastraea cavernosa*, demonstrates refugia potential of upper mesophotic populations in the Florida Keys. *Coral Reefs*, 41(3): 587-598. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02112-y>
- Szmant, A. M. (1991). Sexual reproduction by the Caribbean reef corals *Montastrea annularis* and *M. cavernosa*. *Marine Ecology Progress Series*, 7(4): 13-25.
- Van Moorsel, G. W. N. M. (1983). Reproductive strategies in two closely related stony corals (*Agaricia*, Scleractinia). *Marine Ecology Progress Series*, 13: 273-283.
- Weil, E., & Rogers, C. S. (2011). Coral reef diseases in the Atlantic-Caribbean. In *Coral reefs: an ecosystem in transition*. Springer Science & Business Media, London, United Kingdom. pp. 465-491.
- Wilson, J. R., & Harrison, P. L. (1998). Settlement-competency periods of larvae of three species of scleractinian corals. *Marine Biology*, 131: 339-345. <https://doi.org/10.1007/s002270050327>

11. ANEXOS

Anexo A. Valores de cuantificación de ADN promedio mediante espectrofotometría por especie

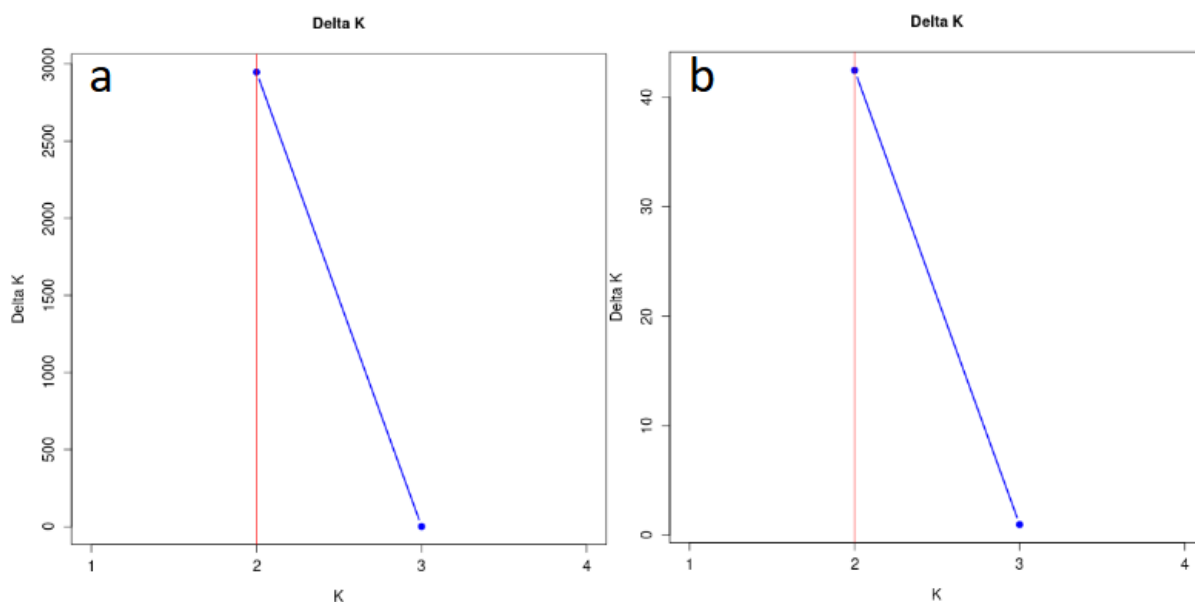
Especie	A260/280	A260/230
<i>M. cavernosa</i>	1.76*	1.14*
<i>A. agaricites</i>	1.76*	1.32*
<i>S. siderea</i>	1.82	1.70*

Por debajo de valores óptimos (1.8-2)*

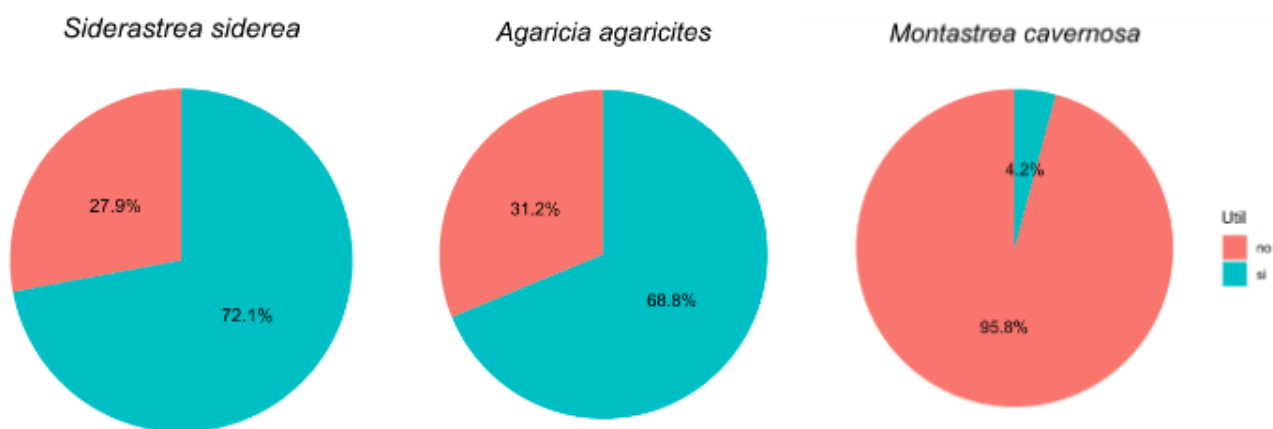
Anexo B. Tabla de valores de datos faltantes por especie

	Especie	
	<i>S. siderea</i>	<i>A. agaricites</i>
# de colonias restantes	51	29
Individuos con más de 10x de profundidad	41	12
Individuos con menos de 30% de datos faltantes	41	24
# loci con datos faltantes menor al 20%	4426	467

Anexo C. Gráficos de delta K correspondiente a: a) *Siderastrea siderea*, b) *Agaricia agaricites*



Anexo D. Porcentaje de colonias útiles por especie. En rojo se distinguen el porcentaje de colonias que no son utilizables para el resto de análisis mientras que, en azul, se observan aquellas que fueron usadas en análisis posteriores.



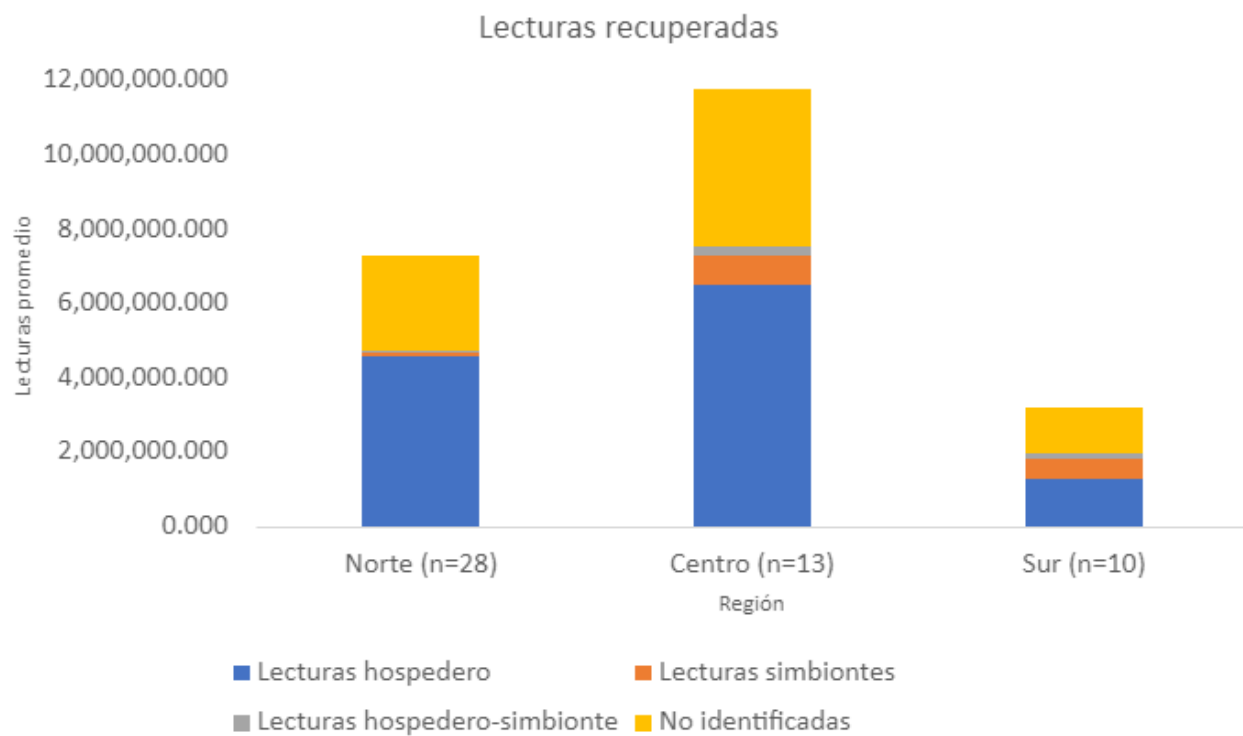
Anexo E. Número de colonias consideradas útiles (más de 750,000 lecturas) de *Siderastrea siderea*. Para la alineación del host se utilizó un archivo concatenado de que incluía el genoma de organismos del género *Orbicella*, *Montastrea*, marcadores disponibles del género *Siderastrea* y el transcriptoma de un concatenado de organismos llamado “master coral”

Región	Localidades	Colonias útiles*	Promedio de secuencias iniciales útiles	Promedio de lecturas alineadas host (%)	Promedio de lecturas alineadas simbiote (%)
	Jardines	5	4,939,583	2,997,340(60%)	217,928(4%)
Norte	Ojo de Agua	2	2,760,083	1,765,731(64%)	12,757(0.4%)
	Tanchacté	21	8,253,507	5,221,160(63%)	69,724(0.8%)
Centro	Cuevitas-Dreams	13	11,766,449	6,523,435(55%)	761,578(6%)
Sur	Sian Ka'an	10	3,193,554	1,278,605(40%)	516,353(16%)
Total		51	7,616,492	4,426,534(58%)	345,949(4%)

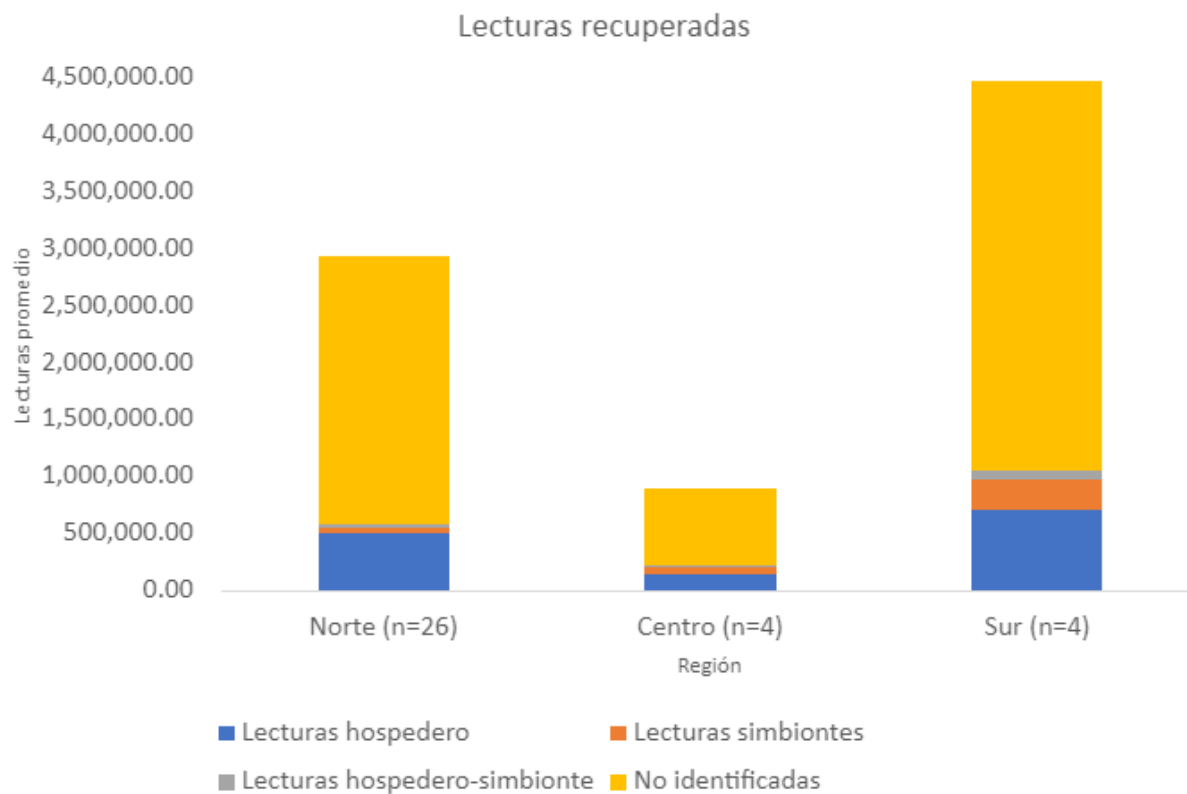
Anexo F. Número de colonias consideradas útiles (más de 750,000 lecturas) de *Agaricia agaricites*. Para la alineación del host se utilizó un archivo concatenado de que incluía el genoma de organismos del género *Orbicella*, *Montastrea*, marcadores disponibles del género *Agaricia* y el transcriptoma de un concatenado de organismos llamado “master coral”

Región	Localidades	Colonias útiles*	Promedio de secuencias iniciales útiles	Promedio de lecturas alineadas host (%)	Promedio de lecturas alineadas simbiote (%)
	Bocana	3	2,259,905	390,944(17%)	91,547(4%)
Norte	Jardines	1	773,538	124,640(16%)	60,846(8%)
	Tanchacté	22	3,130,398	543,277(17%)	55,651(2%)
Centro	Cuevitas-Dreams	4	883,650	132,845(15%)	68,451(7%)
Sur	Sian Ka'an	4	4,469,881	724,518(16%)	265,769(6%)
Total		34	2,303,474	383,245(16%)	108,453(5%)

Anexo G. Proporciones de lecturas pertenecientes al hospedero, simbiote, lecturas híbridas hospedero-simbiote y lecturas no identificadas para el coral *S. siderea*.



Anexo H. Proporciones de lecturas pertenecientes al hospedero, simbiote, lecturas híbridas hospedero-simbiote y lecturas no identificadas para el coral *A. agaricites*.



Anexo I. Identificación y detección de SNP's neutros y bajo aparente selección.

	Especie	
	<i>S. siderea</i>	<i>A. agaricites</i>
Parámetros utilizados en <i>denovo</i> <i>map</i>	-M 2 -m 3 -n 3	-M 2 -m 3 -n 3
# SNP's detectados	597,558	132,941
# SNP's obtenidos después del módulo <i>populations</i> *	4426	467
# SNP's bajo aparente selección	379	62
#SNP's neutrales	4047	405

Los parámetros para el módulo *populations* fueron de --min-populations 3 --min-samples-per-pop 0.80 -min-maf 0.05 para *S. siderea* y --min-populations 2 --min-samples-per-pop 0.80 -min-maf 0.05 para *A. agaricites*

Anexo J. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por región geográfica perteneciente al linaje 1.

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Norte	12	1.70	0.19	0.27	0.28
Centro	7	1.64	0.18	0.26	0.21
Total	19	1.67	0.18	0.26	0.24

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada

Anexo K. Valores de diversidad genética de *Siderastrea siderea* por región geográfica perteneciente al linaje 2.

<i>Región</i>	<i>N</i>	<i>Ra</i>	<i>Ho</i>	<i>He</i>	<i>Fis</i>
Norte	12	1.54	0.19	0.24	0.19
Centro	5	1.59	0.19	0.27	0.20
Sur	4	1.59	0.18	0.28	0.24
Total	21	1.57	0.19	0.26	0.22

N= número de muestras, Ra= Riqueza alélica, Ho= Heterocigosidad observada, He= Heterocigosidad esperada