



UNIVERSIDAD DEL MAR

CAMPUS PUERTO ÁNGEL

Estructura genética de *Pocillopora damicornis*
(Scleractinia: Pocilloporidae) en los estados de Oaxaca y Guerrero,
inferida mediante análisis de microsatélites nucleares

Tesis

Que para obtener el título de:
Licenciada en Biología Marina

Presenta:

Rubí Fabiola Alderete Domínguez

Director de tesis:

Dr. Rolando Cardeña López

Puerto Ángel, Oaxaca, 2014

RESUMEN

Pocillopora damicornis Linnaeus (1758) es un coral muy importante por su contribución en la formación de arrecifes. Debido a esto y al estrés al que ha estado sometido en los últimos años, son necesarios mayores esfuerzos de conservación. Para ello se requieren estudios de genética poblacional, en los cuales se utilizan diversos marcadores moleculares. Los microsatélites han sido uno de los marcadores más utilizados, estos son variantes de regiones de ADN con secuencias repetitivas de nucleótidos que suelen someterse a un proceso de amplificación mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Esta técnica ha abierto la posibilidad de analizar varios loci microsatelitales en *P. damicornis*. Ya se ha estudiado la estructura poblacional de *P. damicornis* en varias zonas del mundo, incluyendo el Pacífico mexicano. Sin embargo aun no se ha estudiado la estructura genética de sus comunidades en la región sur del Pacífico mexicano, donde recientemente se ha reportado la especie genética *Pocillopora* tipo 1. En este trabajo se caracterizaron las relaciones genéticas entre poblaciones de *P. damicornis* tipo 1 en 12 localidades de Guerrero y Oaxaca, mediante el uso de marcadores microsatelitales amplificados por PCR. Se analizaron ocho loci, de los cuales Pd3-005 y PV5 mostraron ser útiles para este estudio y fueron usados en los análisis subsecuentes. Ambos loci mostraron evidencia de alelos nulos, lo cual pudo causar sesgo en la asignación de genotipos. Por esto, los análisis poblacionales se realizaron independientemente para cada locus, en lugar de hacerlo con genotipos compuestos; esta precaución produjo resultados muy similares para ambos juegos de datos. La prueba de equilibrio Hardy-Weinberg reveló déficits de heterocigotos, que pueden ser atribuibles a los alelos nulos, consanguinidad, efecto Wahlund, efecto Allee y reclutamiento asexual. Los análisis de estructura genética revelaron poblaciones totalmente fragmentadas. El AMOVA mostró que la mayor contribución a la variación genética fue por parte de los individuos, seguida de las localidades y las regiones; este último nivel jerárquico contribuyó con menos de 1% a la variación. Los índices de fijación también mostraron una diferenciación sumamente baja entre regiones ($P > 0.05$), y diferenciaciones moderadas a elevadas entre localidades y entre individuos ($P < 0.05$). Esto podría explicarse en términos de estructura genética a escala espacial fina causada por flotabilidad negativa de gametos y/o cigotos, lo cual limitaría la dispersión larval a zonas cercanas a la colonia madre. Los análisis de correlación entre distancias genéticas y geográficas, así como los cladogramas, no mostraron evidencia de aislamiento por distancia. El análisis de las distancias genéticas reveló que las poblaciones de *P. damicornis* de Oaxaca son más diversas que las de Guerrero. Esta tesis representa el primer estudio sobre estructura genética de *P. damicornis* enfocado en el sur del Pacífico mexicano. Sus resultados pueden servir en futuras investigaciones sobre biología reproductiva de la especie y en estudios sobre distribución de las especies genéticas de *Pocillopora* tipo 1 y 3. La estructura genética fragmentada encontrada para *P. damicornis* en Oaxaca y Guerrero apunta a que las estrategias para su conservación deberían considerar a toda la región y no a comunidades coralinas específicas.

Palabras clave: microsatélites nucleares, PCR, iniciadores, estructura genética a escala espacial fina.

RECONOCIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el financiamiento del presente trabajo a través del proyecto “Entendiendo los procesos que garantizan la perpetuidad de los sistemas arrecifales. Reproducción, reclutamiento, supervivencia y conectividad de corales arrecifales en la costa de Oaxaca” (clave CB-2007-80228-Q) a cargo del Dr. Ramón Andrés López Pérez, y a su grupo de trabajo por su ayuda en la colecta de muestras.

DEDICATORIA

A mis padres por su apoyo, comprensión y consejos.

“No olvidad que la ciencia exige del individuo su vida entera. Si tuviéramos dos vidas, tampoco serían suficientes” (Iván Pávlov).

AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis Dr. Rolando Cardeña por brindarme la oportunidad de trabajar en el laboratorio de genética, por sus sabios consejos y por su paciencia a lo largo de todo mi aprendizaje.

Al M. en C. Edgar Montesinos por su paciencia y ayuda en el laboratorio, pero sobre todo por su amistad.

A “pochu” por su ayuda con los mapas y por su paciencia.

A mi familia por su apoyo durante mis estudios de licenciatura, sus asesorías y ánimos.

A mis compañeros de laboratorio Nayeli, Juan, Francisco, Mariano y Jessica por su ayuda con los geles electroforéticos.

A todos aquellos con los que alguna vez conté, cuento y contaré...Ere, Juan, Alberto, Leo, Susana, Fernando, Carlos, Rebeca, Dulce, Lorena, Blanquita, Luis, Diana, Fátima, Mildred, Mónica, José Luis y Fer, Lenin, Paquito y Xchel.

INDICE GENERAL

RESUMEN	i
RECONOCIMIENTOS	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MARCO TEÓRICO.....	2
2.1. Biología de <i>Pocillopora damicornis</i>	2
2.1.1 Taxonomía y morfología	2
2.1.2 Distribución y abundancia	4
2.1.3 Alimentación	6
2.1.4 Crecimiento.....	7
2.1.5 Reproducción y reclutamiento	7
2.1.6 Importancia biológica y económica	11
2.1.7 Susceptibilidad a cambios ambientales	11
2.1.8 Acciones de conservación.....	12
2.2 Genética de poblaciones	12
2.2.1 Estructura genética	13
2.2.2 Conectividad y flujo de genes	13
2.3 Reacción en cadena de la polimerasa	14
2.4 Marcadores moleculares	15
2.4.1 Principales marcadores moleculares	16
2.4.2 Importancia de marcadores microsatelitales en estudios genéticos	19
2.5 ADN nuclear y mitocondrial.....	20

2.6 Estimadores y pruebas estadísticas usadas en genética poblacional	21
2.6.1 Frecuencias alélicas	21
2.6.2 Análisis de varianza molecular e índices de fijación	21
2.6.3 Equilibrio de Hardy-Weinberg	22
2.6.4 Desequilibrio en el ligamiento	24
2.6.5 Cladogramas	24
3. ANTECEDENTES	24
4. JUSTIFICACIÓN	27
5. HIPÓTESIS	28
6 OBJETIVOS	29
6.1 Objetivo general.....	29
6.2 Objetivos específicos.....	29
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	29
7.1 Área de estudio	29
7.2 Colecta de muestras.....	33
7.3 Extracción de ADN.....	33
7.4 Amplificación por PCR	34
7.5 Electroforesis	35
7.5.1 Electroforesis en agarosa	35
7.5.2 Electroforesis en poliacrilamida.....	35
7.6 Criterios para selección de loci	36
7.7 Pruebas estadísticas	36
7.7.1 Estimación de tamaño de bandas	36
7.7.2 Análisis genéticos	36

7.7.2.1 Basados en Arlequin 3.5	36
7.7.2.2 Basados en Phylip 3.69	37
8. RESULTADOS Y DISCUSIONES	38
8.1 Generación de banco de extractos de ADN	38
8.2 Amplificación de ADN y caracterización de la variación	38
8.3 Análisis genéticos poblacionales.....	44
8.3.1 Desequilibrio en el ligamiento y equilibrio de Hardy-Weinberg	44
8.3.2 Frecuencias genéticas.....	47
8.3.3 Estructura genética	51
8.3.4 Distancias genéticas	52
9. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	56
10. REFERENCIAS	58
ANEXO	68

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Filogenia generalizada de la clase Anthozoa (Tomado de Rivas, 2009)	2
Figura 2. Colonia de <i>Pocillopora damicornis</i> (Tomado de Cortés y Guzmán 1998).	3
Figura 3. Distribución de <i>P. damicornis</i> en el Pacífico mexicano (Modificado de Reyes-Bonilla y López-Pérez 1998).....	6
Figura 4. Amplificación de un segmento de ADN por medio de PCR (Tomado de Escobar-Saucedo 2011)	15
Figura 5. Patrones de corrientes en el POT en octubre (Tomado de FAO, 1995).	31
Figura 6. Área de estudio con ubicación de las localidades de muestreo	32
Figura 7. Gel electroforético de agarosa con ADN de calidad variable	38
Figura 8. Patrones de bandeo representativos de los loci analizados.....	41
Figura 9. Patrón de bandeo de los loci estudiados.....	43
Figura 10. Frecuencias alélicas por estado.....	47
Figura 11. Frecuencias alélicas por localidad.	48
Figura 12. Relación entre distancia geográfica y distancia genética	54
Figura 13. Cladogramas a partir de distancias genéticas de la matriz de Reynolds.....	55

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Cantidad de muestras colectadas por localidad.	33
Tabla II. Loci microsatelitales analizados.	34
Tabla III. Composición de la mezcla de reacción para PCR.	35
Tabla IV. Cantidad de muestras con productos de PCR, por localidad.	39
Tabla V. Loci seleccionados con base en los criterios propuestos	40
Tabla VI. Prueba de equilibrio Hardy-Weinberg por grupo.	46
Tabla VII. Frecuencias genotípicas por localidad.	50
Tabla VIII. AMOVA e índices de fijación.	51