



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
(BIOLOGÍA MARINA)

**“TAXONOMÍA DE ESPONJAS PERFORADORAS (DEMOSPONGIAE,  
PORIFERA) ASOCIADAS A ARRECIFES CORALINOS DEL PACÍFICO  
ORIENTAL TROPICAL CENTROAMERICANO Y FILOGEOGRAFÍA DE *Cliona  
mucronata*”**

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO ACADÉMICO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS

**PRESENTA:**

**CRISTIAN PACHECO SOLANO**

**TUTOR PRINCIPAL**

**DR. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO**

INSTITUTO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,  
UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN, UNAM

**COTUTOR**

**DR. JOSÉ ANTONIO CRUZ BARRAZA**

INSTITUTO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,  
UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN, UNAM

**COMITÉ TUTOR:**

**DR. ALBERTO ABREU GROBOIS**

INSTITUTO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,  
UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN, UNAM

**DR. ENRIQUE ÁVILA TORRES**

INSTITUTO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA  
ESTACIÓN DE EL CARMEN, UNAM

**DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES**

INSTITUTO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2015



*Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología*  
Universidad Nacional Autónoma de México



**“TAXONOMÍA DE ESPONJAS PERFORADORAS (DEMOSPONGIAE, PORIFERA)  
ASOCIADAS A ARRECIFES CORALINOS DEL PACÍFICO ORIENTAL TROPICAL  
CENTROAMERICANO Y FILOGEOGRAFÍA DE *Cliona mucronata*”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

(BIOLOGÍA MARINA)

**PRESENTA:**

**CRISTIAN PACHECO SOLANO**

DIRECTOR DE TESIS:

DR. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO

COMITÉ TUTORAL

DR. JOSÉ ANTONIO CRUZ BARRAZA

DR. ALBERTO ABREU GROBOIS

DR. ENRIQUE ÁVILA TORRES

DR PÍNDARO DÍAZ JAIMES

MAZATLÁN, SINALOA 2015



## Agradecimientos

Agradezco al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de México por el apoyo académico y económico que me permito llevar a cabo estos estudios de maestría. Así como expresar mi agradecimiento a la Fundación Henrich Böll por el apoyo que recibí como becario para realizar mis estudios en los Estados Unidos Mexicanos.

Agradezco al doctor José Luis Carballo, que hizo posible mi estancia en su laboratorio y que con su paciencia y consejo es que ahora logro concluir esta investigación. También agradezco a los doctores: José Antonio Cruz, Alberto Abreu, Enrique Ávila y Píndaro Díaz por sus correcciones y comentarios en la elaboración de este documento, el cual representa tiempo y dedicación de todos ellos.

Agradezco la ayuda de la bióloga Yolanda Hornelas que con su paciencia y dedicación hizo posibles algunas de las fotos de microscopía electrónica que se presentan en esta investigación.

Agradezco a toda la gente del laboratorio de Ecología del Bentos: Benjamín Yáñez, Cristina Vega, Jesús Armando Chavez, Lilia Rendón, Eric Bautista, y Julio Ventura con los que compartí mi trabajo en el laboratorio y una que otra gira. A ellos les agradezco especialmente las atenciones y consejos. Los mejores deseos en sus proyectos. Además deseo animar a las nuevas generaciones del laboratorio: Jéssica Orrante y Mateo Amillano, que disfruten de la ciencia tanto como lo hago yo.

Agradezco al Dr. Jorge Cortés, que desde Costa Rica me apoya con su consejo, trabajo de campo e invitaciones a colaborar en manuscritos. Verdaderamente considero que su colaboración ha sido muy importante en mi desarrollo profesional.

Por último agradecer a mis padres todo el apoyo que me han dado desde el inicio de la carrera y durante la maestría. Su acompañamiento y consejo, han contribuido en gran medida al éxito de esta gran aventura en país extranjero.

# Índice de Contenido

|                                                                                                                              |           |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>Introducción .....</b>                                                                                                    | <b>1</b>  |
| <b>Objetivos.....</b>                                                                                                        | <b>3</b>  |
| General: .....                                                                                                               | 3         |
| Específicos: .....                                                                                                           | 3         |
| <b>Sitio de estudio:.....</b>                                                                                                | <b>3</b>  |
| <b>Capítulo I.....</b>                                                                                                       | <b>6</b>  |
| Taxonomía de Esponjas Perforadoras del POT Centroamericano .....                                                             | 6         |
| Esponjas perforadoras del POT Centroamericano reportadas en la literatura .....                                              | 8         |
| Materiales y Métodos .....                                                                                                   | 9         |
| Resultados.....                                                                                                              | 11        |
| Orden Hadromerida Topsent, 1894.....                                                                                         | 11        |
| Familia Clionidae d'Orbigny, 1851.....                                                                                       | 12        |
| <i>Cliona amplicavata</i> Rützler, 1974.....                                                                                 | 13        |
| <i>Cliona californiana</i> Laubenfels, 1932 .....                                                                            | 17        |
| <i>Cliona euryphylla</i> Topsent, 1887 .....                                                                                 | 21        |
| <i>Cliona microstrongylata</i> Carballo & Cruz-Barraza, 2005 .....                                                           | 25        |
| <i>Cliona mucronata</i> Sollas, 1878. ....                                                                                   | 29        |
| <i>Cliona pocillopora</i> Bautista-Guerrero, Carballo, Cruz-Barraza & Nava 2006. ....                                        | 29        |
| <i>Cliona tropicalis</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011.....                                         | 32        |
| <i>Cliona vermifera</i> Hancock, 1867.....                                                                                   | 34        |
| <i>Cliothesa tylostrongylata</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero, Nava 2011.....                                   | 40        |
| <i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i> (Hancock, 1867).....                                                                      | 44        |
| <i>Pione</i> cf. <i>mazatlanensis</i> (Hancock, 1867) .....                                                                  | 48        |
| Orden Astrophorida Sollas, 1888.....                                                                                         | 51        |
| Familia Thoosidae Rosell & Uriz, 1997.....                                                                                   | 52        |
| <i>Thoosa mismalolli</i> Carballo, Cruz-Barraza & Gómez 2004 .....                                                           | 53        |
| <i>Thoosa</i> cf. <i>calpulli</i> Carballo, Cruz-Barraza, Gómez 2004. ....                                                   | 58        |
| Discusión .....                                                                                                              | 63        |
| Conclusión .....                                                                                                             | 69        |
| Bibliografía .....                                                                                                           | 71        |
| <b>Capítulo II.....</b>                                                                                                      | <b>81</b> |
| Análisis morfológico y filogeográfico de la esponja <i>Cliona mucronata</i> : ¿especie cosmopolita o especies hermanas?..... | 81        |
| INTRODUCCIÓN .....                                                                                                           | 81        |
| MATERIALES Y METODOS.....                                                                                                    | 83        |

|                                                                           |            |
|---------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>RESULTADOS .....</b>                                                   | <b>89</b>  |
| <b>Descripción morfológica de la especie .....</b>                        | <b>89</b>  |
| Análisis morfológico.....                                                 | 93         |
| Análisis molecular .....                                                  | 104        |
| <b>DISCUSIÓN.....</b>                                                     | <b>108</b> |
| Distribución cosmopolita de <i>Cliona mucronata</i> .....                 | 108        |
| Variación espicular de <i>Cliona</i> cf. <i>mucronata</i> en el POT ..... | 110        |
| Variación espicular en el Caribe.....                                     | 111        |
| Variación molecular en D2-28S.....                                        | 112        |
| Variación molecular de COI .....                                          | 113        |
| <b>CONCLUSIÓN .....</b>                                                   | <b>116</b> |
| <b>Referencias.....</b>                                                   | <b>118</b> |

## Índice de Imágenes

|                                                                                                                                                                                                                                                             |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig. 1.1. Mapas de Nicaragua, Costa Rica y Panamá en los que se marcan los sitios a los que pertenecen las esponjas descritas en este estudio.....                                                                                                          | 5  |
| Fig. 1.2 <i>C. amplicavata</i> . A) papilas, B) coral del género <i>Pocillopora</i> donde se aprecian las cámaras perforadas por la esponja y el tejido de esta.....                                                                                        | 14 |
| Fig. 1.3. Espículas de <i>C. amplicavata</i> al MEB. A) Tilostilos, B) tilostilo inmaduro, C) estilos, D) ráfides, E) variación morfológica de tilos.....                                                                                                   | 15 |
| Fig. 1.4. Imagen de las cámaras excavadas por <i>C. amplicavata</i> al MEB. A) Cámaras y ducto de unión entre ellas (flecha), B) marcas hechas por la esponja en la pared del coral.....                                                                    | 16 |
| Fig. 1.5. Distribución mundial de <i>C. amplicavata</i> .....                                                                                                                                                                                               | 17 |
| Fig. 1.6. Fotografías de <i>C. californiana</i> . A) Papilas (flecha) en matriz arrecifal, B) corte transversal mostrando la papila (flecha), C) perforaciones en <i>Pocillopora</i> sp. con el tejido de la esponja, se aprecia la coloración en vivo..... | 18 |
| Fig. 1.7. Espículas <i>C. californiana</i> . al MEB. A) Tilostilos, B) subtilostilos, C) tilos.....                                                                                                                                                         | 19 |
| Fig. 1.8. Imagen de la perforación causada por <i>C. californiana</i> al MEB. A) Cámaras fusionadas, B) marcas de perforación en las paredes del coral.....                                                                                                 | 20 |
| Fig. 1.9. Distribución geográfica de <i>C. californiana</i> .....                                                                                                                                                                                           | 21 |
| Fig. 1.10. A) Papila que se eleva sobre el alga calcárea que recubre superficialmente el coral, B) la papila fue removida para mostrar la perforación en el coral.....                                                                                      | 22 |
| Fig. 1.11. Espículas de <i>C. euryphylla</i> al MEB. A) Tilostilos y la variación morfológica de los tilos, B) espiraster cortos y largo.....                                                                                                               | 23 |
| Fig. 1.12. A) Cámaras de perforación, B) marcas dejadas en las paredes de las cámaras.....                                                                                                                                                                  | 24 |
| Fig. 1.13. Distribución geográfica de <i>C. euryphylla</i> .....                                                                                                                                                                                            | 25 |
| Fig. 1.14. Coloración en vivo de <i>C. microstrongylata</i> en fragmento de corales pocilopóridos.....                                                                                                                                                      | 26 |
| Fig. 1.15. A) Tilostilos, B) microstrongilos, C) ambos tipos espiculares de <i>C. microstrongilata</i> .....                                                                                                                                                | 27 |
| Fig. 1.16. Distribución mundial de <i>C. microstrongylata</i> .....                                                                                                                                                                                         | 28 |
| Fig. 1.17. Fotos de <i>C. pocillopora</i> . A) Papilas (flecha), B) perforaciones en el coral con tejido de la esponja.....                                                                                                                                 | 30 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                |    |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig. 1.18. <i>C. pocillopora</i> al MEB. Tilostilos en donde se aprecia las diferentes posiciones del tilo a lo largo de la espícula.....                                                                                                                                                      | 30 |
| Fig. 1.19. Imágenes de las perforaciones de <i>C. pocillopora</i> al MEB. A) Cámara y ductos de unión con otras cámaras; B) marcas dejadas por la esponja durante el proceso de excavación.....                                                                                                | 31 |
| Fig. 1.20. Distribución geográfica de <i>C. pocillopora</i> .....                                                                                                                                                                                                                              | 32 |
| Fig. 1.21. Coloración de <i>C. tropicalis</i> en vivo.....                                                                                                                                                                                                                                     | 33 |
| Fig. 1.22. Distribución mundial de <i>C. tropicalis</i> .....                                                                                                                                                                                                                                  | 34 |
| Fig. 1.23. A) Papilas de <i>C. vermifera</i> en vivo, B) vista transversal de la papila en la parte superior y la cámara perforada en la estructura coralina.....                                                                                                                              | 35 |
| Fig. 1.24. Imagen de las espículas de <i>C. vermifera</i> al MEB. A) Tilostilo, B) microstrongilos sinuosos y al margen derecho uno con malformación, C) tilostilos y microstrongilos en la misma escala.....                                                                                  | 36 |
| Fig. 1.25. Imagen de las perforaciones producidas por <i>C. vermifera</i> al MEB. A) Cámara de perforación, B) marcas de perforación.....                                                                                                                                                      | 37 |
| Fig. 1.26. Distribución mundial de <i>C. vermifera</i> .....                                                                                                                                                                                                                                   | 38 |
| Fig. 1.27. Imagen de microscopía de luz para dos especímenes de <i>C. vermifera</i> . A) Se contabilizó 9 microstrongilos sinuosos, mientras que B) tiene 88 microstrongilos sinuoso.....                                                                                                      | 39 |
| Fig. 1.28. Coloración en vivo de <i>Cliothisa tylostrongylata</i> .....                                                                                                                                                                                                                        | 40 |
| Fig. 1.29. Espículas de <i>C. tylostrongylata</i> A) Tilostrongilos y tilostilos, B) anfiaster ramificados, C) anfiaster nodulosos.....                                                                                                                                                        | 42 |
| Fig. 1.30. Distribución mundial de <i>C. tylostrongylata</i> .....                                                                                                                                                                                                                             | 43 |
| Fig. 1.31. Foto de las papilas y tejido (flecha) con la coloración en vivo de <i>P. cf. carpenteri</i> .....                                                                                                                                                                                   | 44 |
| Fig. 1.32. Espículas de <i>Pione cf. carpenteri</i> al MEB. A) Tilostilo con variación de cabezas; B) imagen de espículas oxas y microrhabdes, con magnificación del recuadro en donde se muestra la microespinación de las oxas y un microrhabdes quebrado, C) oxa, D) tres microrhabdes..... | 46 |
| Fig. 1.33. Imágenes de <i>Pione cf. carpenteri</i> al MEB. A) Cámaras de perforación unidas por ductos, B) marcas de perforación.....                                                                                                                                                          | 47 |
| Fig. 1.34. Distribución de <i>Pione cf. carpenteri</i> .....                                                                                                                                                                                                                                   | 48 |

|                                                                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Fig. 1.35. Espículas de <i>P. mazatlanensis</i> . A) Tilostilos, B, C) acantoxas, D) detalle de los tilos en los tilostilos, E) microrhabdes espiralados, F) Un microrabdes desgastado y otro recto..... | 50 |
| Fig. 1.36. Distribución de <i>P. mazatlanensis</i> .....                                                                                                                                                 | 51 |
| Fig. 1.37. Papilas de <i>T. mismalolli</i> .....                                                                                                                                                         | 54 |
| Fig. 1.38. Espículas de <i>T. mismalolli</i> al MEB. A) Oxa centrotílotes, oxíasters bi-radiales, tri-radiales y tetra-radiales, B) anfiasters gruesos y delgados.....                                   | 55 |
| Fig. 1.39. Espícula de <i>T. mismalolli</i> al MEB. Tilostilo (flecha) rodeado por anfiasters y algunos oxíasters tetra-radiales.....                                                                    | 56 |
| Fig. 1.40. Imagen del patrón de perforación en <i>T. mismalolli</i> al MEB. A) Galería producto de la fusión de cámaras, B) marcas de perforación, se observa lo irregular de su superficie.....         | 57 |
| Fig. 1.41. Distribución geográfica de <i>T. mismalolli</i> .....                                                                                                                                         | 58 |
| Fig. 1.42. Espículas de <i>Thoosa</i> cf. <i>calpulli</i> . A) Anfiasters simétricos, B) oxíasters, C) anfiasters asimétricos.....                                                                       | 59 |
| Fig. 1.43. A, C) Tipos de oxíasters triradiales y biradiales; B) oxa centrotílot y oxa espinada simple.....                                                                                              | 60 |
| Fig. 1.44. Vista general de espículas de <i>T. cf. calpulli</i> . Se muestra una de las oxas de gran tamaño.....                                                                                         | 61 |
| Fig. 1.45. Distribución de <i>T. calpulli</i> .....                                                                                                                                                      | 62 |
| Fig. 1.46. A) Microrhabdes de <i>Pione carpenteri</i> tomado de Carballo et al. (2004). B) Microrhabdes del espécimen estudiado en esta tesis.....                                                       | 66 |
| Fig. 2.1. Localidad de los especímenes recolectados y utilizados para el análisis morfológico.....                                                                                                       | 84 |
| Fig. 2.2. Localidad de las muestras recolectadas y utilizadas para el análisis molecular.....                                                                                                            | 87 |
| Fig. 2.3. Fotos de <i>C. cf. mucronata</i> . A) Papilas (flecha), B) cámaras de perforaciones con tejido preservado (flecha), C) perforaciones con tejido vivo y su coloración característica.....       | 90 |
| Fig. 2.4. Espículas de <i>C. cf. mucronata</i> al MEB. A) Variación morfológica en los tilostilos, B) tilostilos ensiformes cortos característicos, a mayor magnificación.....                           | 91 |
| Fig. 2.5. A) Tilostilos largos y modificaciones a estilo o centrotílotes. B, D) Tilostilos ensiformes con modificaciones en las puntas. C) Oxamucronas.....                                              | 93 |

|                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Fig. 2.6. Perforaciones de <i>C. cf. mucronata</i> al MEB. A) Cámaras de perforación y ductos de unión (señalados en la imagen); B) marcas de perforación con perforación hecha por pseudopodios pioneros.....                                                                                    | 93  |
| Fig. 2.7. Diagrama de caja para la longitud de los tilostilos ensiformes por espécimen y resultado de la Prueba T con la agrupación por similitud (representados por el traslape de círculos y las letras compartidas).....                                                                       | 95  |
| Fig. 2.8. Diagrama de caja para el grosor de los tilostilos ensiformes por espécimen y resultado de la Prueba T con la agrupación por similitud.....                                                                                                                                              | 96  |
| Fig.2.9. Diagrama de caja para el diámetro del tilo en los tilostilos ensiformes por espécimen y resultado de la prueba T con la agrupación por similitud.....                                                                                                                                    | 96  |
| Fig. 2.10. Diagrama de caja para la longitud de los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.....                                                                                                                                               | 98  |
| Fig. 2.11. Diagrama de caja para el grosor de los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.....                                                                                                                                                 | 99  |
| Fig. 2.12. Diagrama de caja para el diámetro del tilo en los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.....                                                                                                                                      | 99  |
| Fig. 2.13. Tendencias en longitudes de espículas por especímenes ordenados de norte a sur del POT (barras de desviación estándar).....                                                                                                                                                            | 100 |
| Fig. 2.14. Comparación de la longitud (A), grosor (B) y tilo (C) de los tilostilos ensiformes por región Caribe (CA), POT Costa Rica (CR) y POT México (MX).....                                                                                                                                  | 102 |
| Fig. 2.15. Comparación de la longitud (A), grosor (B) y tilo (C) de los tilostilos largos por región Caribe (CA), POT Costa Rica (CR) y POT México (MX).....                                                                                                                                      | 102 |
| Fig. 2.16. Promedio de longitudes para espículas reportadas en la literatura y en este trabajo para el Océano Índico, Océano Pacífico y Mar Caribe. Los promedios de Indonesia y Filipinas pertenecen al segundo trabajo de Calcinai et al. (2005).....                                           | 104 |
| Fig. 2.17. Cladograma de distancias genéticas (Neighbor-Joining) para D2, 28S ADNr. <i>Cliona californiana</i> (Cca.56.LF) como grupo externo; el espécimen recolectado para el Caribe (Cmu.58.CA); y <i>Cliona cf. mucronata</i> de distintos sitios de Costa Rica (E, R, Cu) y México (II)..... | 105 |
| Fig. 2.18. Cladograma para CO I. Se representan los valores bootstrap para los diferentes métodos empleados: [Máxima Parsimonia] (Máxima Verosimilitud) Neighbor-Joining... ..                                                                                                                    | 107 |
| Fig. 2.19. Distribución teórica de <i>C. mucronata</i> si se asume que todos los registros son la misma especie.....                                                                                                                                                                              | 109 |

## Índice de Tablas

|                                                                                                                                                                                                                                                                                 |     |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| Tabla 1.1 Especies de esponjas perforadoras reportadas para el POT Centroamericano y su estado actual según la Base de Datos Porífera (Soest et al. 2014).....                                                                                                                  | 9   |
| Tabla 1.2. Especies de esponjas perforadoras identificadas en el Océano Pacífico para Nicaragua, Costa Rica, Panamá y la Isla del Coco.....                                                                                                                                     | 65  |
| Tabla 1.3. Promedio para el largo de dos tipos espiculares.....                                                                                                                                                                                                                 | 68  |
| Tabla 1.4. Presencia de esponjas perforadoras por sitios en las costas del Pacífica Oriental Tropical Centroamericano.....                                                                                                                                                      | 70  |
| Tabla 2.1. Códigos del sitio de estudio de donde provienen los especímenes utilizados en el análisis morfológico.....                                                                                                                                                           | 83  |
| Tabla 2.2. Información de los cebadores utilizados para el análisis molecular de <i>C. mucronata</i> .....                                                                                                                                                                      | 87  |
| Tabla 2.3. Rango de mediciones, promedios (entre paréntesis) y desviación estándar para cada factor en los tilostilos ensiformes. Los sitios han sido ordenados por su posición geográfica de norte a sur en el POT y Caribe. N representa el total de espículas medidas.....   | 94  |
| Tabla 2.4. Rango de mediciones y promedios (entre paréntesis) además de desviación estándar para cada factor de los tilostilos largos. Los sitios han sido ordenados por posición geográfica de norte a sur en el POT y Caribe. N representa el total de espículas medidas..... | 97  |
| Tabla 2.5. Rango de mediciones de las espículas tilostilos ensiformes. Además promedio y desviación estándar.....                                                                                                                                                               | 101 |
| Tabla 2.6. Rango de mediciones de las espículas tilostilos largos. Además promedio y desviación estándar.....                                                                                                                                                                   | 101 |
| Tabla 2.7. Valores de significancia para la Prueba T al comparar las regiones.....                                                                                                                                                                                              | 101 |
| Tabla 2.8. Promedios de mediciones espiculares obtenidas de la literatura y de este trabajo.....                                                                                                                                                                                | 103 |
| Tabla 2.9. Diferencias en pares de bases (pb) al comparar el marcador D2, 28S entre regiones.....                                                                                                                                                                               | 104 |
| Tabla 2.10. Distancias genéticas para D2, 28S ADNr. Distancias P en el extremo inferior izquierdo y error estándar en el extremo superior derecho.....                                                                                                                          | 105 |
| Tabla 2.11. Diferencias en pares de bases (pb) al comparar el marcador CO I entre regiones.....                                                                                                                                                                                 | 106 |
| Tabla 2.12. Matriz de distancias p y error estándar.....                                                                                                                                                                                                                        | 107 |

## Resumen

El desarrollo de arrecifes de coral, uno de los ecosistemas más importantes en el océano, representa un balance entre los constructores arrecifales como el coral y los bioerosionadores como las esponjas, ambos son agentes activos en el modelaje de este ecosistema. Por lo que conocer la biodiversidad de esponjas perforadoras es importante para entender mejor el arrecife coralino, así como la dinámica de los procesos de acreción y erosión. Sin embargo, la biodiversidad de esponjas perforadoras es poco conocida en algunas regiones como el Pacífico de Centro América. La dinámica de estos procesos (acreción y erosión) adquiere mayor relevancia en un escenario de cambio climático donde los arrecifes son vulnerables a un aumento de temperatura o a la acidificación del océano. Este es el primer estudio enfocado a la taxonomía de esponjas perforadoras en la región del Pacífico Centroamericano. En él se describen 13 especies: *Cliona amplicavata*, *Cliona californiana*, *Cliona euryphylla*, *Cliona mucronata*, *Cliona pocillopora*, *Cliona vermifera*, *Cliona microstrongylata*, *Cliona tropicalis*, *Pione carpenteri*, *Pione mazatlanensis*, *Thoosa calpulli*, *Thoosa mismalolli*, *Cliothesa tylostrongylata*. La mayoría de estos registros amplían la distribución de las especies al sur del Pacífico Oriental Tropical. Además se establece un análisis morfológico y molecular para la especie *Cliona mucronata* que previamente había sido considerada una especie cosmopolita, sin embargo debido a diferencias significativas en las características morfológicas y la estructura genética entre individuos del Pacífico norte, Pacífico sur y el Mar Caribe, sugieren que esta especie es en realidad dos especies hermanas.

## Abstract

The assemblage of coral reefs, one of the most important ocean ecosystems, constitutes a balance between reef builders like corals and bioeroders like sponges. Both have important roles in modeling the ecosystem. That is why the biodiversity of excavating sponges is important in obtaining a better understanding of the dynamics of coral reef accretion and erosion, however this biodiversity is poorly known in some regions such as the Central American Pacific. The dynamic of accretion and erosion is more relevant when climate change is taken into account, as coral reefs are vulnerable to high temperatures and ocean acidification. This is the first taxonomic study of excavating sponges in the region of Central American Pacific. The following thirteen species are described, many of which extend previously known distribution ranges at the South end of the Tropical Eastern Pacific: *Cliona amplicavata*, *Cliona californiana*, *Cliona euryphylla*, *Cliona mucronata*, *Cliona pocillopora*, *Cliona vermifera*, *Cliona microstrongilata*, *Cliona tropicalis*, *Pione carpenteri*, *Pione mazatlanensis*, *Thoosa calpulli*, *Thoosa mismalolli*, *Cliothosa tylostrongylata*. Thus, the biodiversity of this group in Central America is clarified and updated. A morphological and genetic study is presented for *Cliona mucronata* that previously has been considered as a cosmopolitan species, but significant differences in morphology and genetic structure between the South Pacific, North Pacific, and Caribbean Sea suggest that it is a sibling species.

## Introducción

Los arrecifes de coral forma uno de los ecosistemas más importantes en el océano, a pesar de representar solamente el 0.2% de este, los arrecifes alberga aproximadamente un tercio de todas las especies marinas descritas, la mayoría de las cuales no se encuentran en ningún otro sitio (Veron et al. 2009). Por otro lado, la estructura tridimensional de los arrecifes de coral son barreras que reducen la energía del oleaje y disminuyen la erosión en los márgenes continentales (Graham & Nash 2013).

Además tienen un impacto económico sensible con actividades como pesca o turismo (Veron et al. 2009, Graham & Nash 2013). Algunos autores estiman el valor que este ecosistema brinda en bienes y servicios a nivel mundial en un rango de entre \$172 a \$375 billones por año sin considerar la importancia que tiene en la producción de arena e intercambio de gases (Veron et al. 2009).

Sin embargo los arrecifes coralinos son también ecosistemas muy vulnerables, se estima que alrededor del 19% de los arrecifes del mundo se han perdido y otro 35% están seriamente amenazados (Wilkinson 2008). En adición a esto el panorama de cambio climático presenta fenómenos de gran impacto como la acidificación de los océanos y el incremento en las temperaturas de las aguas superficiales (Wild et al. 2011, Pandolfi et al. 2011). En este contexto una mejor comprensión de la biota y los procesos dinámicos que se dan en los arrecifes adquieren mayor relevancia.

Uno de esos procesos asociado a la estructura de los arrecifes coralinos es el equilibrio entre la acreción – principalmente por corales escleractinios – y su bioeroción – con las esponjas perforadoras como importantes actores – (Glynn et al. 2012, Wulff, 2001). Tasas rápidas de acreción en corales se han determinado en cerca de los 10 kg  $\text{CaCO}_3 \text{ m}^{-2}$  por año (Spencer & Viles 2002). Mientras que las esponjas pueden infestar y perforar a tasas aproximadas de 23 kg  $\text{CaCO}_3 \text{ m}^{-2}$  por año (Spencer & Viles 2002).

Las esponjas perforan estructuras de carbonato de calcio de organismos muertos, como esqueletos de coral, conchas de moluscos, tubos de poliquetos y algas calcáreas, lo que contribuye al reciclaje del carbonato de calcio acelerando su reincorporación a la columna de agua (Nava & Carballo 2008). Pero estas también ejercen presión y compiten por espacio junto al coral vivo (Nava & Carballo 2013).

Algunos factores que podrían contribuir a una abundancia de esponjas perforadoras en detrimento de los corales son eventos de blanqueamiento y daño físico, ya que ocasionan un aumento de sustrato calcáreo expuesto que perforar (Schönberg & Ortiz 2008, Carballo et al. 2008).

Esta investigación representa un esfuerzo en el estudio taxonómico y sistemático, integrando datos morfológicos y moleculares de las esponjas perforadoras en la región y se espera generar información sobre la riqueza de especies, comparar las características entre especímenes de Centroamérica y México y desarrollar la filogeografía de *Cliona mucronata*, aportando un mayor conocimiento a un grupo de organismos de gran relevancia para los arrecifes de coral.

Para realizar una exposición más ordenada de los temas que aquí se tratan, se decidió dividir la tesis en dos capítulos. En el primero se describen las especies de esponjas perforadoras encontradas en el Pacífico Oriental Tropical (POT) Centroamericano. En el segundo capítulo se establece la comparación entre los especímenes de *Cliona mucronata* a lo largo del POT y el Caribe desde el punto de vista de taxonomía integrativa uniendo al dato morfológico el molecular.

## Objetivos

### General:

Identificación taxonómica de las especies de esponjas perforadoras del POT, especialmente el Pacífico Centroamericano y análisis filogeográfico de *Cliona mucronata*.

### Específicos:

- i. Describir morfológicamente las especies de esponjas perforadoras del Pacífico Centroamericano.
- ii. Actualizar el conocimiento de esponjas perforadoras que aparece en la literatura.
- iii. Comparar la morfología de *Cliona mucronata* con especímenes del Pacífico Costarricense, el Pacífico Mexicano y el Mar Caribe, además de realizar un análisis filogeográfico para esta especie.

### Sitio de estudio:

El POT es una de las regiones oceánicas más aisladas del mundo, al norte y sur está limitado por las aguas frías de zonas templadas, y al oeste por la Barrera del Pacífico Oriental, una larga extensión de aguas profundas que ya Darwin definió como barrera impasable (Cortés 1997).

El Pacífico Centroamericano constituye una pequeña área dentro del POT y comprende las zonas costeras de los países de: Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá; además de islas oceánicas como la Isla del Coco. Esta es una región caracterizada por una plataforma continental de moderada a angosta que se extiende por 3829 km aproximadamente (Alvarado et al. 2010).

La región experimenta una alta variabilidad estacional debido al fenómeno de El Niño y a surgencias costeras. Estas últimas se dan para el Pacífico Centroamericano, una entre el sur de Nicaragua y el norte de Costa Rica (Surgencia de Papagayo) y otra en el Golfo de Panamá (Surgencia de Panamá) (Fernández 2012).

Entre los ecosistemas marinos que incluye el POT Centroamericano se cuentan: ambientes estuarinos, extensos bosques de mangle, zonas rocosas, arrecifes coralinos, cámaras de rodolitos, cámaras de algas y pastos marinos (Fernández 2012). Esta heterogeneidad de ambientes es interesante ya que puede estar asociada a una alta diversidad de esponjas (MacArthur & MacArthur 1961, Tews et al. 2004, Cramer & Willig 2005).

En cuanto a los arrecifes coralinos, su desarrollo en el POT es limitado debido a las altas temperaturas que se dan a nivel regional durante fenómenos de El Niño y bajas temperaturas a nivel local que se experimentan como resultado de surgencias. Ambas tienen como efecto la inhibición del crecimiento del coral (Cortés 1997) Por ende los arrecifes del POT se caracterizan por su tamaño pequeño y de distribución discontinua (Cortés 1997).

A esto hay que agregar que la costa pacífica de Guatemala, Honduras y la mayor parte de Nicaragua son zonas de alta energía donde el desarrollo de arrecifes de coral es reducido o nulo por lo que se ha definido esta zona como “Vacío Faunístico del Pacífico Centroamericano” (Pacific Central American Faunal Gap) (Alvarado et al. 2011) una distancia que comprende aproximadamente 1000 km, entre el sur de México y el sur de Nicaragua, con excepción de Los Cóbanos en El Salvador donde si se dan formaciones arrecifales.

Además del Salvador los arrecifes de mayor desarrollo en el POT se ubican desde el sur de Nicaragua hasta Panamá (Cortés 1997). En esta región, la mayoría de arrecifes están constituidos por una o hasta tres especies de coral (Cortés 1997), siendo el principal grupo el de los corales pocilloporidos (Glynn & Ault 2000).

Si bien solo se tiene un sitio de recolecta en Nicaragua y otro en Panamá, en Costa Rica se logran muestrear los sitios de mayor número de especies de coral en el país (Cortés & Jiménez 2003) (ver Fig.1.1). Muchos de estos sitios son conocidos por los desarrollos turísticos que a su vez son uno de los principales factores causantes de estrés y daños físicos en las comunidades arrecifales (Cortés & Murillo 1985, Hawkins & Roberts 1992, Jiménez 1997).

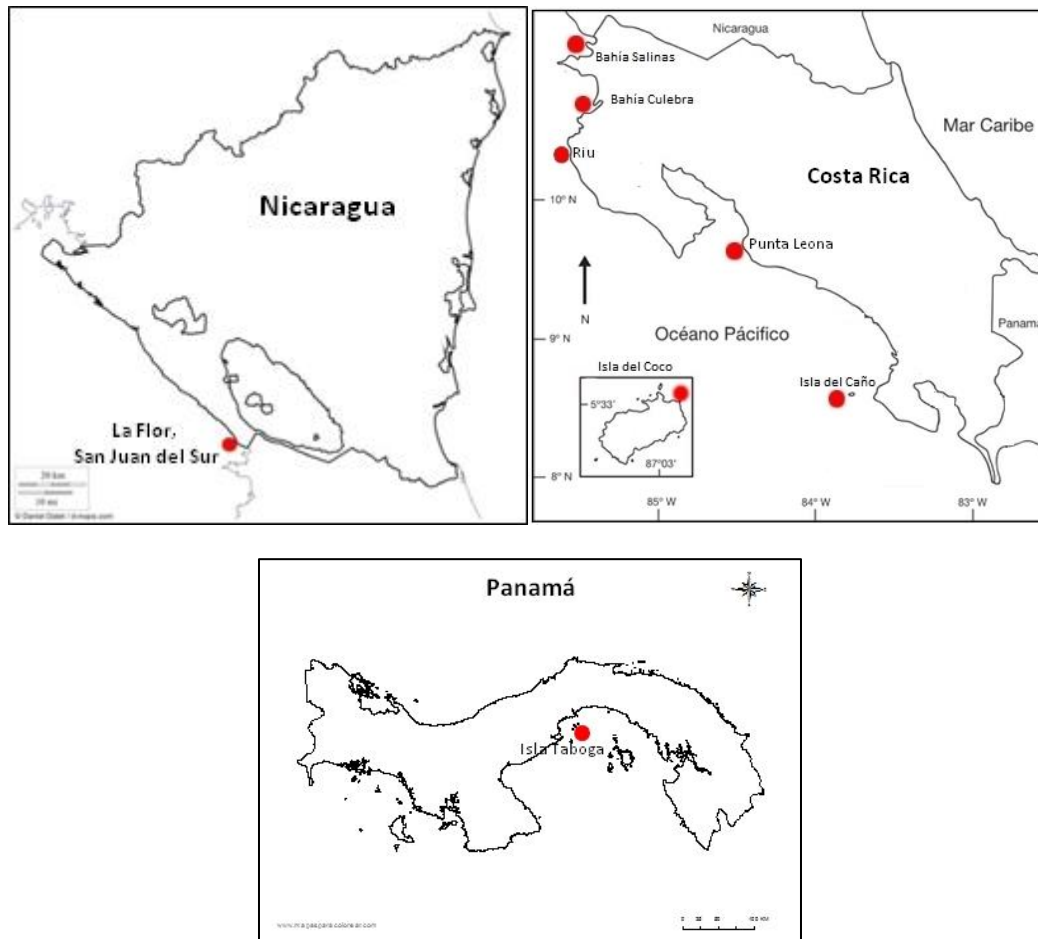


Fig. 2.1. Mapas de Nicaragua, Costa Rica y Panamá en los que se marcan los sitios a los que pertenecen las esponjas descritas en este estudio.

## Capítulo I:

### Taxonomía de Esponjas Perforadoras del POT Centroamericano

El Filo Porifera, está constituido por organismos sésiles con un sistema de poros inhalantes y exhalantes en parte recubiertos por una capa de células flageladas conocidas como coanocitos (Hooper et al. 2002). Se caracterizan por una relativa independencia celular la cual hace posible una alta capacidad de regeneración, gran movilidad celular y plasticidad en formas de crecimiento y organización únicas entre los metazoos (Hooper et al. 2002). Además de ser el único filo entre los animales cuyos representantes tienen un nivel de organización del tipo parazoo, es decir, un metazoo que carece de verdaderas capas germinales embrionarias (Brusca & Brusca 2005).

Con una historia evolutiva que parte de 500 millones de años atrás, la mayoría de esponjas han desarrollado un cuerpo provisto de: fibrillas de colágeno, fibras de espongina y un esqueleto inorgánico constituido por espículas, de carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) y/o dióxido de sílice ( $\text{SiO}_2$ ) (Hopper et al. 2002). De hecho, el sílice a pesar de ser más costoso de utilizar biológicamente, es preferido por las esponjas a diferencia de otros organismos como los corales o moluscos que utilizan el carbonato de calcio ( $\text{CaCO}_3$ ) (Uriz 2006).

Las espículas de dióxido de sílice, son producto de un proceso de biomineralización orgánica en donde la deposición del sílice se lleva a cabo intracelular o extracelularmente (Uriz et al. 2003). Este proceso ocurre de forma similar en organismos unicelulares y algas, a diferencia de la mayoría de organismos eucariotas, en donde se da una mineralización matricial a través de la deposición inducida extracelularmente (Uriz et al. 2003). El que la esponja sea un metazoo sin tejidos verdaderos y que el proceso de formación de su estructura esquelética sea más similar a organismos unicelulares y algas, sugiere la importancia de este grupo como organismo eslabón entre los protozoos y los metazoos.

Actualmente se contabilizan unas 7 000 especies de esponjas, sin embargo se calcula que existen más de 15 000 (Hooper & Van Soest 2002a). Es uno de los grupos más prominentes en los arrecifes de coral, donde usualmente exceden a los corales y algas en número de especies. Sin embargo en muchos casos son poco estudiadas o ignoradas en evaluaciones, monitoreos y restauración de arrecifes de coral (Diaz & Rützler 2001), donde podrían ser utilizadas como bioindicadores (Carballo et al. 1994, Carballo. et al 1996, Rao et al. 2009).

En la taxonomía del Filo Porifera, se distinguen la clase Demospongiae con cuatro órdenes y seis familias que son capaces de excavar sustratos carbonatados. En el orden Hadromerida se encuentran las familias: Clionidae (Rützler 2002a) y Spirastrellidae (Rützler 2002b). El orden Astrophorida con la familia Thoosidae (Cardenas et al. 2011). El orden Spirophorida con una familia Samidae y un género Samus (Soest & Hooper 2002). El orden Haplosclerida con la familia Phloeodictyidae y el género Siphonodictyon (Desqueyroux-Faúndez & Valentine 2002) y el orden Poecilosclerida con la familia Acarnidae y el género Zyzzya (Hooper 2002). Sin embargo las familias Clionidae y Thoosidae son las más importantes entre las perforadoras y se han registrado a lo largo del Pacífico Americano, especialmente en las costas de México (Carballo et al. 2008).

En este grupo, una vez que las larvas han colonizado un sustrato, se empieza el proceso de excavación, el cual consiste en una disolución química por parte de enzimas ácidas como las fosfatasas, que resulta en la liberación de los iones  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{CO}_3^{-2}$  (Pomponi 1979a), así como la liberación de partículas de coral entre 40 y 60  $\mu\text{m}$  (Pomponi 1979b) que pasan a ser parte del sedimento fino del arrecife (Zea et al. 2007).

Como dato importante cabe destacar que en todo este proceso de perforación, se estima que un 40% de los sedimentos depositados en los arrecifes de coral pueden tener su origen en la perforación mecánica que realiza la esponja al retirar las partículas de carbonato de calcio (Rützler 1975). Sin embargo esta puede ser una pequeña fracción de la capacidad de bioerosión de la esponja en comparación con la disolución química que puede triplicar este efecto (Zundeleovich et al. 2007).

La perforación forma cámaras en el interior del coral y en las paredes de estas cámaras es posible ver áreas poligonales producto de la erosión química y mecánica por parte de las células (Rosell & Uriz 2002). Cada cámara está unida a otras a través de ductos de unión donde se hallan diafragmas, cuya función es la de regular el paso de agua entre las cámaras (Rosell & Uriz 2002).

A medida que la perforación avanza, los espacios son ocupados por las células y espículas. Los esclerositos son las células especializadas en la formación de espículas, en las que el sílice es depositado alrededor de un filamento axial, un núcleo de origen proteico que da la forma a la espícula (Schönberg 2001, Uriz *et al.* 2003).

En las últimas décadas, se han producido muchos trabajos sobre esponjas perforadoras dentro del Pacífico Oriental Tropical (POT), la gran mayoría en las costas mexicanas. Se han realizado estudios que determinan la frecuencia de invasión en corales así como tasa de erosión del carbonato (Nava & Carballo 2008), aspectos reproductivos y ciclo de vida de algunas especies (Bautista-Guerrero *et al.* 2010, 2013). Además se han reportado 22 especies de esponjas perforadoras, de las cuales 13 de ellas han sido descritas como nuevas para el grupo (Carballo *et al.* 2008, Cruz-Barraza *et al.* 2011).

Para el POT Centroamericano solo se cuenta con reportes de esponjas perforadoras para Costa Rica y Panamá. Esta se analiza en la siguiente sección.

### **Esponjas perforadoras del POT Centroamericano reportadas en la literatura**

La tabla 1.1 resume la información de estudios realizados en el Pacífico Centroamericano en donde se reportan especies de esponjas perforadoras. Los registros se contraponen a información de su distribución y sirven como preámbulo al trabajo realizado posteriormente.

Tabla 1.1 Especies de esponjas perforadoras reportadas para el POT Centroamericano y su estado actual según la Base de Datos Porífera (Soest et al. 2014).

| Especie                                                    | Lugar   | Publicación                              | Estado | Información de Base de Datos Porífera                                   |
|------------------------------------------------------------|---------|------------------------------------------|--------|-------------------------------------------------------------------------|
| <i>Cliona ensífera</i>                                     | PN      | Foseca & Cortés 1998                     | X      | No es válida para el Oceano Pacífico                                    |
| <i>Cliona viridis</i>                                      | CR / PN | Scott et al. 1988, Fonseca & Cortés 1998 | X      | No es válida para el Oceano Pacífico                                    |
| <i>Cliona lampa</i>                                        | CR / PN | Scott et al. 1988, Fonseca & Cortés 1998 | X      | Aceptada como <i>Pione lampa</i> . No es válida para el Oceano Pacífico |
| <i>Cliona vermífera</i>                                    | CR / PN | Scott et al. 1988, Fonseca & Cortés 1998 | Válido | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Cliona mucronata</i>                                    | PN      | Vega 2012                                | Válido | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Cliona tropicalis</i>                                   | PN      | Vega 2012                                | Válido | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Pione carpenteri</i>                                    | PN      | Vega 2012                                | Válido | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Cliothosa hanckoki</i><br>( <i>C. tylostrongylata</i> ) | CR / PN | Scott et al. 1988, Fonseca & Cortés 1998 | Válido | Aceptada como <i>C. tylostrongylata</i> .<br>Válido para el Pacífico    |
| <i>Thoosa</i> sp.                                          | CR      | van der Hal 2006                         | Válido | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Thoosa mollis</i>                                       | CR / PN | Guzmán 1988, Fonseca & Cortés 1998       | X      | No es válida para el Oceano Pacífico                                    |
| <i>Aka</i> sp.                                             | CR / PN | Fonseca & Cortés 1998                    | ?      | Reportada para Oceano Pacífico                                          |
| <i>Anthosigmella</i> sp.<br>( <i>Cliona</i> sp.)           | CR / PN | Fonseca & Cortés 1998                    | Válido | Aceptada como <i>Cliona</i> y válida para el Oceano Pacífico            |

Terminología

CR: Costa Rica (Isla del Caño)

PN: Panamá

De las nueve especies que se reportan y tres géneros, solo seis especies y dos géneros son válidos para la región. Para Costa Rica se tiene dos especies y dos géneros. Para Panamá son cinco especies y un género. El género *Aka*, en la actualidad *Siphonodictyon*, se clasifica como dudoso, sobre él se ampliará en la discusión.

Se debe tener en cuenta que los trabajos mencionados en la Tabla 1.1 no dejaron especímenes en colecciones o museos que ayuden a determinar la validez del registro, a excepción de una colecta realizada por Jorge Cortés en la Isla del Caño, Pacífico sur de Costa Rica y que pudo ser identificada en este estudio como *Thoosa mismalolli*.

Para el caso de Panamá, Vega (2012) recopiló los registros de esponjas.

## Materiales y Métodos

La recolecta se realizó por medio de buceo autónomo extrayendo esponjas perforadoras que se encontraban en: coral vivo, fragmentos de coral muerto, matriz de

carbonato de calcio del arrecife y conchas de moluscos. Se tomaron datos de la ubicación, profundidad y coloración en vivo mediante fotografía de los especímenes y se recolectaron dos muestras del mismo organismo junto al sustrato en que se hallaba.

De los dos especímenes recolectados uno es preservado en alcohol de 96% para análisis molecular y el otro espécimen en 10% formalina y 90% agua de mar, después de 2 o 3 días se pasó a alcohol de 70% para analizar las características morfológicas (Zea & Weil, 2003).

Para el análisis morfológico, la identificación de los tipos espiculares se realizó a través de microscopía de luz, observando muestras preparadas tomando un trozo de la esponja con un alfiler entomológico y colocándolo sobre un portaobjetos, para posteriormente disolver la materia orgánica con ácido nítrico al 4% ( $\text{HNO}_3$ ) calentando a flama directa y observar las espículas. En total 30 espículas para cada especie fueron medidas a través de la escala en el ocular del microscopio o utilizando las fotografías de microscopía electrónica, con el programa Adobe Fotoshop CS4 que realiza la proporción entre pixeles y micrómetros a partir de la escala de la imagen. Esto permitió dar un rango de valores para diferentes parámetros de cada espícula que se exponen en la descripción.

Para detallar la microestructura que presentan las espículas se utilizó la microscopía electrónica y a través de las imágenes obtenidas. En la preparación de la muestra para microscopía electrónica de barrido se siguió los siguientes pasos:

1. Se extrae la muestra de interés, y se coloca en tubos de ensayo.
2. Se agrega ácido nítrico al 4% y se lleva a hervir a flama directa.
3. Se centrifuga a 1000 rev/min durante 3 minutos para separar las espículas y se decanta el sobrenadante.
4. Se realiza un lavado con agua destilada, centrifugando y decantando posteriormente y otro lavado con agua des-ionizada.

5. Se dejan las espículas en alcohol absoluto de calidad analítica.
6. Se agita y toma una muestra homogénea que se coloca en un cubreobjetos circular ajustado y adherido al porta-muestras del MEB.
7. Se deja secar totalmente la preparación.
8. Se cubre con un baño de oro utilizando una ionizadora específica del MEB.

Las fotografías de los especímenes en vivo, las papilas, las de microscopía de luz y las de microscopía electrónica fueron editadas a través del programa Photo Filtre 7.1.2.

## **Resultados**

### **Orden Hadromerida Topsent, 1894**

#### **Diagnosis**

Demospongiae con megascleras de tipo monoaxónicas, monoactinas o diactinas. Las más comunes son tilostilos o subtilostilos, pero también puede presentar exotilos, estrongiloxas, oxas, o modificaciones de éstas. Las especies en el Orden, son frecuentemente en forma de vaso y formas arborescentes ramificadas. Las megascleras usualmente se encuentran en más de una categoría de tamaño (en estos casos las espículas del ectosoma son más pequeñas que las espículas del coanosoma), y están orientadas en forma perpendicular a la superficie, de tal manera que sobresalen a través del ectosoma y forman una empalizada hispida. Esta estructura puede extenderse desde el centro de la esponja formando un esqueleto radial, o solo en la superficie formando un esqueleto cortical. Las fibras de espongina generalmente están poco desarrolladas, pero están presentes en todas las especies, por lo que los ejemplares poseen una consistencia firme no elástica y son fáciles de desmenuzar. Sin embargo, en algunos géneros (*Caulospongia* y *Suberites*) la espongina es abundante, dando una consistencia más compresible y elástica a las esponjas. Son comunes los colores como el amarillo, el naranja

y el rojo. En algunos casos la coloración puede ser producida por simbioses. Las microscleras pueden ser euásters, esterrásters, espirásters o derivadas como espímulas, microrhabdes, microxas o microstrongilos, pero están ausentes en dos familias (Stylocorylidae y Sollasellidae). La mayoría de los grupos son ovíparos, con huevos que se desarrollan en larvas parenquímulas directamente en el agua marina. La gemación es común en la familia Tethyidae (Hooper & Van Soest 2002b)

## Familia Clionidae d'Orbigny, 1851

### Diagnosis

Esponjas exclusivamente con capacidad perforadora. Las megascleras son principalmente tilostilos, que pueden estar acompañados por oxas o estilos. Las microscleras cuando están presentes, incluyen espirasters, anfiásters, microxas, microrabdes o ráfides. Algunos espirásters presentan espinas con dos o más ramificaciones. Los microrabdes pueden ser lisos o espinados, rectos, curvados o en espiral (Rützler 2002a). Usualmente su escritura era Clionidae pero debido a la homonomía con la familia de moluscos Clionidae el nombre fue enmendado (Bouchet & Rützler 2003).

## *Cliona* Grant, 1826

Especie tipo: *Cliona celata* Grant, 1826.

### Sinonimia

*Cliona* Grant, 1826. *Vioa* Nardo, 1833. *Poterion* Schlegel, 1858. *Raphyrus* Bowerbank, 1862. *Raphiophora* Gray, 1867. *Taguilla* Bowerbank, 1874. *Euryphylla* Duchassaing & Michelotti, 1864. *Euryphylle* Duchassaing & Michelotti, 1864. *Hymeniacidon sensu*

Bowerbank, 1866. *Idomon* Gray, 1867. *Myle* Gray, 1867. *Pronax* Gray, 1867. *Sapline* Gray, 1867. *Osculina* Schmidt, 1868. *Spirastrella sensu* Ridley, 1884. *Papillella* Vosmaer, 1885. *Papillissa* Lendenfeld, 1888. *Anthosigmella* Topsent, 1918. *Rhaphiophora* Laubenfels, 1936. *Delaubenfelsia* Dickinson, 1945. *Bernatia* Rosell & Uriz, 1997. *Cliona* Rützler, 2002.

## Diagnosis

*Cliona* posee tres formas típicas de crecimiento: alfa, beta y gamma. La forma de crecimiento alfa es la más común, y se caracteriza por su modo de vida endolítico salvo por las papilas que son el único contacto con la superficie. Algunas especies se desarrollan hasta la forma beta, por unión externa de las papilas. La fase gamma ocurre cuando la esponja destruye todo el material calcáreo y se convierte en masiva. Las megascleras son tilostilos. Las microscleras son principalmente espirásters, rectos, curvos, retorcidos o en espiral. También pueden poseer microrhabdes espinados, ondulados o rectos, anfiastrosas (derivados de espirásters) y ráfides. Puede tener microstrongilos completamente lisos, en forma de espiral o ligeramente doblados en el centro (Cruz-Barraza 2008).

## *Cliona amplicavata* Rützler, 1974

### Sinonimia

*Cliona amplicavata* Rützler, 1974. Rosell & Uriz, 2002. Carballo *et al.* 2004.

### Material examinado

CIMAR-BS-12: Bahía Salinas, 11°03'16'' N 85°42'46'' O, profundidad: 15 m, 3.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-CU-12: Bahía Culebra, 10°37'24''N - 85°39'13'' O, profundidad: 3 m, 28.VI.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-PL-01, CIMAR-PL-04, CIMAR-PL-06, CIMAR-PL-07: Playa Blanca, 9°42'30''N - 84°40'5'' O, profundidad: 3 m, 11.IV.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-PL-103, CIMAR-PL-102: Playa Blanca, 9°42'30''N - 84°40'5'' O, intermareal, 16.IX.2011, Cristian Pacheco Solano.

### Descripción

La esponja en vivo y preservada es de color ocre. Con papilas circulares de 0,5 mm de diámetro en promedio (fig. 1.2). Se encontró en *Pavona gigantea* viva, y en fragmentos de *Porites lobata*. y *Pocillopora* sp. muerto.

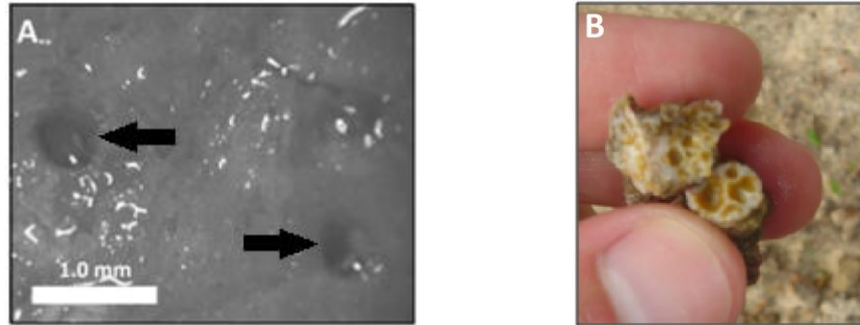


Fig. 1.2 *C. amplicavata*. A) Papilas, B) Coral del género *Pocillopora* donde se aprecian las cámaras perforadas por la esponja y el tejido de esta.

Presenta tres tipos de espículas: (i) Tilostilos, ligeramente curvos de 115 a 282  $\mu\text{m}$  de longitud (Fig. 1.3A, B), y de 1 a 7,5  $\mu\text{m}$  de grosor. Los tilos de 3,5 a 10,5  $\mu\text{m}$  de diámetro, en ocasiones presentan protuberancias apicales (Fig. 1.3E). (ii) Estilos de 80 a 156  $\mu\text{m}$  de longitud, y de 2,5 y 4,5  $\mu\text{m}$  de grosor (Fig. 1.3C). (iii) ráfides, delgados y ligeramente curvados de 65 a 140  $\mu\text{m}$  de longitud, y de 1 a 2  $\mu\text{m}$  de grosor (Fig. 1.3D).

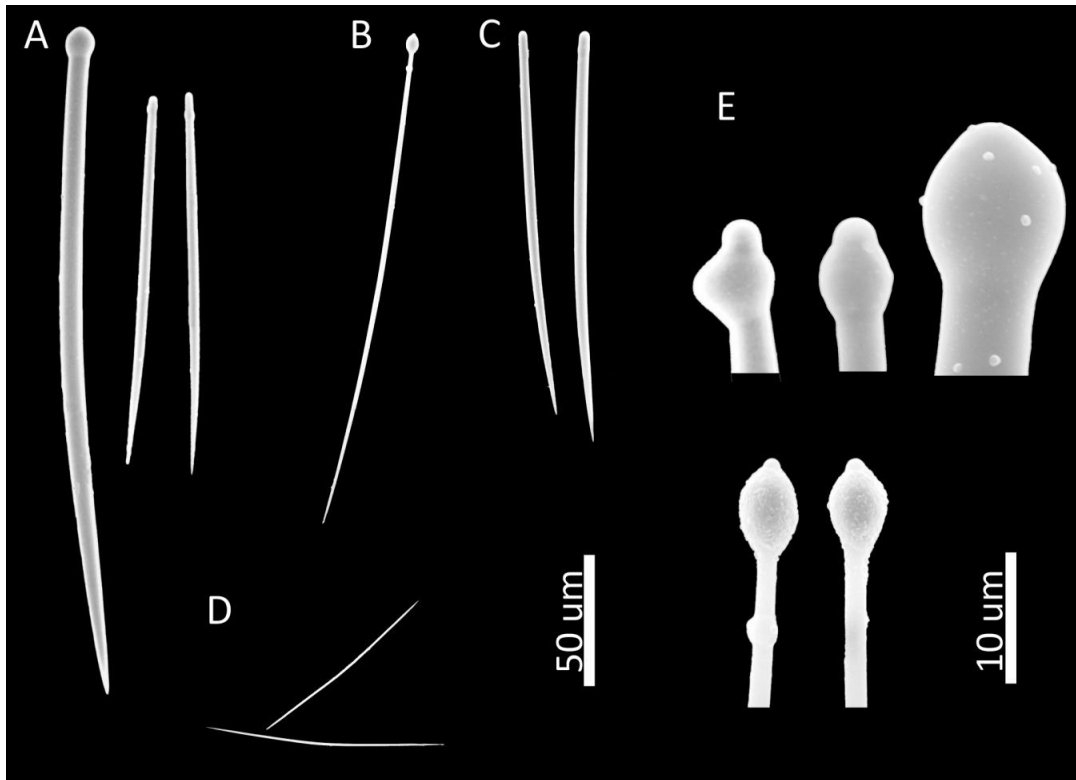


Fig. 1.3. Espículas de *C. amplicavata* al MEB. A) Tilostilos, B) Tilostilo inmaduro, C) Estilos, D) Ráfides, E) Variación morfológica de tilos.

Las cámaras excavadas por la esponja son de forma oval, las de mayor tamaño de 4,6 mm de largo por 3,6 mm de ancho. Las cámaras se juntan a través de ductos de unión de 0,4 a 1,4 mm, de grosor aunque en ocasiones se pueden fusionar. Las marcas dejadas en el sustrato son áreas poligonales de 36 y 90  $\mu\text{m}$  de diámetro menor y mayor respectivamente.

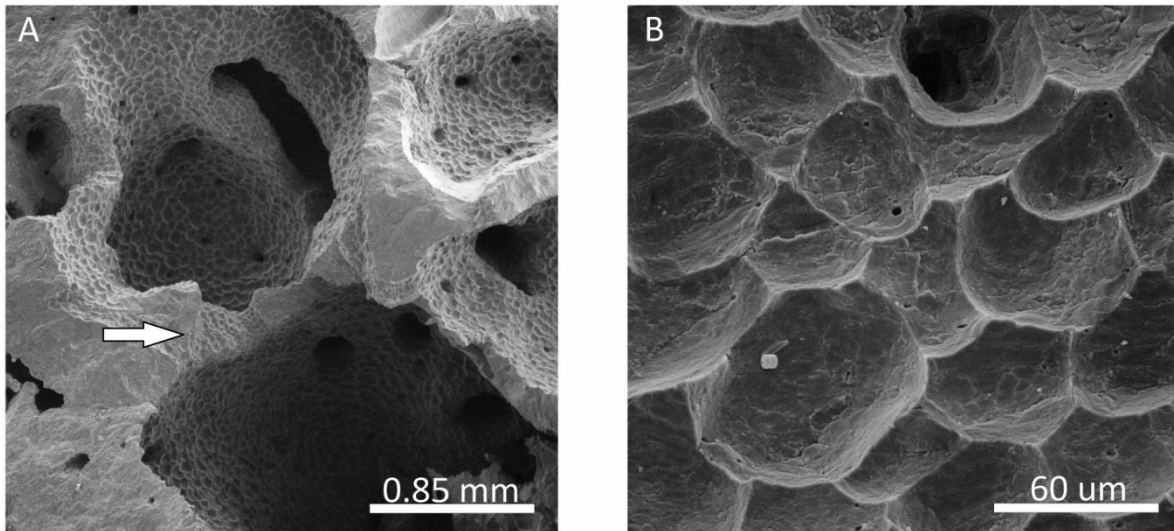


Fig. 1.4. Imagen de las cámaras excavadas por *C. amplicavata* al MEB. A) Cámaras y ducto de unión entre ellas (flecha), B) Marcas hechas por la esponja en la pared del coral.

#### Distribución y hábitat

*Cliona amplicavata* se encontró originalmente en el Caribe (Rützler 1974), y posteriormente fue citada en el Mar Mediterráneo, donde llega a los 100 m de profundidad (Rosell & Uriz 2002). En el Pacífico se encuentra desde el Golfo de California hasta el estado de Oaxaca al Sur de México (Carballo *et al.* 2004), desde los 2 a los 18 m de profundidad.

En este estudio, fue localizada en San Juan del Sur, Nicaragua y para Costa Rica en Bahía Culebra y Bahía Salinas (Pacífico Norte), Playa Blanca (Península de Nicoya) y Playa Blanca (Pacífico Central) a una profundidad entre 3 a 15 m.



Fig. 1.5. Distribución mundial de *C. amplicavata*.

#### Comentarios

Este es el primer registro en Nicaragua y Costa Rica, y se amplía el ámbito de distribución de la especie al sur del Pacífico Tropical Oriental.

Algunas de las variaciones observadas en los tilostilos son la reducción de los tilos, en estos tilostilos la forma se asemeja a estilos. Además los tilostilos inmaduros se caracterizan por presentar el tilo granulado como se muestra en las imágenes.

#### *Cliona californiana* Laubenfels, 1932

##### Sinonimia

*Cliona celata* var. *californiana* Laubenfels, 1932. *Pseudosuberites pseudos* Dickinson, 1945. Hofknecht, 1978. *Cliona celata* Green & Gómez, 1986. *Cliona californiana* Carballo et al. 2004

#### Material revisado

CIMAR-BS-22, CIMAR-BS-24: Bahía Salinas, 11°03.16' N - 85°42.46' O, profundidad: entre 10 y 21 m, 3.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-CU-11. Bahía Culebra, 10°37'24'' N - 85°39'13'' O, profundidad: 8 m, 28.VI.2011, Cristian Pacheco Solano.

#### Descripción

La esponja en vivo tiene una coloración ocre, al preservarse se torna amarillo pálido o blanco. Las papilas sobresalen notablemente del sustrato incluso una vez preservada. Estas tienen forma circular u oval, con un diámetro de 0,8 a 2,52 mm, y no se fusionan (fig. 6A). Los especímenes estudiados se encontraron en restos de coral muerto de los géneros: *Pocillopora* sp. y *Pavona* sp.

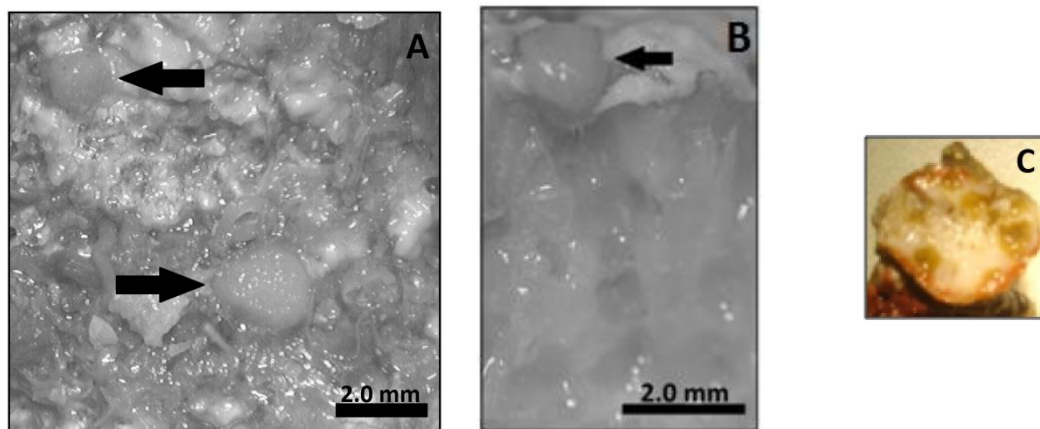


Fig. 1.6. Fotografías de *C. californiana* A) Papilas (flecha) en matriz arrecifal, B) corte transversal mostrando la papila (flecha), C) perforaciones en *Pocillopora* sp. con el tejido de la esponja, se aprecia la coloración en vivo.

La esponja presenta: (i) tilostilos, los cuales pueden ser rectos o curvados en su tercio superior de 125 a 272  $\mu\text{m}$  de longitud, y de 0,8 a 8  $\mu\text{m}$  de grosor. Los diámetros de los tilos se encuentran en un rango de 6 a 11,5  $\mu\text{m}$  (Fig. 1.7A).

(ii) Subtilostilos, los cuales son estilos con tilos desplazados hacia abajo o tilos casi imperceptibles a modo de estilos (Fig. 1.7B), con longitudes de 118 a 205  $\mu\text{m}$ , y de 3,8 a 8  $\mu\text{m}$  de grosor, y tilos de 4,5 a 9  $\mu\text{m}$  de diámetro. En ocasiones el diámetro de la cabeza solo superaba al grosor de la espícula por menos de 0,5  $\mu\text{m}$  o simplemente se notaba un leve engrosamiento.

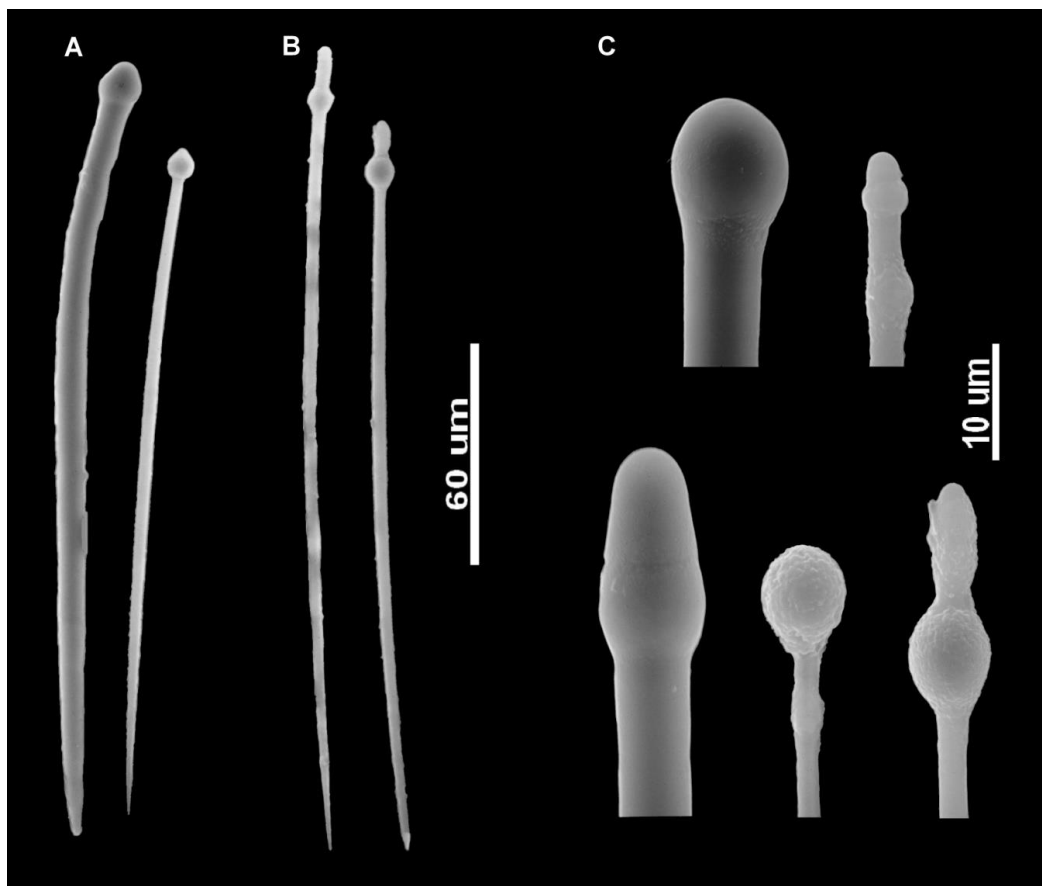


Fig. 1.7. Espículas *C. californiana*. al MEB. A) Tilostilos, B) Subtilostilos, C) Tilos.

*Cliona californiana* forma galerías con una amplitud de 0,86 a 1,06 mm. La fusión de cámaras que conforman la galería hace que la perforación no tenga una forma definida. Las marcas de la perforación son áreas poligonales que tienen rangos de 30 a 66  $\mu\text{m}$ .

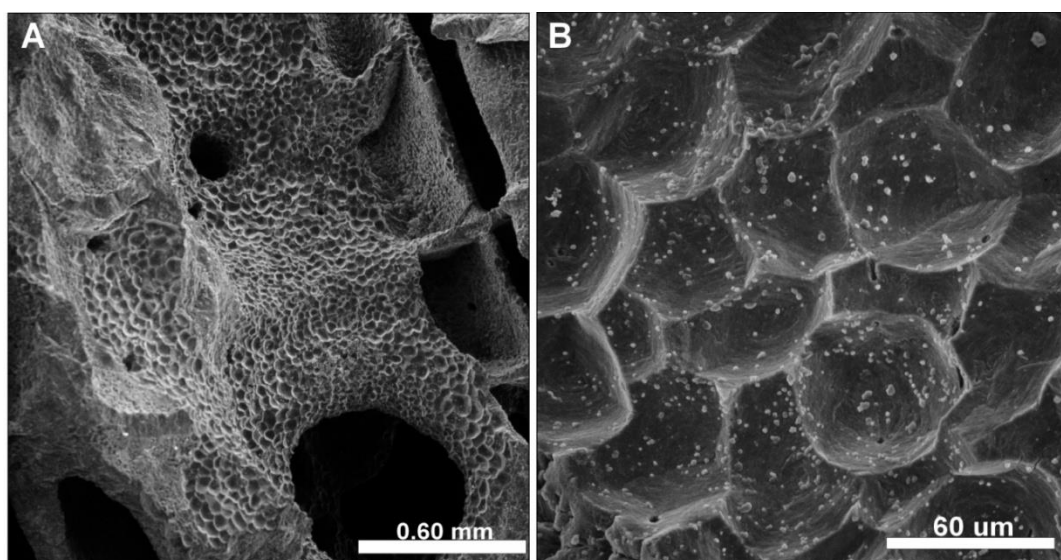


Fig. 1.8. Imagen de la perforación causada por *C. californiana* al MEB. A) Cámaras fusionadas, B) Marcas de perforación en las paredes del coral.

#### Distribución y hábitat

La especie se encuentra en California, E.U.A., localidad tipo (Laubenfels 1932) y en el Golfo de California, México, donde también se ha reportado como *Pseudosuberites pseudos* (Dickinson 1945, Hofknecht 1978), y como *Cliona celata* (Green & Gómez 1986). Posteriormente ha sido encontrada en el Pacífico Mexicano a profundidades desde 1 a 53 m (Carballo *et al.* 2004).

En este estudio se reporta por primera vez para Nicaragua en San Juan del Sur y Costa Rica hallada en las bahías Culebra y Salinas (norte de Costa Rica), Península de Nicoya, y Pacífico Central perforando coral de género *Porites lobata*, entre los 8 y los 21 m de profundidad.



Fig. 1.9. Distribución geográfica de *C. californiana*.

#### Comentarios

La variación en los tilostilos de los ejemplares de Costa Rica es característica de *Cliona californiana*. Los tamaños espiculares también concuerda muy bien con Laubenfels (1932) y Carballo *et al.* (2008a).

Este es el primer registro de la especie para Nicaragua y Costa Rica y amplía su distribución hacia el sur del Pacífico Tropical Oriental.

*Cliona euryphylla* Topsent, 1887

Sinonimia

*Cliona euryphylle* Topsent, 1887. *Cliona euryphylla* Laubenfels, 1954. Bergquist, 1968. Carballo *et al.* 2004.

#### Material examinado

CIMAR-BS-16, CIMAR-BS-20: Bahía Salinas, 11°03.16' N - 85°42.46' O, profundidad: 20 m, 8.XII.2010, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-PL-04: Playa Blanca, 9°42'30''N - 84°40'5'' O, profundidad: 4 m, 11.IV.2011, Cristian Pacheco Solano. MZ-UCR-180. Isla del Caño, 8°42'52''N - 83°52'26'' O, profundidad: 4 m, 1984, Jorge Cortés Núñez.

#### Descripción

En vivo tiene una coloración naranja y preservada se torna blanca. Las papilas se aprecian a simple vista; se caracterizan por su forma irregular y tienen un diámetro promedio de 3 mm, además sobresalen del coral (Fig.1.10). Los especímenes analizados se encontraron en *Pavona* sp. y *Porites lobata* muerto, y en algunas muestras, también apareció *Cliona mucronata* (descrita más adelante).

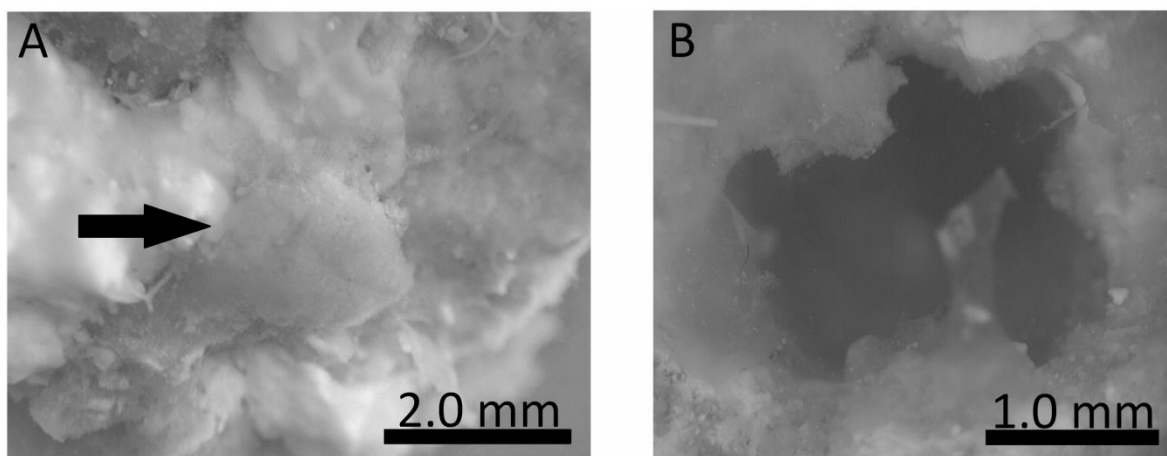


Fig. 1.10. A) Papila que se eleva sobre el alga calcárea que recubre superficialmente el coral, B) La papila fue removida para mostrar la perforación en el coral.

La especie presenta meglascleras y microscleras. El primer grupo consiste mayoritariamente de (i) tilostilos de 120  $\mu$ m a 300  $\mu$ m de longitud y de 5  $\mu$ m a 7,5  $\mu$ m de

grosor. El tilo mide de 6 a 10  $\mu\text{m}$  de diámetro y puede presentar variaciones morfológicas (Fig.1.10.A).

Las microscleras, presentes son las (ii) espirasters que son cortas y robustas con longitudes de 12  $\mu\text{m}$  promedio, otras microscleras son largas y delgadas con longitud promedio de 24  $\mu\text{m}$ , ambos grupos presentan espinas distribuidas a lo largo del tallo (Fig.1.11.B).

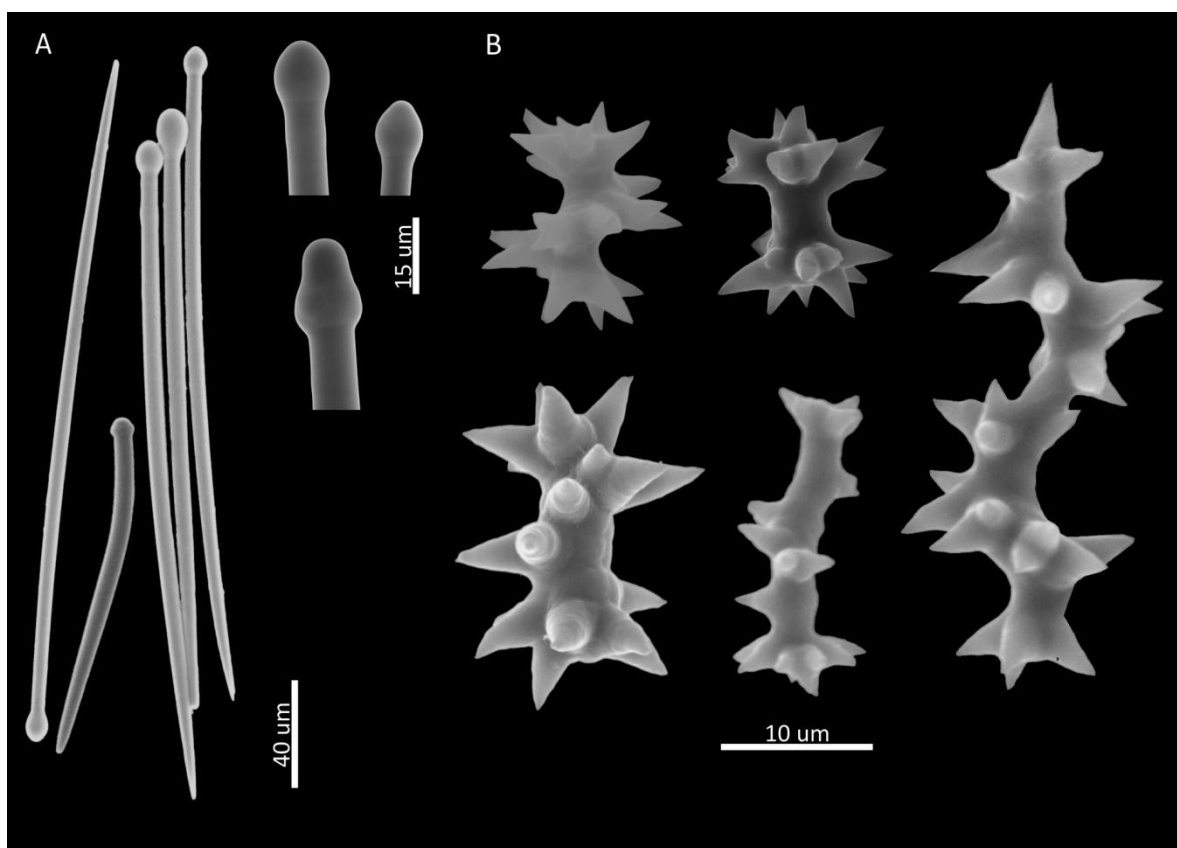


Fig. 1.11. Espículas de *C. euryphylla* al MEB, A) Tilostilos y la variación morfológica de los tilos, B) Espiraster cortos y largo.

La esponja excava galerías ovoides que van desde 1 a 2,5 mm de diámetro, posiblemente hay fusión de cámaras aunque no fue claro en los especímenes observados. Las marcas de erosión en las paredes de la cámara tienen diámetro de 28,2 a 70,5  $\mu\text{m}$ .

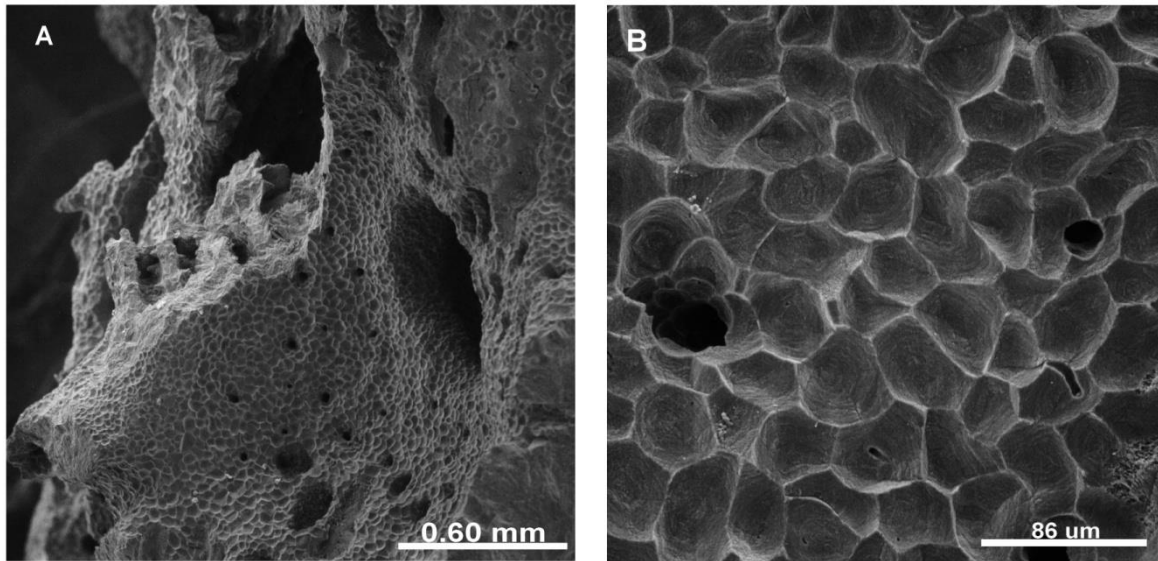


Fig. 1.12. A) Cámaras de perforación, B) marcas dejadas en las paredes de las cámaras.

#### Distribución:

La especie fue originalmente descrita del Golfo de México (Topsent 1888), posteriormente fue citada en Nueva Zelanda (Bergquist 1968). En el año 1954 es citada por primera vez en el Pacífico Central (Laubenfels 1954). Carballo *et al.* (2008a) reportan la especie en el Pacífico mexicano a profundidades entre 1 y 13 m.

En Costa Rica, *C. euryphylla* se encontró en Bahía Salinas (Pacífico Norte), Pacífico Central y Pacífico sur identificada en muestras del Museo provenientes de la Isla del Caño. El ámbito de profundidades esta entre los 4 y 20 m.



Fig. 1.13. Distribución geográfica de *C. euryphylla*.

#### Comentarios

Este es primer registro de la especie en el país y amplía el ámbito de distribución de la especie hacia el sur del Pacífico Tropical Oriental.

#### *Cliona microstrongylata* Carballo & Cruz-Barraza, 2005

##### Sinonimia

*Cliona microstrongylata* Carballo & Cruz-Barraza, 2005

##### Material examinado

ICMYL-Cmi.31.PL: Playa Blanca, Punta Leona, 9°42'30''N - 84°40'5'' O, profundidad: < 3 m, 23.XII.2012, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Cmi.37.PL: Playa Blanca, Punta Leona,

9°42'30''N - 84°40'5'' O, profundidad: < 3 m, 23.XII.2012, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Cmi.45.IB: Isla Bolaños, Bahía Salinas, 11°03.16' N - 85°42.46' O, profundidad: 8 m, 4.XII.2012, Cristian Pacheco Solano.

### Descripción

La coloración del tejido de la esponja en vivo es ocre y naranja. Los especímenes se encontraron en fragmentos muertos de coral del género *Pocillopora* y en restos de conchas de moluscos muertos (Fig. 1.14).

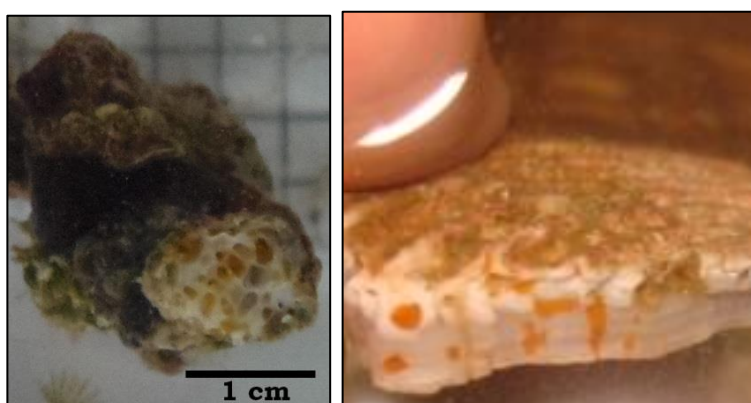


Fig. 1.14. Coloración en vivo de *C. microstrongylata* en fragmento de corales pocilopóridos.

La espiculación consiste en: (i) tilostilos ligeramente curvados (fig. 1.15.A) con un rango de longitud que va desde los 122  $\mu\text{m}$  hasta los 284  $\mu\text{m}$ , un grosor entre 2,2  $\mu\text{m}$  a los 9,7  $\mu\text{m}$  y tilos con diámetro entre 5,7  $\mu\text{m}$  a los 12  $\mu\text{m}$ . (ii) Microstrongilos (Fig. 1.15.B) que se caracterizan por su forma arriñonada en la mayoría de los casos, algunos pudiendo verse más alargados en forma de C; estos tiene una longitud entre los 14,9  $\mu\text{m}$  a los 29,7  $\mu\text{m}$  y un grosor entre los 2,6  $\mu\text{m}$  a los 16,6  $\mu\text{m}$ . Este último tipo espicular le da el nombre a la especie.

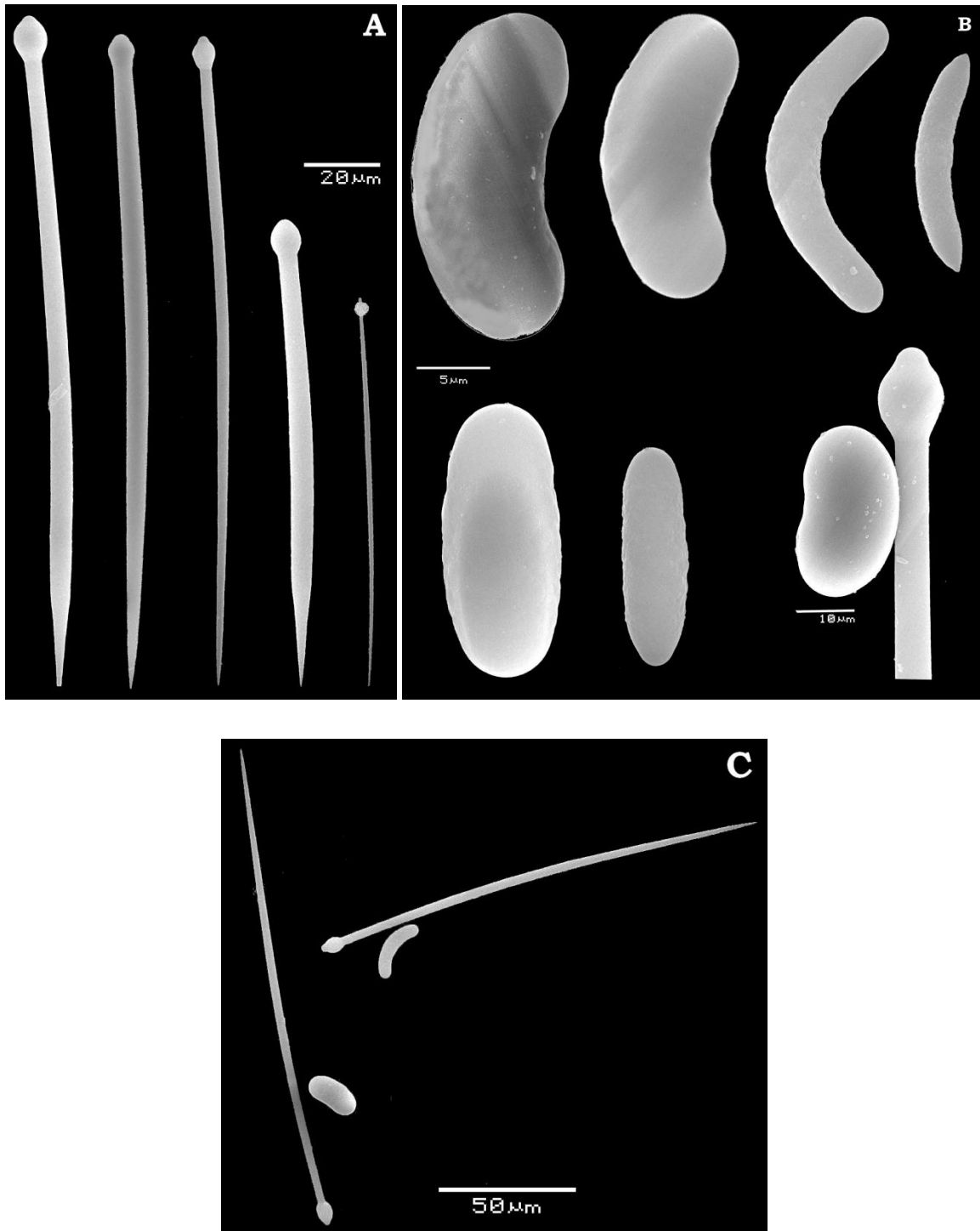


Fig. 1.15. A) Tilostilos, B) Microstrongilos, C) Ambos tipos espiculares de *C. microstrongilata*.

## Distribución

La especie fue descrita en el Mar de Cortés (Carballo & Cruz-Barraza 2005) y este es el primer registro fuera de esta zona, lo que implica la expansión de la distribución de la especie. Para Costa Rica, la especie se encontró en el Pacífico Norte y Central a profundidades desde los ocho a los tres metros.



Fig. 1.16. Distribución mundial de *C. microstrongylata*.

## Comentarios

Se reporta por primera vez a esta esponja perforando en coral de género *Pocillopora* y con una coloración ocre además de la naranja ya reportada. No fue posible realizar mediciones de papilas o descripción de las cámaras de perforación por falta de material.

*Cliona mucronata* Sollas, 1878.

Será desarrollada en el capítulo 2.

*Cliona pocillopora* Bautista-Guerrero, Carballo, Cruz-Barraza & Nava 2006.

Material examinado

CIMAR-ICo1, CIMAR-ICo-12. Parque Nacional Isla del Coco, 5°31'41''N - 87°03'26'' O, profundidad: 14 m, 4-11-2011, Jeffrey Sibaja Cordero.

Descripción

No se pudo observar la coloración en vivo, una vez preservada, la coloración del tejido es blanca o parda. Las papilas de forma circular, de 600 µm de diámetro en promedio, están dispersas por lo que son difíciles de observar. No se observaron papilas fusionadas. Los especímenes analizados fueron encontrados en coral vivo del género *Pavona*.

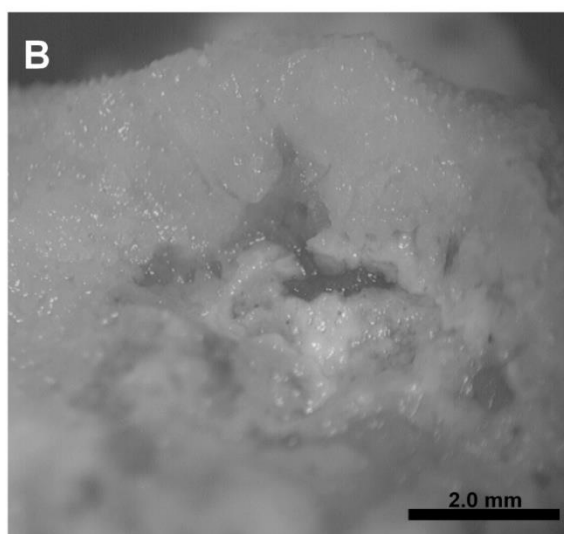
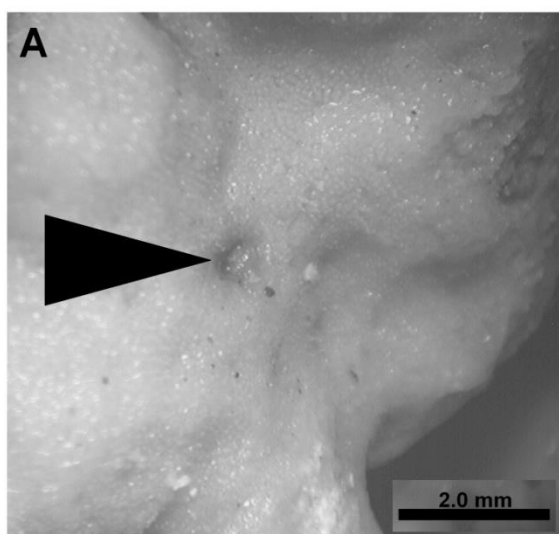


Fig. 1.17. Fotos de *C. pocillopora*. A) Papilas (flecha), B) Perforaciones en el coral con tejido de la esponja.

Las megascleras son tilostilos con formas muy variadas en donde los tilos se pueden ubicar en el extremo, o estar desplazados hacia la mitad de la espícula. La longitud de estos, varía entre 82 a 216  $\mu\text{m}$  y el grosor entre 1,5 a 7  $\mu\text{m}$  con diámetro de tilos entre los 3 y 9  $\mu\text{m}$ . En algunos casos la diferencia entre el diámetro de la cabeza y el grosor de la espícula es pequeña y tiende a confundirse con un estilo.

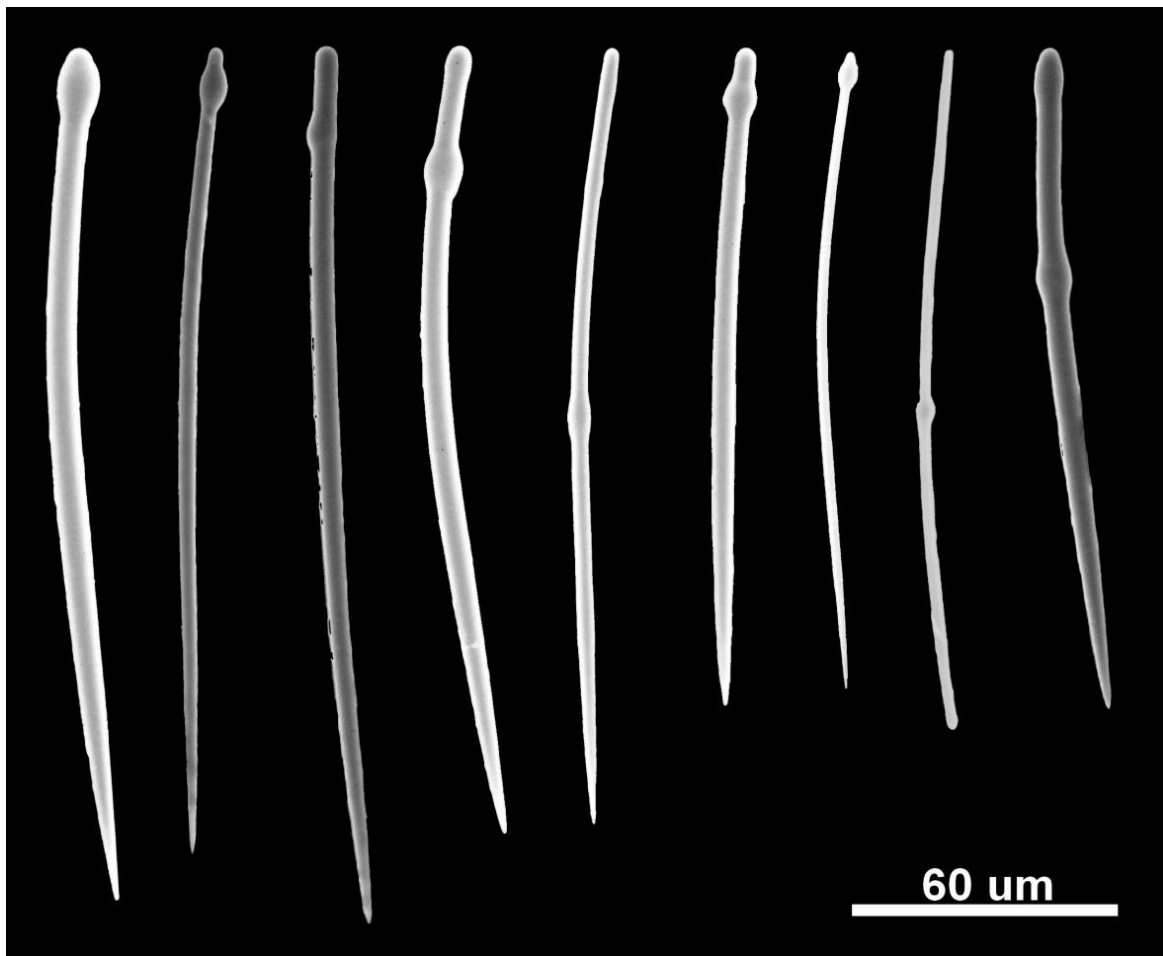


Fig. 1.18. *C. pocillopora* al MEB. Tilostilos en donde se aprecia las diferentes posiciones del tilo a lo largo de la espícula.

Las cámaras tienen un diámetro promedio de 860  $\mu\text{m}$  y tienen ductos de unión de 152  $\mu\text{m}$  promedio de grosor. No se observó fusión de cámaras. Las perforaciones son poligonales con diámetros entre 15 y 66  $\mu\text{m}$ .

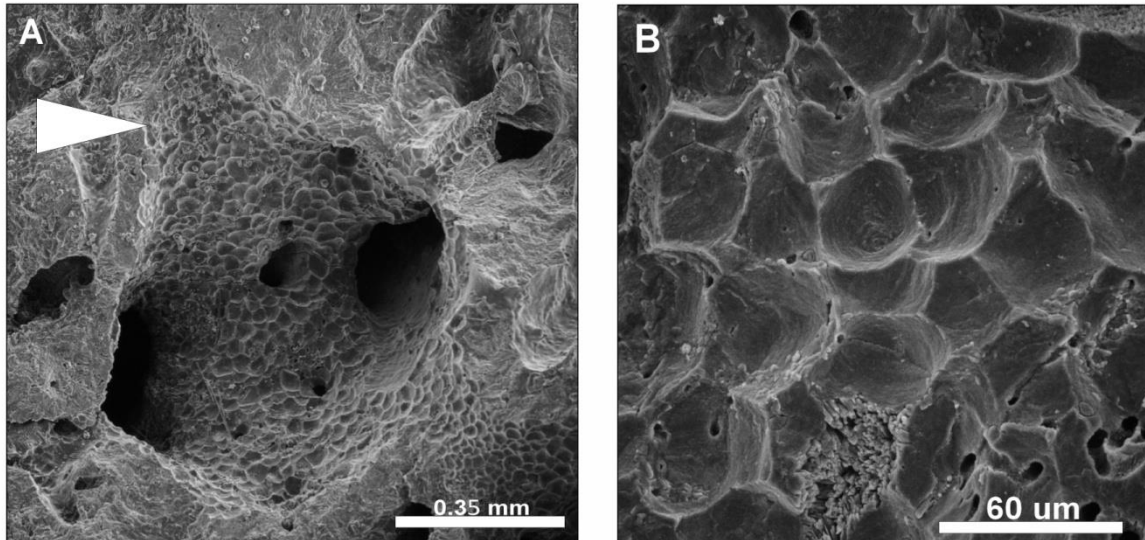


Fig. 1.19. Imágenes de las perforaciones de *C. pocillopora* al MEB. A. Cámara y ductos de unión con otras cámaras; B. marcas dejadas por la esponja durante el proceso de excavación.

### Distribución

La especie fue descrita originalmente del Pacífico mexicano (Bautista-Guerrero *et al.* 2006) y aquí se reporta para Bahía Culebra en el Pacífico Norte, Península de Nicoya y el Parque Nacional Isla del Coco, extendiendo su área de distribución hasta Centroamérica y abarcando una isla oceánica en el Pacífico costarricense.



Fig. 1.20. Distribución geográfica de *C. pocillopora*.

#### Comentarios

Los especímenes descrito aquí fueron recolectados accidentalmente durante un crucero de investigación a la Isla del Coco y se pudo identificar en este trabajo. Estos son los primeros registros en el país y amplía la distribución hacia el sur del Pacífico Tropical Oriental.

*Cliona tropicalis* Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011.

#### Material examinado

ICMYL-Ctr.133.FS: Four Seasons, Bahía Culebra, 10°36'37''N - 85°41'11'' O, profundidad: 3 m, 19.XII.2012. Cristian Pacheco Solano

#### Descripción

Esponja de coloración amarilla encontrada en fragmentos de coral muerto del género *Pocillopora*. El material encontrado fue escaso y no fue posible obtener fotografías al microscopio electrónico de barrido para las espículas o para las cámaras de perforación ni realizar mediciones que permitieran establecer rangos confiables para las espículas. Sin embargo, el registro fue confirmado por la autoridad de esta especie.



Fig. 1.21. Coloración de *C. tropicalis* en vivo.

#### Distribución

La especie descrita por Cuz-Barraza et al. (2011) tenía una distribución a lo largo de las costas mexicanas, desde Baja California hasta Oaxaca e incluso el archipiélago de Revillagigedo y las Islas Marías. Ahora es encontrada en el Pacífico Norte de Costa Rica a una profundidad aproximada de 3 m, ampliando su distribución hacia el sur.



Fig. 1.22. Distribución mundial de *C. tropicalis*.

### *Cliona vermifera* Hancock, 1867.

#### Sinonimia

*Cliona vermifera* Hancock, 1867. *Cliona vermifera* Topsent 1889. *Cliona vermifera* Hechtel 1965. *Bernatia vermifera* Rosell & Uriz, 1997. *Cliona vermifera* Carballo et al. 2004

#### Material examinado

CIMAR-CU-06, CIMAR-CU-8.1, CIMAR-CU-09(I), CIMAR-CU-09(IIa) CIMAR-CU-09(V): Bahía Culebra, 10°37'24''N - 85°39'13'' O, profundidad: 10m, 21.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-CU-122, CIMAR-CU-123, CIMAR-CU-200, CIMAR-CU-201: Bahía Culebra, 10°37'24''N - 85°39'13'' O, profundidad: 10 m, 28.VI.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-IC-13, CIMAR-IC-21, CIMAR-IC-21.1, CIMAR-IC-34, CIMAR-IC-34.1: Isla del Caño, 8°42'52''N - 83°52'26'' O, profundidad: 5 m, 12.II.2011, Cristian Pacheco Solano.

#### Descripción

La especie presenta en vivo una coloración naranja, que al preservarla se torna parda o amarilla. Las papilas poseen una diámetro entre 0,6 y 1,2 mm. Los especímenes analizados fueron encontrados en coral muerto del género *Pocillopora* y *Porites*.

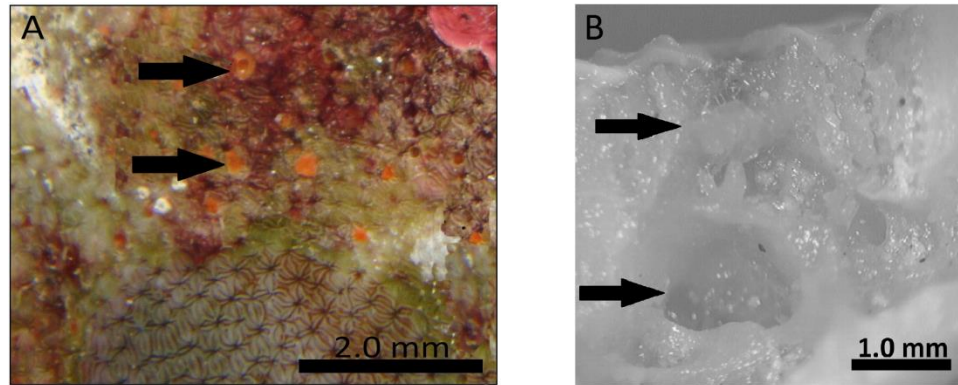


Fig. 1.23. A) Papilas de *C. vermifera* en vivo, B) vista transversal de la papila en la parte superior y la cámara perforada en la estructura coralina.

La espiculación está conformada por: (i) tilostilos con longitudes entre 100 a 294  $\mu\text{m}$ . En la parte más gruesa de los tilostilos, los rangos son desde 1 hasta 9,5  $\mu\text{m}$  y las cabezas tienen diámetros entre los 3 y los 13,5  $\mu\text{m}$ . (ii) Microstrongilos sinuosos con rangos de longitudes entre los 25 y los 64,5  $\mu\text{m}$  y un grosor entre los 1,5 y 6  $\mu\text{m}$ .

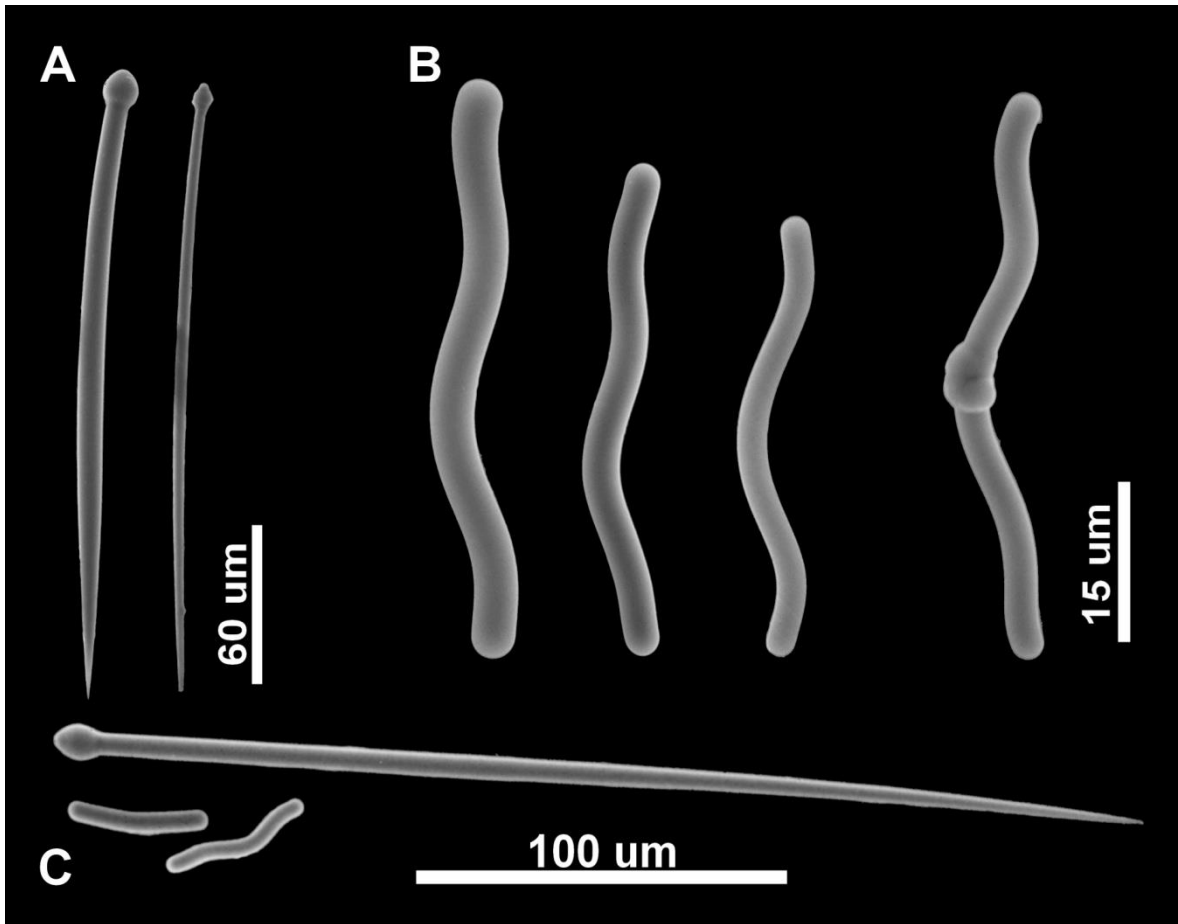


Fig. 1.24. Imagen de las espículas de *C. vermifera* al MEB. A) Tilostilo, B) Microstrongilos sinuosos y al margen derecho uno con malformación, C) Tilostilos y microstrongilos en la misma escala.

Las cámaras poseen una forma ovalada o irregular con amplitudes entre 0,8 y 3,04 mm, y pueden fusionarse. El ducto de unión tiene un grosor entre los 0,2 a los 0,8 mm. Las marcas producidas por la esponja son poligonales y miden entre 35,6 a 52.8 µm.

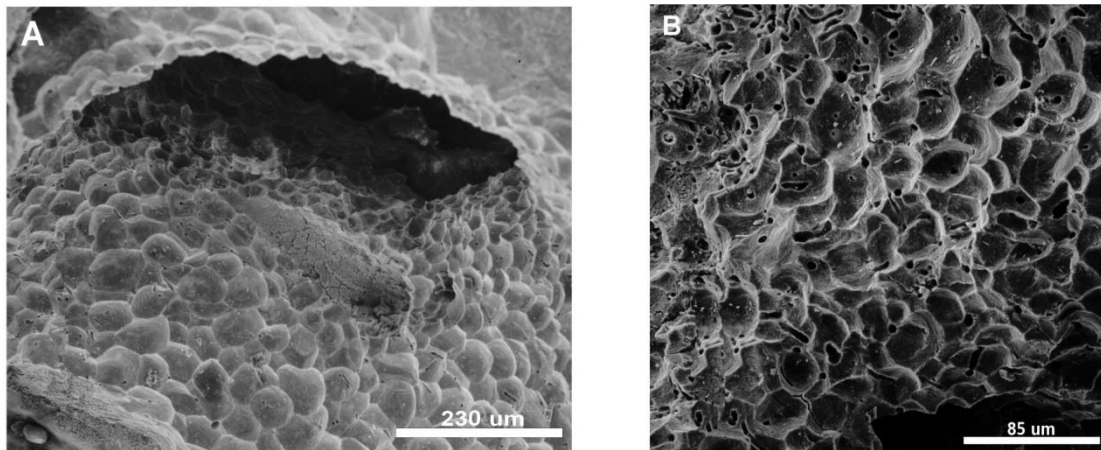


Fig. 1.25. Imagen de las perforaciones producidas por *C. vermifera* al MEB. A) Cámara de perforación, B) Marcas de perforación.

#### Distribución

*C. vermifera* es una especie cosmopolita encontrada en el Mediterráneo y océanos: Atlántico, Pacífico e Indico, y en el Mar Caribe (Carballo et al. 2008). En el Pacífico Tropical Oriental, el punto más cercano a Costa Rica en donde se cita es la costa Sur de México.

En Costa Rica, las muestras se obtuvieron a profundidades de 10 m en Bahía Culebra, Pacífico Norte e Isla del Caño, Pacífico Sur. Se encuentra perforando coral del género *Pocillopora* y en matriz arrecifal.



Fig. 1.26. Distribución mundial de *C. vermifera*.

#### Comentarios

Las malformaciones, como la presentada en Fig.1.24.B, se distinguen debido a las formas poco comunes o únicas que se observan en las espículas. Este tema se abarcará en la discusión.

*Cliona vermifera* fue reportada por primera vez para la Isla del Caño por Guzmán (1988) y por Scott (1988). En este trabajo se vuelve a encontrar para la misma localidad y se agrega Bahía Culebra en el Pacífico Norte. Esta es, junto con *C. mucronata* la esponja más recurrente en los sitios muestreados.

Es notable la variedad que hay entre especímenes donde el número de microstrongilos sinuosos es más abundante en unos especímenes que en otros (Fig.1.27). La Figura 1.27A solo tiene 9 microstrongilos sinuosos mientras que la Figura 1.27B posee

una cantidad superior, en total 88, sin embargo se tuvo el cuidado de analizar una cantidad de tejido similar en las dos. Los especímenes con las dos diferencias fueron encontrados en todos los sitios muestreados.

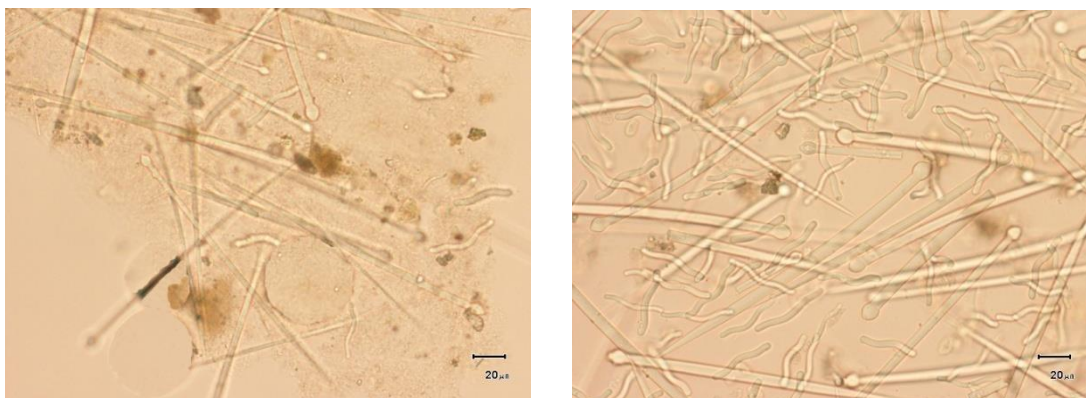


Fig. 1.27. Imagen de microscopía de luz para dos especímenes de *C. vermífera*. A) Se contabilizó 9 microstrongilos sinuosos, mientras que B) tiene 88 microstrongilos sinuoso.

### *Cliothesa* Topsent, 1905

Especie tipo: *Thoosa hancocki* Topsent, 1888

Sinonimia

*Cliothesa* Topsent, 1905. *Thoosa* sensu Topsent, 1888.

Diagnosis

Esponja perforadora con tilostilos largos y generalmente dos tipos de anfiasters como microscleras: ramificados y nodulosos. Los primeros hallados en las cámaras y los segundos en las papilas. Los anfiaster nodulosos pueden estar ausentes en algunas especies. Por otro lado, un tercer tipo, diplasters muy pequeños han sido reportados en las papilas (Rützler, 2002a).

*Cliothosa tylostrongylata* Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero, Nava  
2011

Material examinado

ICMYL-Cty.59.IT, ICMYL-Cty.60.IT, ICMYL-Cty.61.IT, ICMYL-Cty.62.IT, ICMYL-Cty.63.IT: Isla Taboga, Golfo de Panamá, 8°48'06''N - 79°33'19'' O, profundidad: > 1 m, 15.I.2012, Cristian Pacheco. ICMYL-Cty.125.FS, ICMYL-Cty.130.FS: Playa Blanca, Four Seasons, 10°36'37''N - 85°41'11'' O, profundidad: 3 m, 15.I.2012, Cristian Pacheco.

Descripción

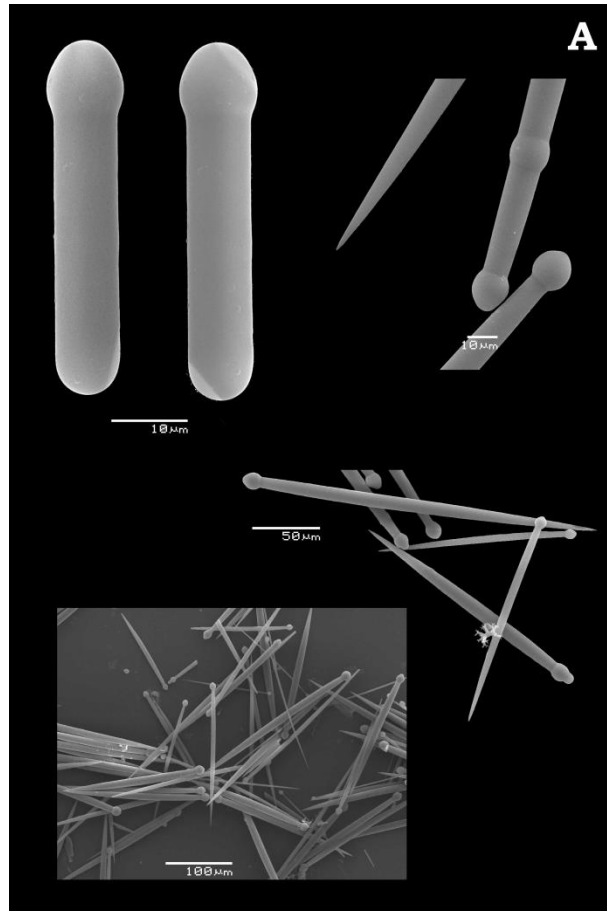
La coloración de la esponja en vivo y en el interior de la cámara es amarilla, los especímenes recolectados se encontraban en coral del género *Pocillopora*.



Fig. 1.28. Coloración en vivo de *Cliothosa tylostrongylata*.

La espiculación que presenta incluye megascleras de dos tipo: (i) tilostrongilos que son rectos con longitud aproximada a los 46  $\mu\text{m}$ , grosor de 8  $\mu\text{m}$  y tilo de 10  $\mu\text{m}$ ; (ii) Tilostilos rectos que poseen una longitud entre 140  $\mu\text{m}$  y 276  $\mu\text{m}$ , un grosor entre los 6,8  $\mu\text{m}$  y los 12,4  $\mu\text{m}$  y tilos entre los 10,2  $\mu\text{m}$  y los 14  $\mu\text{m}$ . Las microscleras son de tipo: (iii) anfiaster ramificados, tienen actinas alargadas y delgadas que en algunos casos se dividen en las puntas, tienen longitud entre los 7 y 16  $\mu\text{m}$  y grosor aproximado a los 3  $\mu\text{m}$ , las

actinas pueden prolongarse una longitud de 5,5 a 7,9  $\mu\text{m}$ . (iv) Anfiaster nodulosos se distinguen por su textura más robusta, con actinas pequeñas y más gruesas en comparación con las anteriores, tienen longitud entre los 10 a 12  $\mu\text{m}$  y grosor entre 2 y 4  $\mu\text{m}$ .



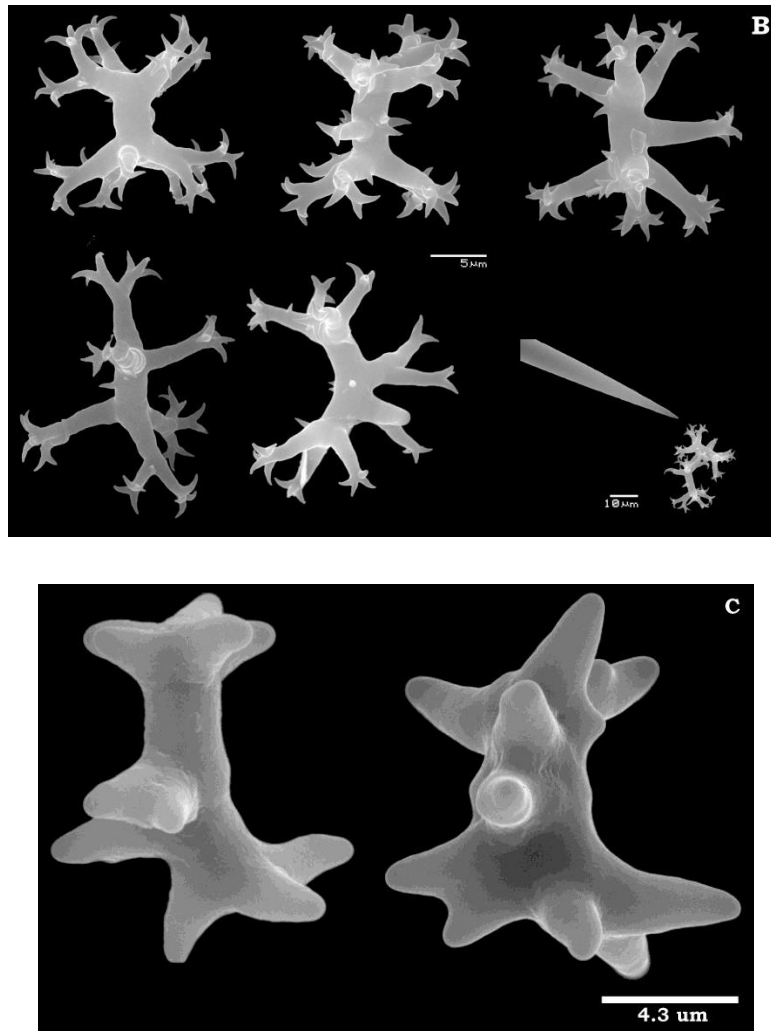


Fig. 1.29. Espículas de *C. tylostrongylata* A) Tilostrongilos y tilostilos, B) Anfiaster ramificados, C) Anfiaster nodulosos.

#### Distribución

Los especímenes fueron hallados en el Pacífico norte de Costa Rica y en el Golfo de Panamá, a profundidades menores a 3 m. Hasta este reporte, solo se había encontrado a lo largo de la costa mexicana.



Fig. 1.30. Distribución mundial de *C. tylostrongylata*.

#### Comentario

Este registro amplía el rango de distribución de la especie hacia el sur del POT.

*Pione* Gray, 1867

Especie tipo: *Cliona northumbrica* Hancock 1849.

#### Sinonimia

*Pione* Gray, 1867. *Archaeoclina* Czerniavsky, 1878. *Gapoda* Laubenfels, 1936. *Pione* Rützler, 2002. *Pione* Carballo *et al.* 2004.

## Diagnosis

Esponja perforadora con formas de crecimiento alfa o beta. Las megascleras son tilostilos acompañados por microscleras, microxas microespinadas, raramente lisas y por microráfides microespinados. Los microráfides son normalmente rectos u ondulados pero también pueden ser centrotilotes. Las microxas no tienen una localización u orientación particular en el cuerpo de la esponja (Rützler 2002a).

## *Pione cf. carpenteri* (Hancock, 1867)

### Sinonimia

*Cliona carpenteri* Hancock, 1867. *Cliona bacillifera* Carter, 1887. *Pione carpenteri* Rosell & Uriz, 1997. *Pione carpenteri* Carballo *et al.* 2004.

### Material examinado

CIMAR-Cu-19.22: Bahía Culebra, 10°37'24''N - 85°39'13'' O, profundidad: 3 m, 21.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-IC-10, CIMAR-IC-14: Isla del Caño, 8°42'52''N - 83°52'26'' O, profundidad: 5 m, 12.II.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-PL-101: Playa Blanca, 9°42'30''N - 84°40'5'' O, profundidad: 2 m, 16.IX.2011, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Pca.65.E: Playa Esmeralda, 10°35'27''N - 85°40'04'' O, profundidad: 3.XII.2012, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Pca.83.R, ICMYL-Pca.86.R, ICMYL-Pca.92.R, ICMYL-Pca.98.R, ICMYL-Pca.99.R, ICMYL-Pca.103.R: Playa Blanca, Riu, 10°32'01''N - 85°45'43'' O, Profundidad: 3 m, 20.XII.2012, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Pca.126.FS: Playa Blanca, Four Seasons, 10°36'37''N - 85°41'11'' O, profundidad: 3 m, 20.XII.2012, Cristian Pacheco Solano. ICMYL-Pca.137.IT: Isla Taboga, Golfo de Panamá, 8°48'06''N - 79°33'19'' O, profundidad: 1 m, 13.I.2012, Cristian Pacheco Solano.

### Descripción

La esponja en vivo presenta una coloración amarilla. Los especímenes analizados fueron encontrados en coral muerto del género *Pocillopora* y conchas de moluscos

mueritos. Las papilas son muy pequeñas, de 390  $\mu\text{m}$  de diámetro en promedio. En algunas muestras no se observaron.

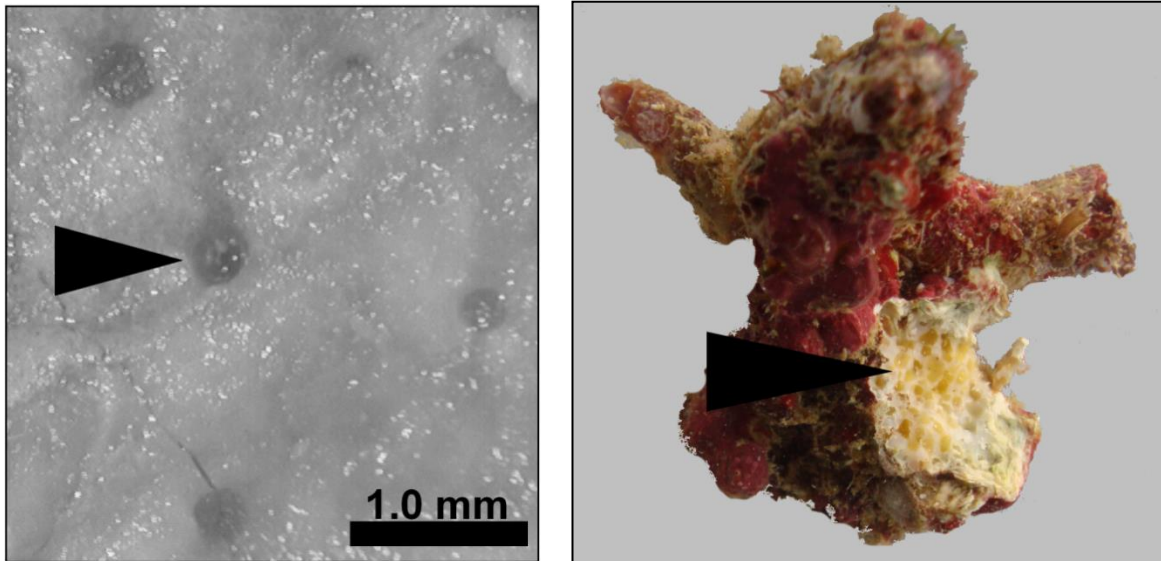


Fig. 1.31. Foto de las papilas y tejido (flecha) con la coloración en vivo de *P. cf. carpenteri*.

Presenta tres tipos de espículas: (i) oxas con curvatura central, terminadas en punta por ambos extremos y cubiertas de espinas diminutas. Poseen longitudes entre rangos de 63 a 115  $\mu\text{m}$  y de 3 a 6  $\mu\text{m}$  de grosor. (ii) Tilostilos son muy escasos en comparación con las oxas, son rectos, de 204 a 240  $\mu\text{m}$  de longitud y de 3.8  $\mu\text{m}$  de grosor en promedio. Los tilos miden de 4,5 a 6  $\mu\text{m}$  de diámetro. (iii) Microrhabdes que son muy numerosos, rectos y cubiertos de espinas robustas, de 9 y 12  $\mu\text{m}$  de longitud.

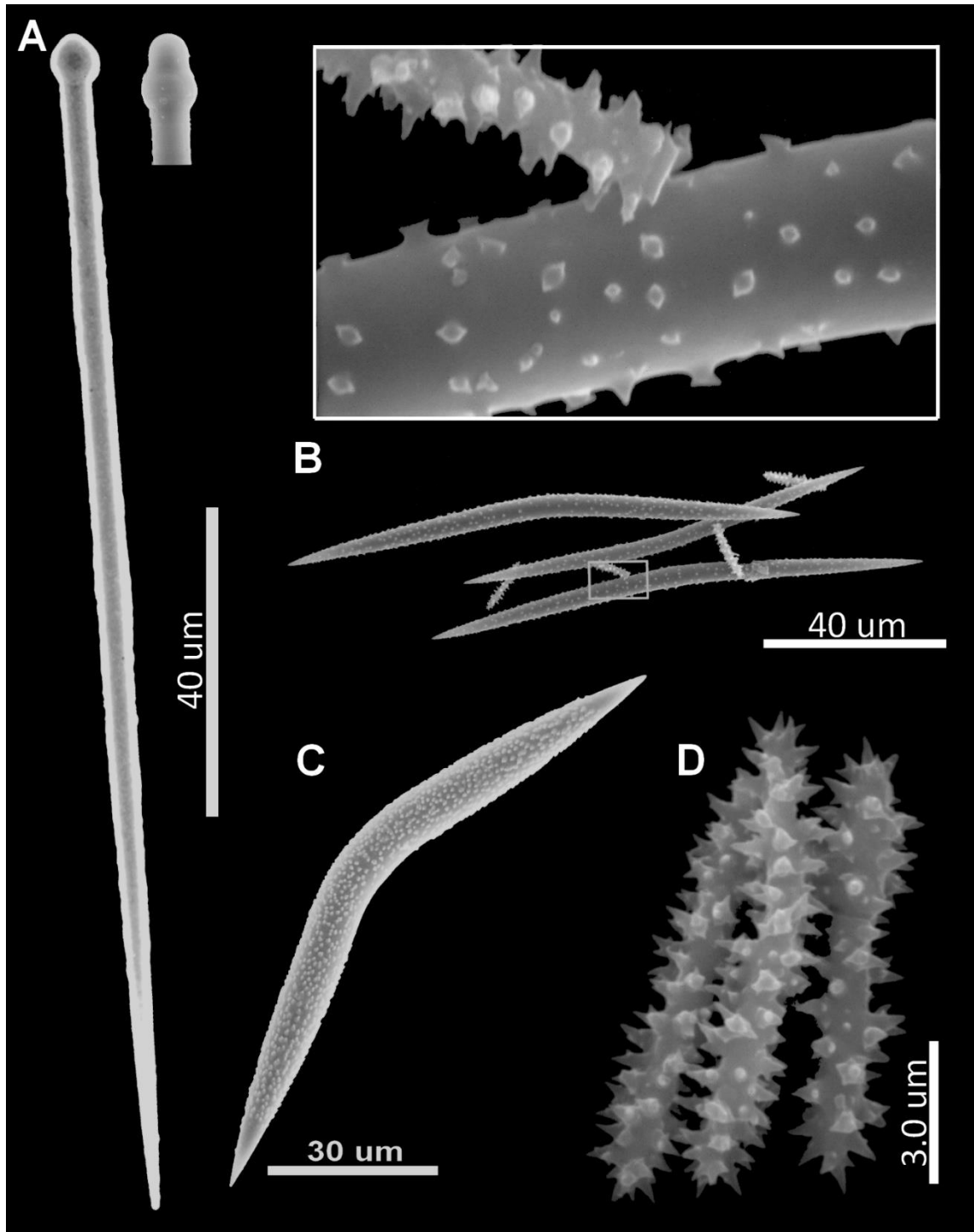


Fig. 1.32. Espículas de *Pione* cf. *carpenteri* al MEB. A) Tilostilo con variación de cabezas; B) Imagen de espículas oxas y microrhabdes, con magnificación del recuadro en donde se muestra la microespinación de las oxas y un microrhabdes quebrado, C) Oxa, D) Tres microrhabdes.

Las cámaras perforadas en la estructura coralina tienen diámetros comprendidos entre 0,79 a 1,60 mm y están unidas por ductos de unión con un grosor de 315  $\mu\text{m}$  promedio. No se observó fusión entre cámaras. Las marcas dejadas en las paredes de las cámaras son áreas poligonales que tienen un rango de diámetro entre los 20 y 102  $\mu\text{m}$ .

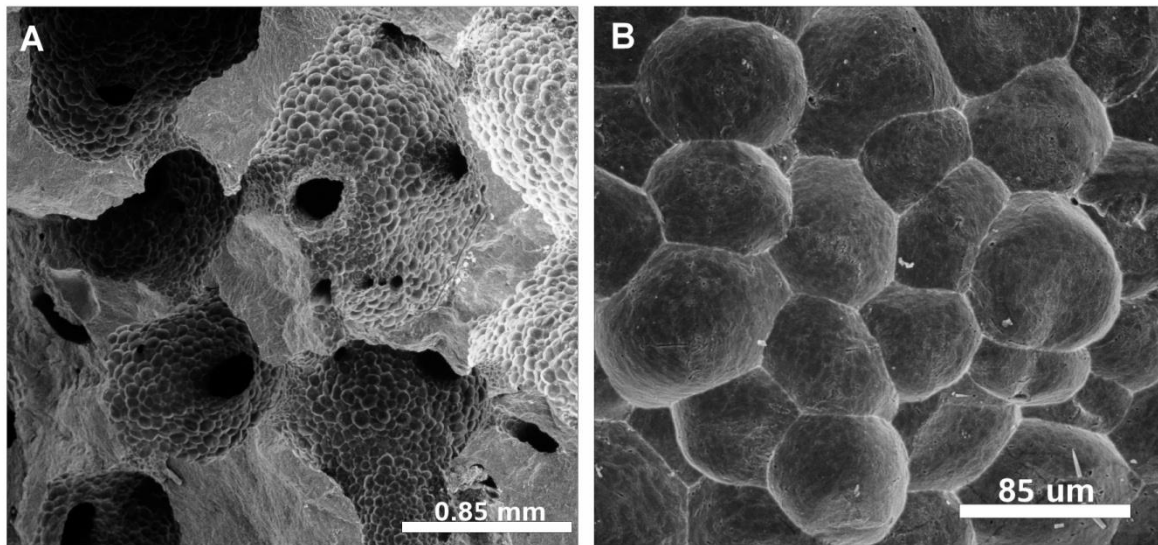


Fig. 1.33. Imágenes de *Pione cf. carpenteri* al MEB. A) Cámaras de perforación unidas por ductos, B) marcas de perforación.

#### Distribución

Los especímenes analizados fueron encontrados en San Juan del Sur, Nicaragua; para Costa Rica se encontró en: Bahía Culebra y Bahía Salinas (Pacífico Norte), Península de Nicoya, Pacífico Central e Isla del Caño (Fig. 34). También se encontró en Isla Taboga, Panamá.



Fig. 1.34. Distribución de *Pione cf. carpenteri*.

#### Comentarios

Las características morfológicas que se han descrito presentan algunas diferencias con otras especies de *Pione* descritas en el Pacífico (Carballo *et al.* 2004, 2008). Estas diferencias se analizan más detenidamente en la discusión.

#### *Pione cf. mazatlanensis* (Hancock, 1867)

##### Sinonimia

*Pione mazatlanensis* Hancock, 1867

##### Material examinado

ICMYL-Pma.84.R, ICMYL-Pma.87.R: Playa Blanca, Riu, 10°32'01''N - 85°45'43'' O, profundidad: 3 m, 20.XII.2012, Cristian Pacheco.

### Descripción

En vivo la esponja presenta una coloración ocre. El sustrato en el que se le encontró fue coral pocilopórido muerto.

Se presentan tres tipos espiculares: (i) Tilostilos, ligeramente curvados con longitudes que van desde 152 a 215  $\mu\text{m}$  y un grosor en rangos de 2,5 a 5  $\mu\text{m}$  y los tilos con un diámetro desde los 5 a los 7,5  $\mu\text{m}$ . (ii) Acantoxas curvadas y con espinas a lo largo del cuerpo o lisas; centrotilotas o sencillas con longitudes desde los 60 a 87,5  $\mu\text{m}$  y un grosor de 2,5 a 5  $\mu\text{m}$ . (iii) Microrhabdes espiralados y cubiertos de espinas con longitudes de 10  $\mu\text{m}$  a 15  $\mu\text{m}$  y grosor de 1 a 2,5  $\mu\text{m}$ . Es posible observar microrhabdes pequeños y más rectos o algunos desgastados probablemente (Fig. 1.35).

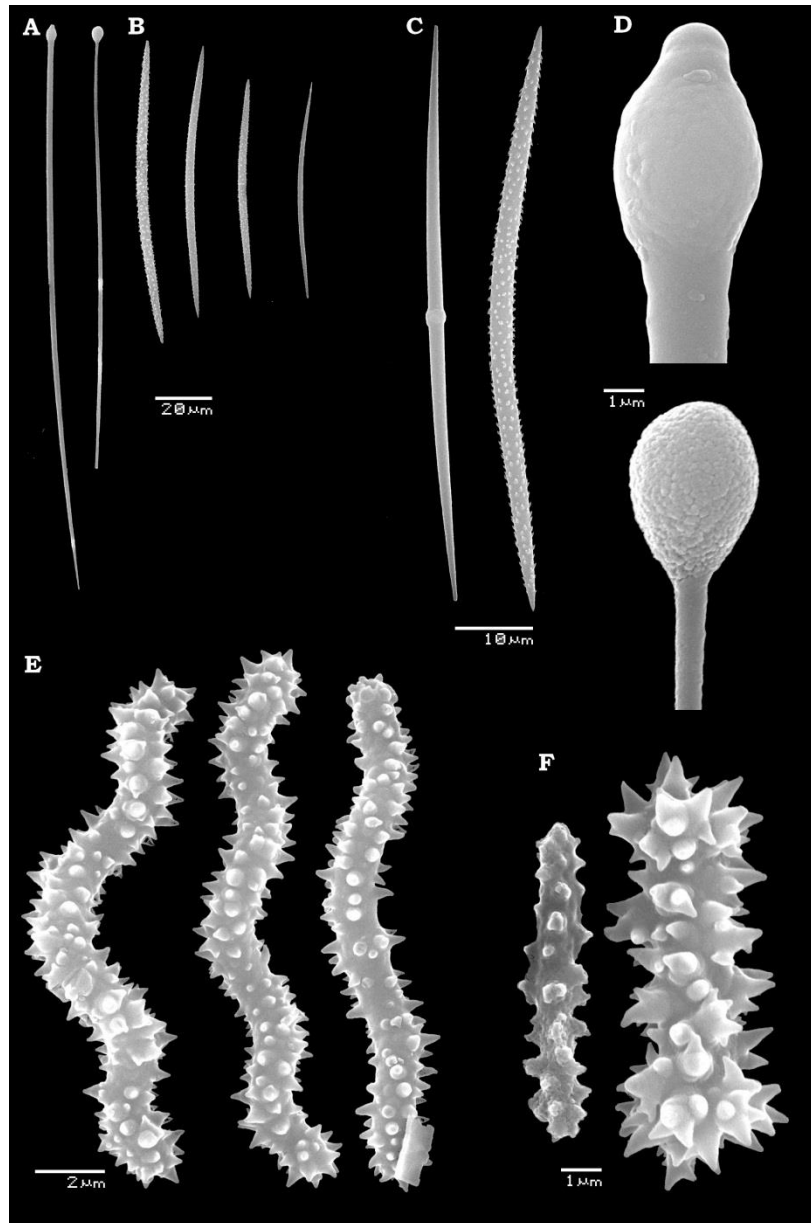


Fig. 1.35. Espículas de *P. mazatlanensis*. A) Tilostilos, B, C) Acantoxas, D) detalle de los tilos en los tilostilos, E) Microrhabdes espiralados, F) Un microrabdes desgastado y otro recto.

### Distribución

Los especímenes analizados fueron encontrados en Playa Blanca, Pacífico Norte de Costa Rica en la zona exterior de la Península de Nicoya a 3 metros de profundidad.



Fig. 1.36. Distribución de *P. mazatlanensis*.

#### Comentarios

Los especímenes fueron trabajados a partir del tejido extraído y no se contó con el sustrato para realizar fotografías de microscopía electrónica para las galerías y patrón de perforación.

#### Orden Astrophorida Sollas, 1888

##### Diagnosis

Esponjas usualmente con textura áspera debido al contenido de sílice sobre el esqueleto de espongina. Las microscleras son asters en una o más categorías (a veces ausentes), en ocasiones acompañadas por microxas y microrabdes. Megascleras son tretactinales,

usualmente trienas, calatrops o trienas cortas, en conjunto con oxas, siempre con un esqueleto radial al menos en el área periférica y con una arquitectura más confusa hacia el centro del cuerpo. En general, con pérdida de megascleras tetractinales, dejando solo las oxas, pero siempre mostrando la organización radial en el esqueleto. La reproducción es ovípara a pesar de que los gametos solo se han descrito para muy pocas especies. El estadio larval no se conoce aún (Hooper & Soest 2002c).

## Familia Thoosidae Rosell & Uriz, 1997

### Diagnosis

Esponjas excavadoras en las que también se incluyen formas masivas gama, con oxas, estilos, o estrongilos como megascleras (o megascleras ausentes) y microrhabdes (rectos, doblados o en espiral) o anfiasteres, o ambos como microscleras. Las megascleras pueden ser lisas o espinadas y pueden tener formas retorcidas o ramificadas. Las microscleras están usualmente ornamentadas con microespinas que se arreglan uniformemente, agregadas o en espiral. Las excavaciones forman galerías como en la familia Clionaidae. Las papilas que se conocen son pequeñas e inconspicuas, las formas masivas son raras (Rützler 2002c).

### *Thoosa* Hancock, 1849

Especie tipo: *Thoosa cactoides* Hancock, 1849

### Sinonimia

*Thoosa* Hancock, 1849. *Annandalea* Topsent 1928. *Annandalena* Topsent 1932. *Thooce* Laubenfels 1936. *Thoosa* Rützler 2002. *Thoosa* Carballo *et al.* 2004.

## Diagnosis

Esponja perforadora con papilas. Las megascleras son tilostilos aunque pueden faltar en algunos individuos, poblaciones o especies. Normalmente hay muchos tipos y variaciones de microscleras, pero comúnmente son anfiásters y oxiásters. Los anfiásters son principalmente tilotes, microespinados en los extremos, pero varían en las distintas especies, incluyendo oxas con extremos lisos. Los oxiasteres presentan un centro pequeño, con 1 a 6 actinas largas y delgadas. La reducción de las espinas puede llevar a formas sigmoides centrotilotas o tiloestilos, debido a que las espinas tienden a ser curvadas o forma biradiada. Algunas especies pueden incluir microoxas y pseudoesterrásters (Rützler 2002a).

## *Thoosa mismalolli* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez 2004

### Material examinado

MZ-UCR-182: Isla del Caño, 8°42'52''N - 83°52'26'' O, profundidad: 4 m, 1984, Jorge Cortés Núñez. CIAMR-IC-34,2: Isla del Caño, 8°42'52''N - 83°52'26'' O, profundidad: 10 m, 12.II.2011, Cristian Pacheco Solano.

### Descripción

La coloración de las papilas no fue registrada en vivo, al preservar es blanca, tiene forma circular con diámetro promedio de 1,5 mm. Los especímenes se encontraron en coral muerto del género *Pocillopora*.

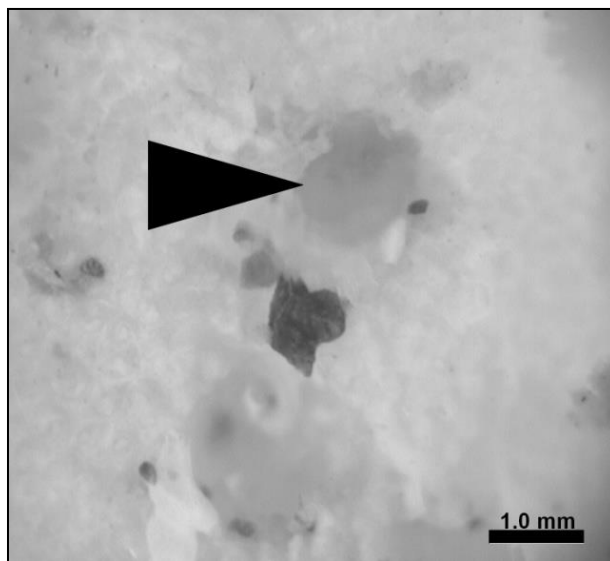


Fig. 1.37. Papilas de *T. mismalolli*.

En las espículas (Fig. 38) se distinguen: (i) Oxas centrotílores que no son muy numerosos y tienen una longitud promedio de 53,4  $\mu\text{m}$  y 1,1  $\mu\text{m}$  de ancho. (ii) anfiaster gruesos con 14 nódulos, siete a cada extremo del tallo, las tilos (proyecciones) presentan terminaciones con espinas reducidas. Además presentan una longitud de 24  $\mu\text{m}$  y un grosor promedio de 9  $\mu\text{m}$ . (iii) anfiaster delgados con 14 nódulos, siete en cada extremo del tallo, superficie verrugosa y terminaciones irregulares o lisas, tienen en promedio 19  $\mu\text{m}$  de largo y un grosor entre 1,5-3  $\mu\text{m}$ . (iv) Oxiásteres bi-radiales, tri-radiales o tetra-radiales, algunas con microespinas o abultaciones en extremos. Las longitudes promedio de cada espina en las bi-radiales y tri-radiales es de 35  $\mu\text{m}$  y un grosor de 1,5  $\mu\text{m}$ . Las tetra-radiales pueden presentar tallos de 15  $\mu\text{m}$ . (v) Tilostilos que son muy escasos y no se pudo obtener su longitud.

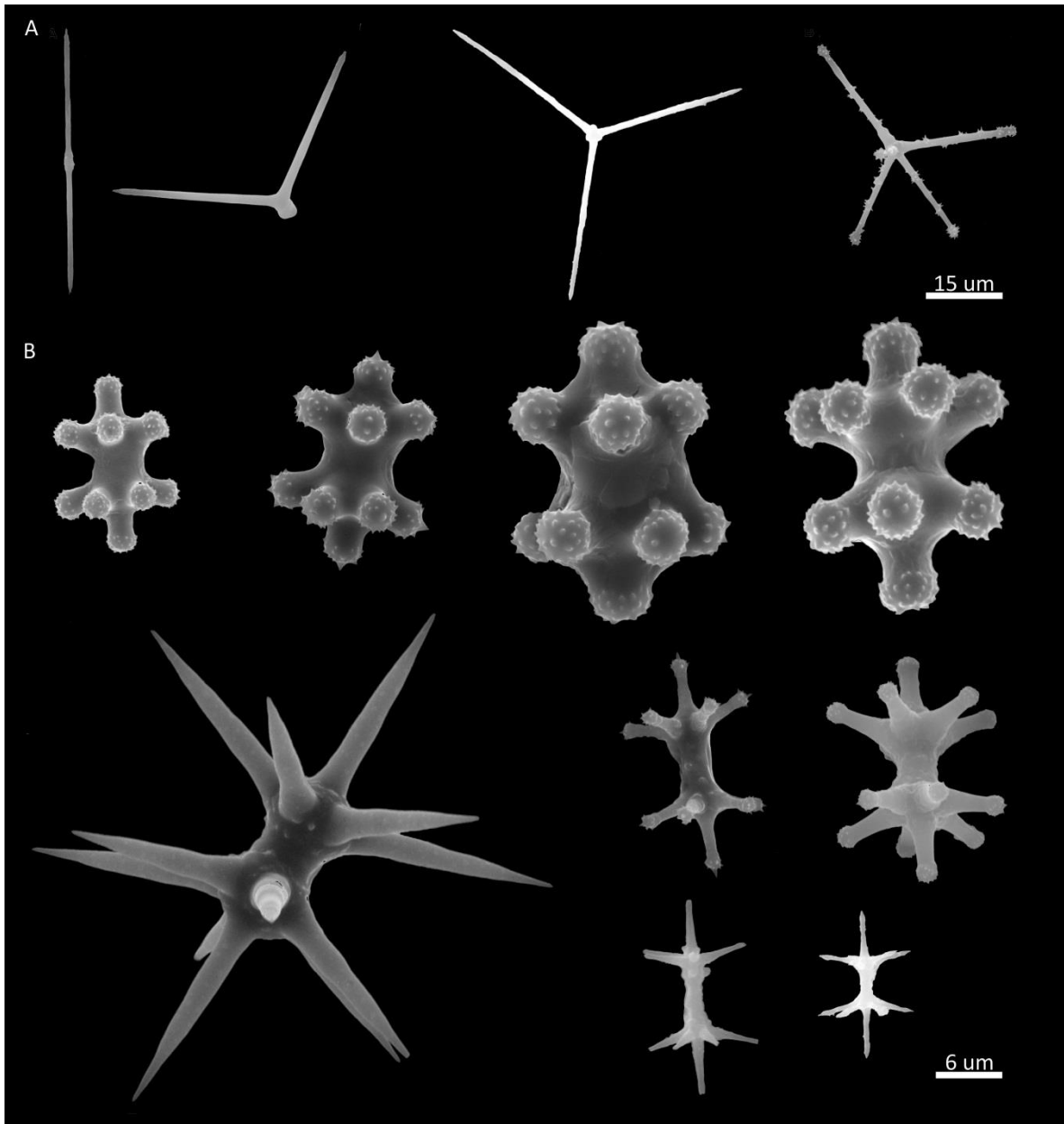


Fig. 1.38. Espículas de *T. mismalolli* al MEB. A) Oxa centrotilotes, Oxiasteres bi-radiales, tri-radiales y tetra-radiales, B) Anfiasteres gruesos y delgados.

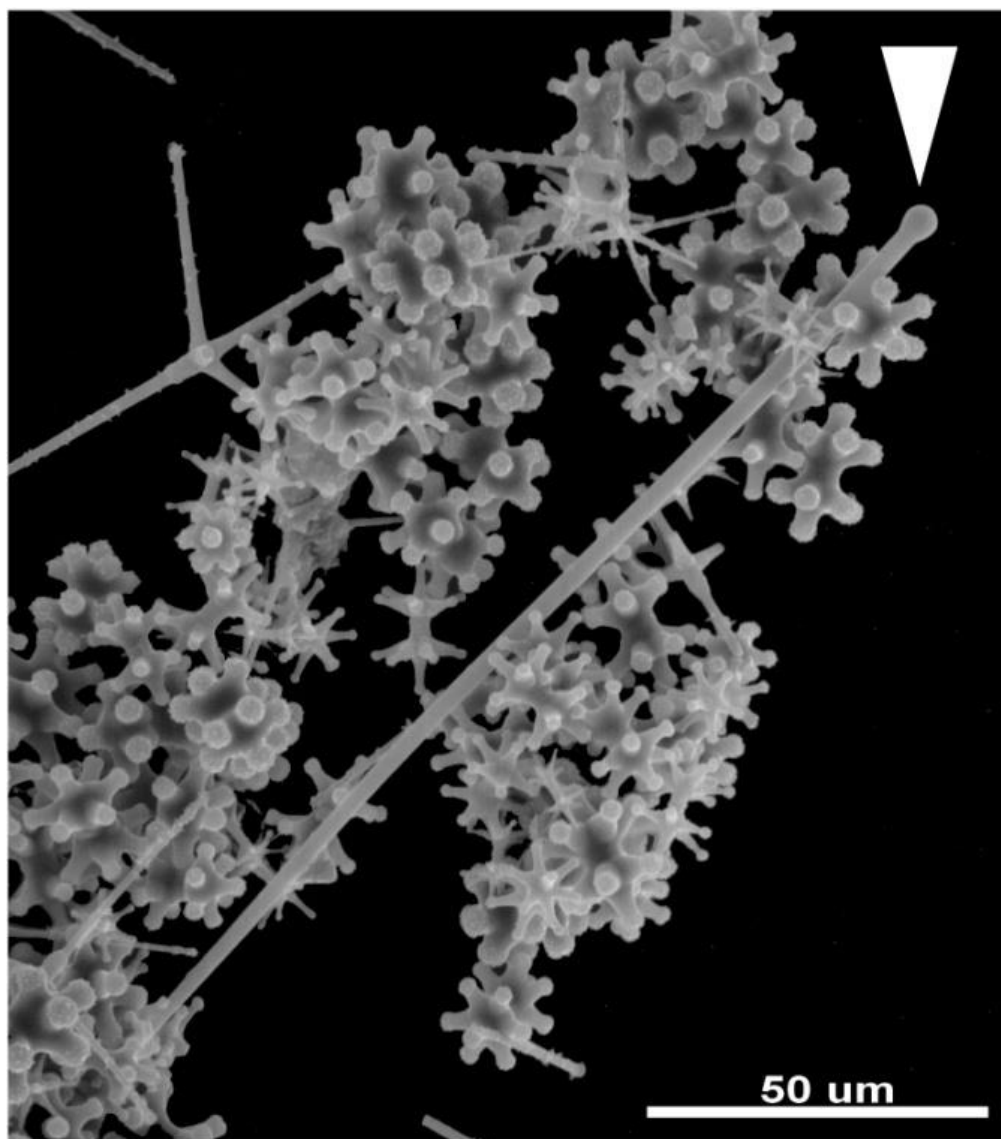


Fig. 1.39. Espícula de *T. mismalolli* al MEB. Tilostilo (flecha) rodeado por anfiasteres y algunos oxiasteres tetra-radiales.

Presenta un patrón de perforación formado por grandes galerías debido a la fusión de cámaras. Estas galerías pueden tener aberturas de 2 mm. Las marcas de perforación dejadas en las paredes son poligonales, de 29 a 55,6  $\mu\text{m}$  de diámetro. Por otro lado, la superficie de estas áreas es irregular a diferencia de las analizadas para el género *Cliona* o *Pione*.

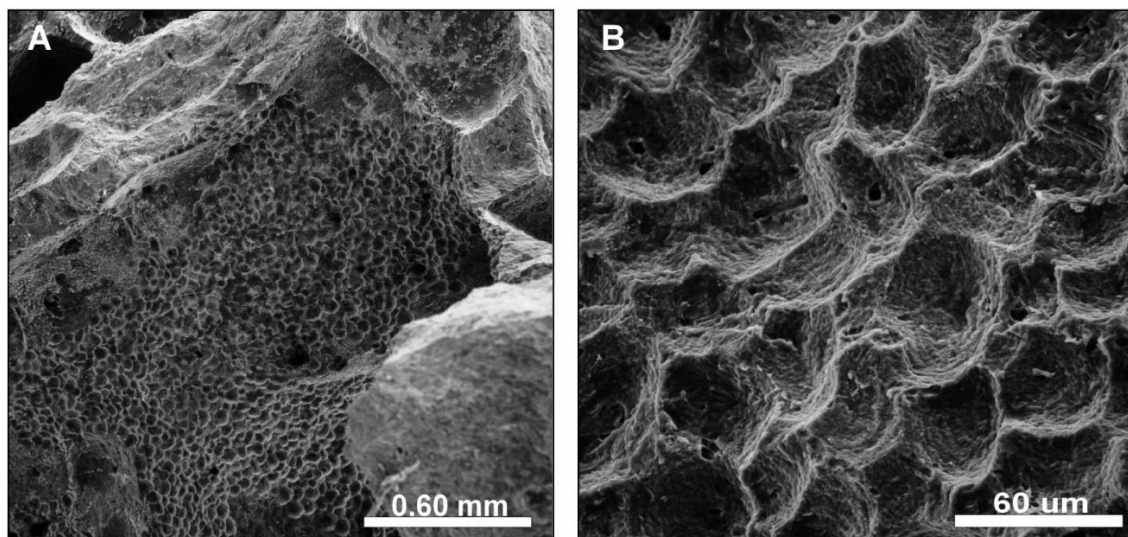


Fig. 1.40. Imagen del patrón de perforación en *T. mismalolli* al MEB. A) Galería producto de la fusión de cámaras, B) marcas de perforación, se observa lo irregular de su superficie.

#### Distribución

Los datos que se tienen para la distribución de *T. mismalolli* son del Pacífico México y las profundidades van desde el intermareal hasta los 7 m de profundidad (Carballo *et al.* 2008).

En Costa Rica los especímenes fueron encontrados en la Isla del Caño a 4 y 10 m. de profundidad y también se revisó un espécimen de Museo proveniente de la misma localidad y recolectado en 1984.



Fig. 1.41. Distribución geográfica de *T. mismalolli*.

#### Comentarios

Este es un nuevo informe para el país y amplía el ámbito de distribución mundial al ser el primer registro de la especie fuera de México.

*Thoosa cf. calpulli* Carballo, Cruz-Barraza, Gómez 2004.

#### Material examinado

ICMYL-Tca.140.E, Playa Esmeralda, 10°35'27''N - 85°40'04'' O, profundidad: 5 m, 12.II.2011, Cristian Pacheco Solano.

#### Descripción

La coloración del tejido en vivo es amarillo, y posee tres elementos espiculares que se detallan a continuación, sin embargo se hace notar algunas diferencias con la *T. calpulli* descrita por Carballo et al. (2004)

Los elementos espiculares son: (i) anfiaster con cinco o seis rayos microspinados en cada eje (si se divide el anfiaster a la mitad). Esta es una diferencia con la descripción original que reporta siete rayos por eje. Las terminaciones se presentan en forma cónica o más espinada, algunas son abiertas con alrededor de 6 proyecciones pequeñas en las puntas (forma de flor), algunos son simétricos otros asimétricos. Sus mediciones son de largo entre: 7.9 a 17.3  $\mu\text{m}$  y el grueso del eje es de 1 a 2.2  $\mu\text{m}$ . Los rayos salen del eje principal con longitudes entre 1.8 a 5.1  $\mu\text{m}$ .

(ii) Oxiasters lisas con un centro pequeño de donde salen los radios, se vieron biradiales con forma de alas de ave u otras más rectas, tri-radiales en un solo plano o dos o tetra-radiales. La medida de los radios son de 17.5 a 30.9  $\mu\text{m}$  de largo por 1.1 a 2.1  $\mu\text{m}$  de grosor.

(iii) Oxas que pueden ser espinadas o lisas, centrotilotas o simples y por su longitud se distinguieron dos grupos: uno en rangos de 35.2 a 101.5  $\mu\text{m}$  de largo por 1.8 a 4.3  $\mu\text{m}$  de grosor y el segundo grupo que son oxas simples o centrotilotas también pero más escasas, las dos que se observaron con medidas de 253.8 y 324.9  $\mu\text{m}$  de largo por 3.5 y 3.4  $\mu\text{m}$  de grosor respectivamente.

Las mediciones también se diferencian de las reportadas por Carballo et al. (2004).

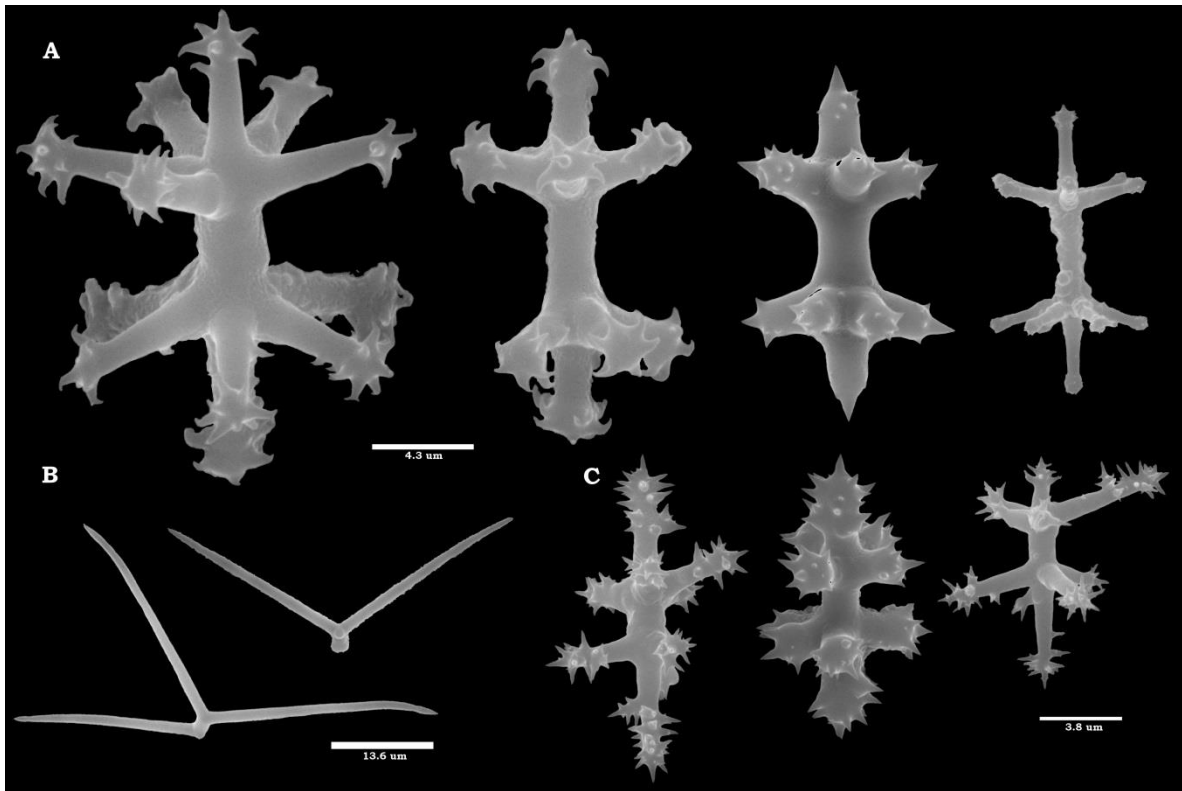


Fig. 1.42. Espículas de *Thoosa* cf. *Calpulli*. A) Anfiasters simétricos, B) Oxiasters, C) Anfiasters asimétricos.

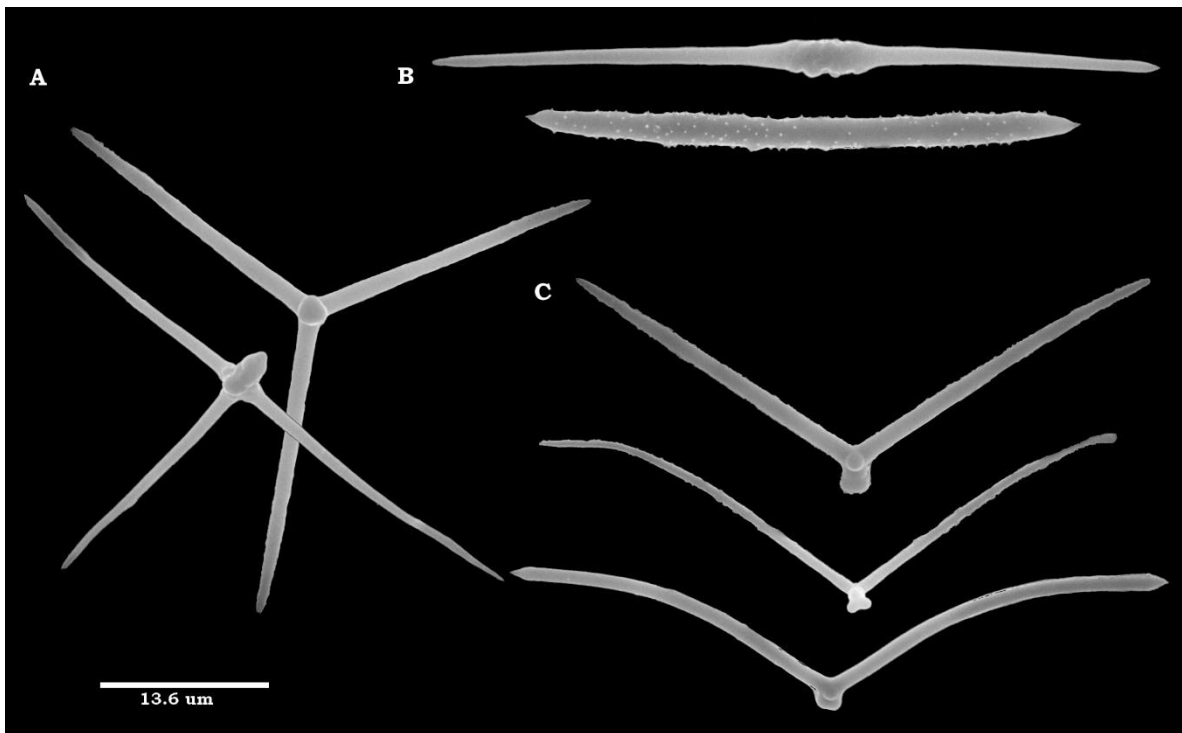


Fig. 1.43. A, C) Tipos de oxiasters triradiales y biradiales; B) Oxa centrotíloa y oxa espinada simple.



Fig. 1.44. Vista general de espículas de *T. cf. calpulli*. Se muestra una de las oxas de gran tamaño.

#### Distribución

El espécimen se localizó en Playa Esmeralda, Bahía Salinas, Pacífico Norte de Costa Rica, de ser *T. calpulli* este registro ampliaría la distribución hacia el sur.



Fig. 1.45. Distribución de *T. calpulli*.

#### Comentario

Será recomendable buscar más ejemplares y analizar más espículas así como las cavidades de perforación.

## Discusión

De las esponjas perforadoras citadas previamente en la literatura, los géneros *Cliona* y *Thoosa* mantienen su validez y se reportan de nuevo en esta tesis junto a una ampliación en su rango de distribución en el Pacífico Oriental. El género *Antosigmella* Topsent, 1918, citado por Scott et al. 1988 es sustituido y en la actualidad es el género *Cliona* Rützler, 2002 (ver sinonimia de *Cliona*).

El género *Aka* se revierte al nombre válido anterior *Siphonodictyon* debido a la primacía del género *Aka* de White, 1879 para insectos. El registro se hizo por primera vez para el Pacífico mexicano cuando en el 2007 Carballo et al. describieron la especie *Siphonodictyon cryptica*. A la fecha no se ha obtenido otro reporte de esta o ninguna otra especie de este género fuera del Pacífico Mexicano (Carballo et al. 2008). Por otro lado, el género *Siphonodictyon*, es fácilmente confundido, ya que las mismas espículas están presentes en esponjas no perforadoras asociadas a cavidades perforadas por otras esponjas, por lo tanto se decidió que la cita de Costa Rica del año 1988 es dudosa y no hay forma de corroborar el registro.

*Cliothosa hancoki* es mencionada por Scott et al. (1988) en la Isla del Caño. Esta especie se reporta para el Pacífico por Carballo et al. (2008), pero posteriormente Cruz-Barraza et al. (2011) la describen como una nueva especie *Cliothosa tylostrongylata* debido a la presencia de tilostrongilos (tilostilos sin punta). Los especímenes recolectado en esta tesis confirman la presencia de esta especie y justifican el registro.

De las especies previamente reportadas para el Pacífico costarricense, las únicas especies consideradas como válidas son *Cliothosa tylostrongylata* y *Cliona vermifera*, ambas citadas por Guzmán en 1988, las cuales también han sido recolectadas y analizadas.

En cuanto a las especies válidas para Panamá, a *C. tylostrongylata* y *C. vermifera* se le suman: *C. mucronata*, *C. tropicalis* y *P. carpenteri*. Todas estas especies han sido

reportadas en esta tesis y están presentes en la zona. La especie *P. carpenteri* identificada para Panamá podría ser la misma especie considerada aquí como *P. cf. carpenteri* lo cual se discute más adelante.

Algunas otras especies con registros incorrectos en el POT, pudieron ser confundidas con especies del Atlántico u otras regiones, debido a la poca información con que se cuenta y a la falta de guías de identificación para el Pacífico en el momento en que se estudiaron.

*Cliona viridis* citada por Scott et al. (1988), no se encontró en el sitio donde fue vista previamente y se sospecha que fue confundida con la especie *Cliona tropicalis* descrita por Cruz-Barraza et al. (2011) y presente en este estudio. La confusión se debe posiblemente a que ambas especies pertenecen al complejo *Cliona viridis* por su similitud.

Scott et al. (1988) también reportan a *Cliona lampa* para la Isla del Caño (Pacífico sur, Costa Rica). Esta especie descrita en Bermudas (Laubenfels 1950) es aceptada como *Pione lampa* y su distribución se restringe al Atlántico (Soest et al. 2014). Por otro lado *P. lampa* puede ser confundida con la especie que se reporta como *Pione cf. carpenteri* hallada en este estudio.

*Thoosa mollis* fue citada tanto en el estudio de Scott et al. (1988) como por Guzmán (1988), sin embargo la distribución de esta especie está restringida al Mar Adriático, Croacia y aguas europeas. Es posible pensar que lo que realmente se encontró es *Thoosa mismalolli* descrita para el Pacífico por Carballo et al. (2004) y que fue identificada en este estudio.

Cortés et al. (2009) al realizar el compendio de biodiversidad marina de Costa Rica descartan las especies antes mencionadas con excepción del género *Thoosa*, ellos citan la referencia MZ-UCR-182 que fue identificada en esta tesis como *T. mismalolli*. Sin embargo la especie fue clasificada dentro de la familia Spirastrellidae y no Thoosidae a donde pertenece.

La tabla 1.2 resume las especies que se registran para el POT Centroamericano incluyendo esos registros anteriores que no aparecieron en esta tesis y que en conjunto ayudan a visualizar el estado de conocimiento actual en la región.

Tabla 1.2. Especies de esponjas perforadoras identificadas en el Océano Pacífico para Nicaragua, Costa Rica, Panamá y la Isla del Coco.

| Especies                         | Nicaragua | Costa Rica | Isla del Coco | Panamá   |
|----------------------------------|-----------|------------|---------------|----------|
| <i>Cliona amplicavata</i>        | X         | X          |               |          |
| <i>Cliona californiana</i>       | X         | X          |               |          |
| <i>Cliona euryphylla</i>         |           | X          |               |          |
| <i>Cliona mucronata</i>          |           | X          |               | X        |
| <i>Cliona microstrongylata</i>   |           | X          |               |          |
| <i>Cliona pocillopora</i>        |           | X          | X             |          |
| <i>Cliona tropicalis</i>         |           | X          |               | X (rp)   |
| <i>Cliona vermifera</i>          |           | X          |               | X (rp)   |
| <i>Cliothesa tylostrongylata</i> |           | X          |               | X        |
| <i>Thoosa calpuli</i>            |           | X          |               |          |
| <i>Thoosa mismaloll</i>          |           | X          |               |          |
| <i>Pione cf. carpenteri</i>      | X         | X          |               | X        |
| <i>Pione mazatlanensis</i>       |           | X          |               |          |
| <b>Total de especies</b>         | <b>3</b>  | <b>13</b>  | <b>1</b>      | <b>5</b> |

rp: registro previo

En cuanto a *Thoosa cf. calpuli* las diferencias en el número de rayos microspinados para los anfiaster y las terminaciones en algunos de ellos, así como los rangos de mediciones que no concuerdan con la reportada por Carballo et al. (2004) hacen pensar que se trata de una especie distinta, sin embargo el material recolectado fue poco y no es posible realizar más análisis que permitan corroborar la identidad.

En relación a la especie descrita como *Pione cf. carpenteri* se debe considerar que a pesar de que la identificación del género es fácil debido al tipo de espículas, la identificación de las especies llega a ser compleja debido a que las características

morfológicas que son diagnósticas se llegan a traslapar entre las especies (Ferrario et al. 2010). Ejemplo de esto es el “complejo *Pione vastifica*” entre las especies *P. vastifica* y *P. lampa* (Ferrario et al. 2010).

La especie descrita en esta tesis posee tres diferencias observables en los microrhabdes en comparación con *P. carpenteri*. La primera es que los microrhabdes tienen terminaciones obtusas para *P. carpenteri* (Carballo et al. 2004), no es así para las descritas en esta tesis. La segunda, las microespinaciones son muy pequeñas para *P. carpenteri* (Carballo et al. 2004) en comparación a las microespinaciones encontrados en el Pacífico Centroamericano. Por último Carballo et al. (2008) menciona una longitud promedio para los microrhabdes de 17,5  $\mu\text{m}$ , mientras que la longitud hallada aquí está entre los 9 a 12  $\mu\text{m}$  (Fig. 1.36).

Sin embargo sería necesario conseguir un mayor número de especímenes para hacer análisis morfológicos robustos y análisis moleculares. Por lo pronto se deja como *Pione* cf. *carpenteri* en espera de determinar si se trata de variaciones morfológicas de la misma especie o si los especímenes del Pacífico Centroamericano corresponden a una nueva especie.

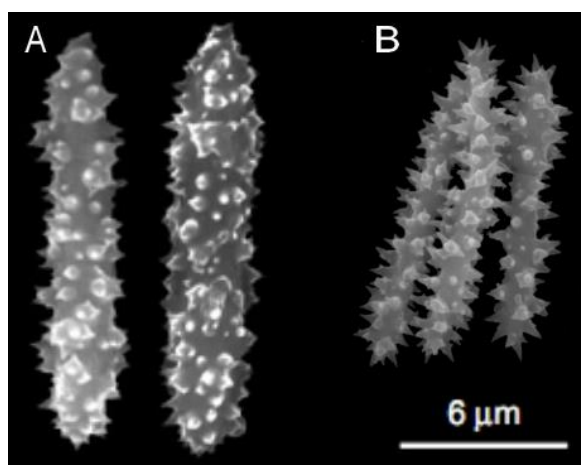


Fig. 1.46. A) Microrhabdes de *Pione carpenteri* tomado de Carballo et al. (2004). B) Microrhabdes del espécimen estudiado en esta tesis.

Los especímenes identificados como *P. cf. mazatlanensis* tiene similitudes con *P. mazatlanensis* descrita para el Pacífico Mexicano y *P. angelae*, localizada al sur del continente frente a las costas Argentinas.

Los autores Urteaga & Pastorino (2007) al comparar *P. angelae* con *P. mazatlanensis*, resaltan diferencias como la cavidad dentro de la cabeza de los tilostilos, observable en microscopía de luz así como la curvatura de los microrhabdes espiralados en el centro de estos y las dos clases de papilas con diámetros de 2.5 y 0.85 mm que se establece en la descripción de Hancock (1867). Por otro lado, los especímenes encontrados por Carballo et al. (2004) de *P. mazatlanensis* no muestran los dos tipos de papilas, ellos hablan de un rango de 0,1 a 1.4 mm de diámetro.

Además, la curvatura en el centro de los microrhabdes es frecuente verla en especímenes de esta tesis pero también fueron observados microrhabdes rectos muy similares a *P. angelae*. Carballo et al. (2004) reportan que los microrhabdes pueden ser rectos también.

Al comparar las mediciones promedio para el largo de las acantoxas y de los microrhabdes, en *P. mazatlanensis* (México), *P. cf. mazatlanensis* (Costa Rica) y *P. angelae* (Argentina) tomados de los respectivos artículos (Carballo et al, 2004; Urteaga & Pastorino, 2007), se nota su similitud. No se tomaron los datos de tilostilos debido a que para *P. angelae*, los autores distinguen dos tipos de tilostilos debido a la relación largo/ancho de los tilostilos.

Tabla 1.3. Promedio para el largo de dos tipos espiculares.

|                   | Acantoxas |    |
|-------------------|-----------|----|
|                   | Largo     | N  |
| <b>México</b>     | 86        | 25 |
| <b>Costa Rica</b> | 88        | 27 |
| <b>Argentina</b>  | 91        | 50 |

|                   | Microrhabdes |    |
|-------------------|--------------|----|
|                   | Largo        | N  |
| <b>México</b>     | 10.8         | 25 |
| <b>Costa Rica</b> | 11.3         | 24 |
| <b>Argentina</b>  | 12.4         | 31 |

Por estas razones se hace necesario el revisar holotipos y más especímenes de las diferentes regiones. Este podría ser un caso de estudio aparte, así como lo es *C. mucronata* en esta tesis. Se decide llamar a los especímenes *P. cf. mazatlanensis* hasta poder realizar un análisis morfológico más robusto así como un análisis molecular.

En la descripción de *T. cf. calpulli* del espécimen de Centroamérica se observaron diferencias ya mencionadas con los descritos para el Pacífico Mexicano, que básicamente radican en número de radios por eje y mediciones de espículas. Se analizó la similitud con *T. purpurea*, pero esta se descartó por el color que presenta el espécimen, amarillo en lugar de púrpura y la presencia de oxas en lugar de tilostilos como si los tiene la *T. purpurea* (Cruz-Barraza et al., 2011).

Estas diferencias en los microrhabdes sugieren la posibilidad de que el espécimen de Costa Rica sea una nueva especie para la ciencia. Las diferencias halladas en este trabajo, justifican una descripción exhaustiva de los especímenes encontrados y su posterior análisis molecular, para lo cual se requiere un mayor número de especímenes.

Sobre la variación morfológica, observadas en las espículas, como: espículas inmaduras o malformaciones, estas han sido reportadas por Schönberg (2001) que observó que los tilos de tilostilos inmaduros presentan gránulos de sílice de 0,1 a 2  $\mu\text{m}$  de

diámetro dando la forma granulada. Por otro lado, las malformaciones aparecen al darse una deformación en el filamento axial (núcleo protéico) o una quebradura en un estadio temprano en la formación de la espícula (Shönberg 2001).

La observación de un patrón de perforación diferente, en las áreas poligonales de las cámaras para el género *Thoosa* puede ser debido a las diferentes formas de pseudópodos que las células generan para disociar el carbonato e imbuir las partículas que posteriormente liberan al medio (Calcinai et al. 2003).

Algunos estudios señalan que el tamaño y la forma de las cámaras perforadas tienen un valor taxonómico (Bromley & Tendal 1973, Rützler 1974, Risk & MacGeachy 1978). Para otros investigadores, el patrón de excavación está relacionado con las características del sustrato o con el estado de desarrollo de la esponja (Cobb 1975, Hoeksema 1983, Bromley & D'Alessandro 1990).

Lo que se encuentra en este estudio apoya la idea de que el patrón de áreas poligonales puede distinguir entre dos órdenes Hadromerida y Astrophorida y por lo tanto tiene un valor taxonómico. Así como lo muestra Calcinai et al (2003) al distinguir los patrones de perforación entre Hadromerida y Haplosclerida.

Por otro lado, la especie *Cliona vermifera*, presentó una variación en el número de espirasters sinuosos, que no han sido reportados previamente y que sería necesario poder estudiar desde un punto de vista morfológico y genético para poder llegar a una posible explicación.

## **Conclusión**

En este primer capítulo se concluye con la descripción de trece especies de esponjas perforadoras para el POT Centroamericano (Tabla 1.4), la mayoría amplían el rango de distribución conocido hasta ahora y actualizan la información que se tenía hasta el momento.

Tabla 1.4. Presencia de esponjas perforadoras por sitios en las costas del Pacífico Oriental Tropical Centroamericano.

|                                          | Bahía Salinas |      |       | Bahía Culebra |              |       | Penin Nicoya | Pacíf. Central | Pacíf. Sur    | Isla Océánica | Nicaragua | Panamá      |
|------------------------------------------|---------------|------|-------|---------------|--------------|-------|--------------|----------------|---------------|---------------|-----------|-------------|
|                                          | Isla Bolaños  | Mesa | Otros | Esmeralda     | Four Seasons | Otros | Riu          | Punta Leona    | Isla del Caño | Isla del Coco | La Flor   | Isla Taboga |
| 1 <i>Cliona amplicavata</i>              | X             | X    |       | X             |              |       | X            | X              |               |               | X         |             |
| 2 <i>Cliona californiana</i>             | X             |      |       | X             | X            |       | X            | X              |               |               | X         |             |
| 3 <i>Cliona euryphylla</i>               |               |      | X     |               |              |       |              | X              | X             |               |           |             |
| 4 <i>Cliona mucronata</i>                |               | X    |       | X             | X            |       | X            |                | X             |               |           | X           |
| 5 <i>Cliona pocillopora</i>              |               |      |       | X             | X            |       | X            |                |               | X             |           |             |
| 6 <i>Cliona vermifera</i>                |               |      |       |               | X            | X     |              |                | X             |               |           |             |
| 7 <i>Cliona microstrongylata</i>         | X             |      |       |               |              |       |              | X              |               |               |           |             |
| 8 <i>Cliona tropicalis</i>               |               |      |       |               | X            |       |              |                |               |               |           |             |
| 9 <i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i>     |               | X    |       | X             | X            |       | X            | X              | X             |               | X         | X           |
| 10 <i>Pione</i> cf. <i>mazatlanensis</i> |               |      |       |               |              |       | X            |                |               |               |           |             |
| 11 <i>Thaosa</i> cf. <i>calpuli</i>      |               |      |       | X             |              |       |              |                |               |               |           |             |
| 12 <i>Thaosa mismalolli</i>              |               |      |       |               |              |       |              |                | X             |               |           |             |
| 13 <i>Cliothosa tylostrongylata</i>      |               |      |       |               | X            |       |              |                |               |               |           | X           |
| <b>Total de especies</b>                 | 3             | 3    | 1     | 6             | 7            | 1     | 6            | 5              | 5             | 1             | 3         | 3           |

Las diferencias entre los especímenes revisados del POT Centroamericano en comparación con las descripciones originales mencionadas en este trabajo, sugieren la necesidad de más estudios que incluyan análisis molecular así como mayor cantidad de individuos para análisis morfológicos robustos con el fin de determinar si la variedad observada es debido a la plasticidad morfológica de las especies o por el contrario son diferencias que caracterizan nuevas especies.

Una vez identificada la biodiversidad de esta región, uno de los próximos pasos a seguir, podría ser estimar la abundancia de estas especies en los arrecifes y relacionarlas con el estado de estos últimos para elaborar medidas que puedan mitigar el daño antropogénico que se pueda estar ocasionando y proteger de mejor manera estos ecosistemas.

Por lo pronto se selecciona uno de estos casos, la especie *Cliona mucronata*, para la cual se contó con gran cantidad de especímenes recolectados que permitieron su análisis morfológico y molecular. Esta se tratará en el siguiente capítulo.

## Bibliografía

- Alvarado, J. J., A. Ayala, P.A.A. del Castillo-Cárdenas, C. Fernández, J. Aguirre-Rubí, F. Buitrago & H. Reyes-Bonilla. 2011. Coral communities of San Juan del Sur, Pacific Nicaragua. *B. Mar. Sci.* 87: 129–146.
- Alvarado, J. J., F.A. Solís-Marín & C. Ahearn. 2010. Echinoderms (Echinodermata) diversity of Central America Pacific. *Mar. Biodivers.* 40: 45–56.
- Bautista-Guerrero, E., J.L. Carballo, J.A. Cruz-Barraza & H.H. Nava. 2006. New coral reef boring sponges (Hadromerida: Clionaidae) from the Mexican Pacific Ocean. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 86: 936-970.
- Bautista-Guerrero, E., J.L. Carballo & M. Maldonado. 2010. Reproductive cycle of the coral-excavating sponge *Thoosa mismalolli* (Clionaidae) from Mexican Pacific coral reefs. *Invertebr. Biol.* 129: 285–296.
- Bautista-Guerrero, E., J.L. Carballo & M. Maldonado. 2013. Abundance and reproductive patterns of the excavating sponge *Cliona vermifera*: a threat to Pacific coral reefs?. *Coral Reefs.* 33: 259-266.
- Bergquist, P.R. 1968. The marine fauna of New Zeland: Porifera, Demospongiae, Part 1 (Tetractinomorpha and Lithistida). *New Zeland Oceanogr. Inst. Mem.* 188: 1-105.
- Borchiellini, C., E. Alivon & J. Vacelet. 2004. The systematic position of *Alectona* (Porifera, Demospongiae): a tetractinellid sponge. *Boll. Mus. Ist. Biol. Univ. Genova.* 68: 209–217.
- Bouchet, P. & K. Rützler 2003. Clionidae d' Orbigny, 1851 (Porifera, Hadromerida): proposed emendment of spelling to Clionaidae to remove homonymy with Clionidae Rafinesque, 1815 (Mollusca , Pteropoda). *Bull. Zool. Nomencl.* 60: 99–102.

- Bromley, R.G. & O.S. Tendal. 1973. Example of substrate competition and phototropism between two clionid sponges. *J. Zool.* 169: 151-155.
- Bromley, R.G. & A. D'Alessandro. 1990. Comparative analysis of bioerosion in deep and shallow water, Pliocene to Recent, Mediterranean Sea. *Ichnos* 1: 43-49.
- Brusca, R.C. & G.J. Brusca. 2005. *Invertebrados*. McGraw-Hill / Interamericana de España. p. 1032.
- Calcinai, B., A. Arillo, C. Cerrano & G. Bavestrello. 2003. Taxonomy-related differences in the excavating micro-patterns of boring sponges. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 83: 37-39.
- Cardenas, P., J.R. Xavier, J. Reveillaud, C. Schander & H.T. Rapp. 2011. Molecular phylogeny of the Astrophorida (Porifera, Demospongiae) reveals an unexpected high level spicule homoplasy. *Plos One*. 6: e18318.
- Carballo, J.L., E. Sanchez-Moyano & J.C. García-Gómez. 1994. Taxonomic and ecological remarks on boring sponges (Clionidae) from the Straits of Gibraltar (southern Spain): tentative bioindicators. *Zool.J.Linn.Soc-Lond.* 112: 407-424.
- Carballo, J.L., S.A. Naranjo & J.C. García-Gómez. 1996. Use of marine sponges as stress indicators in marine ecosystems at Algeciras Bay (southern Iberian Peninsula). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 135: 109-122.
- Carballo, J.L., J.A. Cruz-Barraza & P. Gómez. 2004. Taxonomy and description of clionaid sponges (Hadromerida, Clionidae) from the Pacific Ocean of México. *Zool. J. Linn. Soc-Lond.* 141: 353-397.
- Carballo, J.L. & J.A. Cruz-Barraza. 2005. *Cliona microstrongylata*, a new species of boring sponge from the Sea of Cortés (Pacific Ocean, México). *Cah. Biol. Mar.* 46: 379-387.

- Carballo, J.L., L. Hepburn, H.H. Nava, J.A. Cruz-Barraza & E. Bautista-Guerrero. 2007. Coral boring *Aka*-species (Porifera: Phloeodictyidae) from Mexico with description of *Aka cryptica* sp. nov. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 87: 1477-1484.
- Carballo, J.L., J.A. Cruz-Barraza, H. Nava & E. Bautista-Guerrero. 2008. Esponjas perforadoras de sustratos calcáreos. Importancia en los ecosistemas arrecifales del Pacífico Este. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). p. 183.
- Cobb, W.R. 1975. Fine structural features of destruction of calcareous substrata by the burrowing sponge *Cliona celata*. Trans. Am. Microsc. Soc. 94: 197-202.
- Cortés, J. 1997. Biology and geology of eastern Pacific coral reefs. Coral Reefs. 46: 39–46.
- Cortés, J. & C. Jiménez. 2003. Corals and coral reefs of the Pacific of Costa Rica: History, research and status, p. 361-385. In: J. Cortés (ed.). Latin American Coral Reefs. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Cortés, J., N van Der Hal & R.W.M. van Soest. 2009. Sponges. In I. S. Wehrtmann & J. Cortés (Eds.). Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America. Berlin: Springer. pp. 137-142.
- Cortés, J. & M.M. Murillo. 1985. Comunidades coralinas y arrecifes del Pacífico de Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 33: 197-202.
- Cramer, M.J. & M.R. Willig. 2005. Habitat heterogeneity, species diversity and null models. Oikos. 108: 209-218.
- Cruz-Barraza, L.A. 2008. Taxonomía y distribución de las esponjas marinas (Porifera: Demospongiae) del Pacífico mexicano. Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México, México. 571 p.

- Cruz-Barraza, J. A., J.L. Carballo, E. Bautista-Guerrero & H. Nava. 2011. New species of excavating sponges (Porifera: Demospongiae) on coral reefs from the Mexican Pacific Ocean. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 91: 999–1013.
- Desqueyroux-faúndez, R. & C. Valentine. 2002. Family Phloeodictyidae Carter, 1882. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 893-905.
- Diaz, M.C. & K. Rützler. 2001. Sponges: an essential component of Caribbean coral reefs. *B. Mar. Sci.* 69: 535-546.
- Dickinson, M.G. 1945. Sponges of the Gulf of California. *Allan Hancock Pac. Exp.* 11: 1-251.
- Fernández, C. 2012. Taxonomía y biogeografía de las familias Caulerpaceae (Chlorophyta), Dictyotaceae (Ochrophyta) y Corallinaceae (Rhodophyta) en el Pacífico de Centroamérica. Tesis doctoral. Universidad Autónoma de Baja California. México p. 271.
- Ferrario, F., B. Calcinai, D. Erpenbeck, P. Galli & G. Wörheide. 2010. Two *Pione* species (Hadromerida, Clionaidae) from the Red Sea: a taxonomical challenge. *Org. Divers. Evol.* 10: 275-285.
- Fonseca, A.C. & J. Cortés. 1998. Coral bores of the Eastern Pacific: *Aspidosiphon* (A.) *elegans* (Sipuncula: Aspidosiphonidae) and *Pomatogebia rugosa* (Cristacea: Upogebiidae). *Pac. Sci.* 52: 170-175.
- Glynn, P. & J. Ault. 2000. A biogeographic analysis and review of the far Eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs*. 19: 1-23.
- Glynn, P.W., S.B. Colley, J.L. Maté, I.B. Baums, J.S. Feingold, J. Cortés, H.M. Guzmán, J.C. Afflerbach, V.W. Brandtneris, J.S. Ault. 2012. Reef coral reproduction in the

- equatorial eastern Pacific: Costa Rica, Panamá, and the Galápagos Islands (Ecuador). Mar. Biol. 159: 1917–1932.
- Graham, N.A.J. & K.L. Nash. 2013. The importance of structural complexity in coral reef ecosystems. Coral Reefs. 32: 315–326.
- Green, G. & P. Gómez. 1986. Estudio taxonómico de las esponjas de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. Anales Inst. Cienc. Mar. Limnol. U.N.A. México. 13: 273–300.
- Guzman, H.M. 1988. Distribución y abundancia de organismos coralívoros en los arrecifes coralinos de la Isla del Caño, Costa Rica. Rev. Biol. Trop. 36: 191–207.
- Hancock, A. 1867. XXXVI Note on the excavating sponges; with descriptions of four new species. J. Nat. Hist. 19: 229–242.
- Hawkins, J.P. & C.M. Roberts. 1992. Effects of recreational SCUBA diving on fore-reef slope communities of coral reefs. Biol. Conserv. 62: 171–178.
- Hoeksema, B.W. 1983. Excavation patterns and spiculae dimensions of the boring sponge *Cliona celata* from the SW Netherlands. Senck. Marit. 15: 55–85.
- Hofknecht, G. 1978. Descriptions and key to the intertidal sponges of the Puerto Peñasco area in the Gulf of California. J. Arizona Nevada Acad. Sci. 13: 51–56.
- Hooper, J.N.A. 2002. Family Acarnidae Dendy, 1922. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.). Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 412–431.
- Hooper, J.N.A. & R.W.M. van Soest. 2002a. Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.). Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 1–8.

- Hooper, J.N.A. & R.W.M. van Soest. 2002b. Order Hadromerida Topsent, 1894. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 412–431. pp. 169-172.
- Hooper, J.N.A. & R.W.M. van Soest. 2002c. Order Astrophorida Sollas, 1888. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 105-107.
- Hooper, J.N.A., Van Soest, R.W.M. & F. Debrenne. 2002. Phylum porífera Grant, 1836, p. 9-13. In J.N.A. Hooper & R.W.M. Van Soest (eds). *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. Academic/Plenum, New York, New York.
- Jiménez, C. 1997. Corals and coral reefs of Culebra Bay, Pacific coast of Costa Rica: anarchy in the reef. *Proc. 8<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp. Panamá* 1: 329-334.
- Jiménez, C.E. & J. Cortés. 2001. Effects of the 1991-92 El Niño on scleractinian corals of the Costa Rica central Pacific coast. *Rev. Biol. Trop.* 49: 239-250.
- Laubenfels, M.W. de. 1932. The marine and freshwater sponges of California. *Proc. U.S. Natl. Mus.* 81: 1-40.
- Laubenfels, M.W. de. 1950. The Porifera of the Bermuda Archipelago. *Trans. Zool. Soc. London.* XXVII: 1-153.
- Laubenfels, M.W. de. 1954. The sponges of the West-Central Pacific. *Oregon State Coll. Monogr. Stud. Zool.* 7: 1-306.
- MacArthur, R.H. & J.W. MacArthur. 1961. On bird species diversity. *Ecology.* 42: 594-598.
- Nava, H. & J.L. Carballo. 2008. Chemical and mechanical bioerosion of boring sponges from Mexican Pacific coral reefs. *J. Exp. Biol.* 211: 2827–31.

- Nava, H. & J.L. Carballo. 2013. Environmental factors shaping boring sponge assemblages at Mexican Pacific coral reefs. *Marine Ecology*. 34: 269–279.
- Pandolfi, J.M., S.R. Connolly, D.J. Marshall & A.L. Cohen. 2011. Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science*. 333: 418–22.
- Pomponi, S.A. 1979a. Cytochemical studies of acid phosphatase in etching cells of boring sponges. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 59: 785–789.
- Pomponi, S.A. 1979b. Ultrastructure of cells associated with excavation of calcium carbonate substrates by boring sponges. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 59: 777–784.
- Rao, J.V., K. Srikanth, R. Pallela & T.G. Rao. 2009. The use of marine sponge, *Haliclona tenuiramosa* as bioindicator to monitor heavy metal pollution in the coast of Gulf of Mannar, India. *Environ. Monit. Assess.* 156: 451-459.
- Risk, M.J. & J.K. MacGeachy. 1978. Aspects of bioerosion of modern Caribbean reefs. *Rev. Biol. Trop.* 26 (Supl. 1): 85-105.
- Rosell, D. & M.J. Uriz. 2002. Excavating and endolithic sponge species (Porifera from the Mediterranean: species descriptions and identification key. *Org. Divers. Evol.* 2: 55-86
- Rützler, K. 1974. The burrowing sponges of Bermuda. *Smithsonian Contr. Zool.* 165: 1-32.
- Rützler, K. 1975. The role of burrowing sponges in bioerosion. *Oecologia*. 19: 203–216.
- Rützler, K. 2002a. Family Clionidae D 'Orbigny, 1851. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.), *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 173-185.
- Rützler, K. 2002b. Family Spirastrellidae Ridley & Dendy, 1886. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.), *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 220–223.

- Rützler, K. 2002c. Family Alecetonidae Rosell, 1996. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.), *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. pp. 281–290.
- Schönberg, C.H.L. 2001. New mechanisms in demosponge spicule formation. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 81: 345-346.
- Schönberg, C.H.L. & J.C. Ortiz. 2008. Is sponge bioerosion increasing? *Proc. 11<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp.* 520–523.
- Scott, P.J.B., M.J. Risk & J.D. Carriquiry. 1988. El Niño, Bioerosion and the survival of East Pacific Reefs. *Proc. 6<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp. Australia.* 517–520.
- Soest, R.W.M. van & J.N.A. Hooper. 2002. Family Samidae Sollas, 1888. In J.N.A. Hooper & R.W.M. van Soest (Eds.), *Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges*. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers. 99–101.
- Soest, R.W.M. van., N. Boury-Esnault, J.N.A. Hooper, K. Rützler, N.J. de Voogd, B. Alvarez de Glasby, E. Hajdu, A.B. Pisera, R. Manconi, C. Schoenberg, D. Janussen, K.R. Tabachnick, M. Klautau, B. Picton, M. Kelly, J. Vacelet, M. Dohrmann, M.C. Díaz, P. Cárdenas. 2014 World Porifera database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=170461> on 2014-04-30.
- Spencer, T. & H Viles. 2002. Bioconstruction, bioerosion and disturbance on tropical coasts coral reefs and rocky limestone shores. *Geomorphology.* 48: 23-50.
- Tews, J., U. Brose, V. Grimm, K. Tielbörger, M.C. Wichmann, M. Schwager & F. Jeltsch. 2004. Animal species diversity driven by habitat heterogeneity/diversity: the importance of keystone structures. *J. Biogeogr.* 31: 79–92.

- Thomas, P.A. 1972. Boring sponges of the reefs of Gulf of Mannar and Palk Bay. In Mukundan, C. & C.S.G. Pillai (eds.). Proc. 1<sup>st</sup> Symp. Corals Coral Reefs (1969). Mar. Biol. Assoc. India, Mandapam Camp, India.
- Uriz, M.J. 2006. Mineral skeletogenesis in sponges. Can. J. Zool. 84: 322-356.
- Uriz, M.J., X. Turon, M.A. Becerro & G. Agell. 2003. Siliceous spicules and skeleton frameworks in sponges: origin, diversity, ultrastructural patterns, and biological functions. Microsc. Res. Techniq. 62: 279-299
- Urteaga, D. & G. Pastorino. 2007. *Pione angelae* sp. nov. (Porifera: Hadromerida: Clionaidae) a new species of boring sponge inhabiting pagurized shells from the south-western Atlantic. J. Mar. Biol. Assoc. U.K. 87: 1431–1439.
- Vega, C. 2012. Composición y afinidades biogeográficas de esponjas (Demospongiae) asociadas a comunidades coralinas del Pacífico Mexicano. Tesis doctoral. Instituto Politécnico Nacional. México. p.231.
- Veron, J.E.N., O. Hoegh-Guldberg, T.M. Lenton, J.M. Lough, D.O. Obura, P. Pearce-Kelly, C.R.C. Sheppard, M. Spalding, M.G. Stafford-Smith, A.D. Rogers. 2009. The coral reef crisis: The critical importance of <350 ppm CO<sub>2</sub>. Mar. Pollut. Bull. 58: 1428-1436.
- Wild, C., O. Hoegh-Guldberg, M.S. Naumann, M.F. Colombo-Pallotta, M. Ateweberhan, W.K. Fitt, R. Iglesias-Prieto, C. Palmer, J.C. Bythell, J.C. Ortiz, Y. Loya & R. van Woesik. 2011. Climate change impedes scleractinian corals as primary reef ecosystem engineers. Mar. Freshwater Res. 62: 205–215.
- Wilkinson, C. 2008. Status of Coral Reefs of the World: 2008. Global Coral Reef Monitoring Network and Reef and Rainforest Research Center. Townsville, Australia. p. 298.
- Wulff, J. 2001. Assessing and monitoring coral reef sponges: why and how? B. Mar. Sci. 69: 831–846.

- Zea, S., C. Duque, L. Castellanos, A. Chaves-Fonnegra, J.C. Márquez & O. Osorno. 2007. Impacto de esponjas excavadoras incrustantes en arrecifes del Caribe Colombiano II: mecanismos biológicos y químicos de agresión contra corales arrecifales. Informe Temático Divulgativo, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. p. 59.
- Zea, S., & E. Weil. 2003. Taxonomy of the Caribbean excavating sponge species complex *Cliona caribbaea* - *C. aprica* - *C. langae* (Porifera, Hadromerida, Clionaidae). Caribb. J. Sci. 39: 348–370.
- Zundeleovich, A., B. Lazar & M. Ilan. 2007. Chemical versus mechanical bioerosion of coral reefs by boring sponges - lessons from *Pione* cf. *vastifica*. J. Exp. Biol. 210: 91-96.

## Capítulo II:

### **Análisis morfológico y filogeográfico de la esponja *Cliona mucronata*: ¿especie cosmopolita o especies hermanas?**

#### **INTRODUCCIÓN**

Durante los últimos años, la taxonomía de Porifera basada en el estudio de los elementos espiculares y otras características morfológicas, ha sido apoyada por estudios de sistemática molecular (Erpenbeck & Wörheide 2007). Estos han ayudado a responder muchas interrogantes sin embargo, aún quedan temas importantes por resolver, entre ellos: el origen monofilético o parafilético del Filo, las relaciones filogenéticas entre algunas clases, órdenes y familias, así como el supuesto cosmopolitanismo de numerosas especies que se piensa poco probable debido a su limitada capacidad de dispersión (Borchiellini et al. 2000, Cardenas 2010).

En algunos casos, los estudios moleculares han demostrado que los procesos de especiación no siempre van acompañados de una diferenciación morfológica que permita distinguir entre una especie u otra (Avice et al. 1994). Un ejemplo de especiación críptica es el complejo *Cliona celata*, que en el pasado era considerada como una especie cosmopolita, sin embargo recientemente se ha sugerido que está constituido de varias especies aisladas con diferencias genéticas sustanciales pero que conservan similitud morfológica (Xavier et al. 2010).

La especie *C. mucronata*, fue descrita originalmente en el Océano Índico por Sollas en 1878. El autor presentó una narración tipo crónica, como se permitía en la época, donde menciona cómo se encuentra con dos esponjas perforadoras en un coral del género *Isis*, asignándole a una de ellas el nombre según la terminación puntiaguda de sus espículas tilostilos, que describe como terminaciones mucronas, adjetivo utilizado en botánica y zoología proveniente del latín mucronis (genitivo, masculino), que hace referencia a una punta, especialmente a punta de espada.

En su descripción original, Sollas describe tres tipos de espículas, tilostilos largos (185,4  $\mu\text{m}$  promedio), espículas mucronadas (101,6  $\mu\text{m}$  promedio) y espirásteres (15,2  $\mu\text{m}$  promedio). Un siglo más tarde, Thomas (1972) describe a *C. mucronata* para el Océano Índico, haciendo notar la ausencia de espirásteres o cualquier otro tipo de microscleras.

En 1976, Vacelet et al. reportan a esta especie en las costas de Madagascar, en esta ocasión con presencia de espirásteres. Para el año 2000, Calcinai et al. describen la especie de nuevo sin espirásteres incluso proveniente de la misma región en la que Thomas había trabajado, en aguas australianas del Índico. Posteriormente, Calcinai et al. (2005) hacen la descripción para *C. mucronata* con base a especímenes de Indonesia y Filipinas. En este último se encuentran ocasionalmente algunos anfiásteres además de espirásteres.

En años recientes, ha sido reportada *C. mucronata* fuera del Océano Índico mediante registros. En el POT mexicano (Bautista-Guerrero et al. 2006), lo cual se consideró un informe erróneo en la base de datos de Porifera (Soest 2014), debido a su presencia en una región incomunicada con el Océano Índico por la Barrera del Pacífico Oriental. Sin embargo, Rützler et al. (2014) la reportan para el Caribe en costas de Belice como *Cliona* cf. *mucronata*.

En resumen los trabajos de Sollas 1878, Vacelet et al. 1976 y de Calcinai et al. 2005 son los únicos en los que *C. mucronata* se describe con espirásteres. Mientras que los reportes de la especie para el Océano Pacífico Oriental y Caribe generan controversias por haber sido considerados como la misma especie que fue descrita en el Océano Índico.

En este trabajo, se analizaron especímenes de la esponja *Cliona* cf. *mucronata* procedentes del POT mexicano, costarricense y panameño además del Caribe costarricense. Su amplia distribución plantea la pregunta de si ¿es esta, una especie cosmopolita o realmente se tienen especies hermanas?. A continuación se propone abordar esta pregunta desde el punto de vista de la sistemática y la filogeografía y así dilucidar una posible respuesta.

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Análisis morfológico**

El análisis morfológico se realizó de la misma forma que el descrito en el capítulo 1. Pero además se añade un análisis estadístico para comparar las mediciones de las espículas y un análisis con marcadores moleculares (COI y D2).

Durante este trabajo, a la “espícula mucronada” se le llamará “tilostilo ensiforme” ya que realmente no todas las espículas que entran en el rango de mucronadas tienen una terminación mucrona, algunas tienen terminación redondeada. Los especímenes utilizados en esta parte y los sitios de los que provienen se detallan en la siguiente tabla (Tabla 2.1).

Tabla 2.1. Códigos del sitio de estudio de donde provienen los especímenes utilizados en el análisis morfológico.

| Región                | Sitio         | Espécimen |
|-----------------------|---------------|-----------|
| Caribe                | Cahuita       | a.Ch1     |
|                       | Cahuita       | a.Ch2     |
|                       | Cahuita       | a.Ch3     |
|                       | Cahuita       | a.Ch4     |
|                       | Cahuita       | a.Ch5     |
|                       | Cahuita       | a.Ch6     |
|                       | Cahuita       | a.Ch7     |
| POT sur<br>Costa Rica | Bahía Salinas | b.BS1     |
|                       | Bahía Salinas | b.BS2     |
|                       | Bahía Culebra | c.Cu      |
|                       | Esmeralda     | d.E1      |
|                       | Esmeralda     | d.E2      |
|                       | Four Seasons  | e.FS      |
|                       | Riu           | f.R1      |
|                       | Riu           | F.R2      |
| POT norte<br>México   | San Lorenzo   | g.SL      |
|                       | Islas Marías  | h.IM      |
|                       | Isla Isabel   | i.II      |
|                       | Revillagigedo | j.Rev     |
|                       | Michoacán     | k.Mi      |
|                       | San Agustín   | l.SA1     |
|                       | San Agustín   | l.SA2     |

Nota: El sitio se repite según el número de especímenes tomados en cuenta.

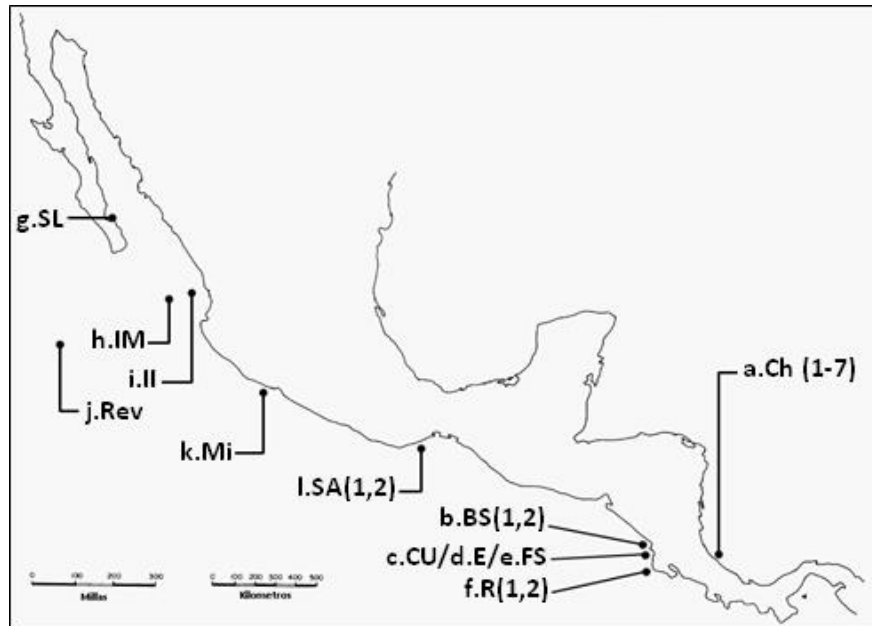


Fig. 2.1. Localidad de los especímenes recolectados y utilizados para el análisis morfológico.

## **Análisis estadístico**

Se hicieron preparaciones de la esponja *Cliona* cf. *mucronata* para 22 especímenes de localidades variadas del Pacífico de Costa Rica y México así como del Caribe de Costa Rica.

Se realizaron mediciones en los siguientes factores: largo, ancho y tilo (cabeza) para cada tipo espicular, dos en este caso: tilostilos ensiformes y tilostilos largos.

Para observar si hay variación de morfológica por región, se tomaron mediciones de alrededor de 30 espículas de cada tipo para cada espécimen, de estas se obtuvo un promedio y para estimar la variación morfológica en las regiones se utilizaron los datos promedios para cada factor por espécimen que fue agrupado por región (POT norte, POT sur y Caribe) para poder ser comparados.

Se verificó la normalidad de los datos de promedio agrupados por región a través de un gráfico de distribución normal (Q-Q Plot) y se realizó la prueba Shapiro-Wilk, los datos presentaron una distribución normal a excepción de las mediciones de tilo para el POT sur, sin embargo se asumió también la normalidad considerando el teorema de límite central.

Se realizó gráficos de cajas con bigotes, que representan la mediana, el 1er y 3er cuartil (límites inferior y superior de la caja), y la distancia del cuartil por 1.5 desde la caja (bigotes) y T Student para visualizar la dispersión de los datos y analizar si existen diferencias significativas entre las dimensiones de las espículas de cada espécimen y los promedios por región. Este análisis se realizó con el programa JMP Statistical Discovery, SAS Institute Inc. Cary, NC, USA. 2007.

## **Análisis molecular**

Para el análisis a nivel molecular, se seleccionaron dos marcadores, uno nuclear y otro mitocondrial. Si bien los metazoos más antiguos como las esponjas han demostrado tener un lento proceso evolutivo para el gen Citocromo Oxidasa C subunidad 1 (COI) en

comparación con otros fil, el fragmento COI ADNm de Folmer ha sido usado exitosamente para definir diferencias a nivel de especies y estudios poblacionales para algunos grupos (e.g. Erpenbeck et al. 2007, Cárdenas 2010). Desde el punto de vista filogeográfico este marcador es muy utilizado al no ser recombinante y debido a su herencia casi exclusivamente materna con lo que los haplotipos registran la historia matrilineal de eventos mutacionales (Domínguez-Domínguez & Vázquez-Domínguez 2009).

Adicionalmente el marcador molecular nuclear del fragmento 28S ADNr (D2) ha sido usado recientemente en filogenia de esponjas probando ser adecuado en las relaciones entre familia, género y especie debido a la variabilidad que presenta (Borchiellini et al. 2000, Usher et al. 2004, Cárdenas 2010). Además, el añadir un marcador nuclear y hacer reconstrucciones de más de un gen incrementa la probabilidad de que la historia filogeográfica que se obtenga sea de la especie y no del gen (Domínguez-Domínguez & Vázquez-Domínguez 2009).

Para el análisis molecular, se extrajo el ADN a través de un kit de extracción Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega®). Se tomó un fragmento del ejemplar y se colocó en el buffer de extracción para proceder con la purificación. Paso seguido se verificó la presencia de ADN en geles de agarosa (1.5%). El ADN extraído se mantuvo en congelación (-20° C) para evitar su degradación.

Posteriormente se procedió a amplificar, por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), los loci seleccionados. Los cebadores utilizados se muestran en el cuadro 2.2.

En el laboratorio se optimizaron los protocolos de PCR para obtener los mejores resultados. La calidad y cantidad de los productos de PCR fueron separados y verificados mediante electroforesis con geles de agarosa (1.5%), posteriormente teñidos con Bromuro de Etidio (0.5 µg/ml) durante 15 min y visto bajo luz UV. Para corroborar el tamaño se incluyó en el gel una escalera de peso molecular con rango de 100 a 1013 pb.

Tabla 2.2. Información de los cebadores utilizados para el análisis molecular de *C. mucronata*.

| Nombre de cebadores              | Secuencia                                    | Referencia          |
|----------------------------------|----------------------------------------------|---------------------|
| <u>Región mitocondrial COX 1</u> |                                              |                     |
| LCO1490                          | 5' - GGTC AAC AAA TCA TAA AGA TAT TGG - 3'   | Folmer et al. 1994  |
| dgHCO2198                        | 5' - TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA - 3' | Meyer et al. 2005   |
| <u>Región nuclear 28SD2</u>      |                                              |                     |
| 28S a                            | 5' - GAC CCG TCT TGA AAC ACG GA - 3'         | Whiting et al. 1997 |
| 28S b                            | 5' - TCG GAA GGA ACC AGC TAC - 3'            | Whiting et al. 1997 |

Las localidades donde se recolectaron los especímenes de *C. cf. mucronata* para el análisis molecular se muestran en la figura 2.2.

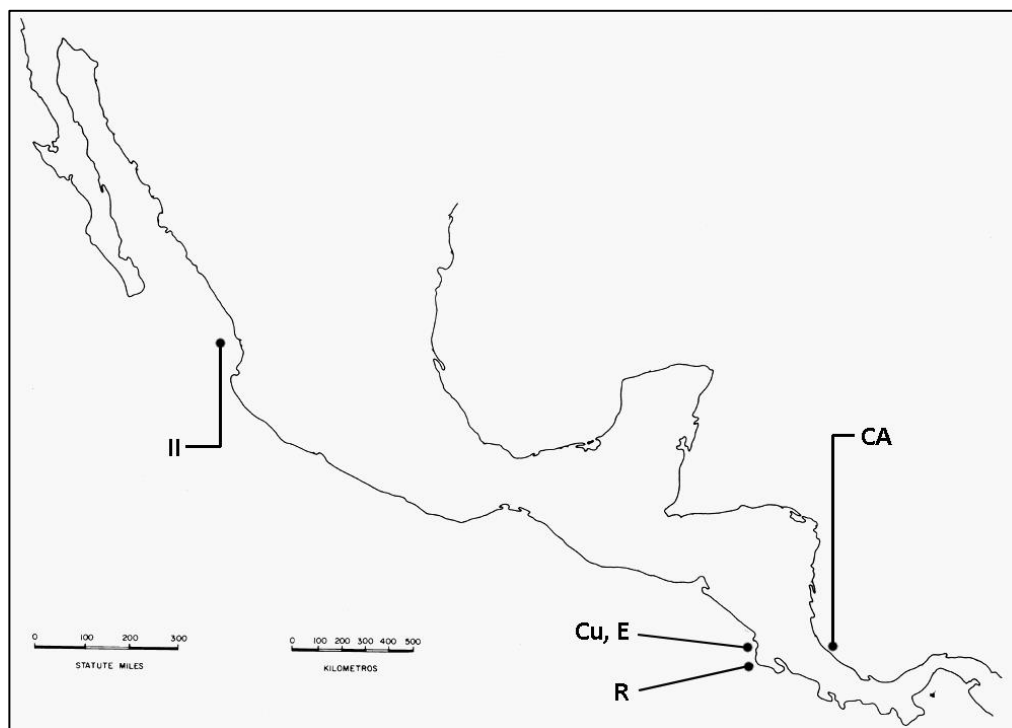


Fig. 2.2. Localidad de las muestras recolectadas y utilizadas para el análisis molecular.

## **Análisis de los datos obtenidos de los marcadores moleculares**

Los productos de PCR se limpiaron enzimáticamente para su secuenciación siguiendo el protocolo del kit de purificación (Promega®). Una vez limpio el producto de PCR, las hebras fueron enviadas y secuenciadas en la Corporación MacroGen. La identidad de las secuencias fue comprobada mediante un análisis de similitud de secuencias con la herramienta bioinformática Blast en GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/Blast.cgi>).

Para el análisis molecular se utilizaron los programas: CodonCode Aligner versión 2.0.1 para el editaje de las secuencias, así como Mega versión 6.06 para alineamientos, generar modelos evolutivos y reconstruir la filogenia con los métodos de:

- i) Máxima Verosimilitud, que es el método en el que se estima la probabilidad de qué tan bien la matriz de los datos es explicada por los árboles filogenéticos, para esto calcula cada árbol posible (Peña 2011).
- ii) Neighbor-Joining, en el que se comparan y unen las secuencias en base a la distancia genética similares; este algoritmo es preferido para estudios de código de barras molecular ya que los individuos pertenecientes a una misma especie formarán grupos aislados debido a su alto nivel de semejanza (Peña 2011). Sin embargo este árbol no refleja relaciones evolutivas.
- iii) Máxima Parsimonia, que asume que todos los caracteres heredables son tratados con el mismo peso. El árbol que este método realiza es aquel que implica la mínima cantidad de cambios evolutivos que expliquen una determinada matriz de caracteres (Peña 2011).

Para el análisis se utilizaron los valores bootstrap que fueron calculados con 1000 replicaciones. Estos sustentan las divisiones en el cladograma. En los análisis se incluyen secuencias de especies distintas para generar grupos externos. Estas secuencias también fueron tomadas del GenBank.

## RESULTADOS

### Descripción morfológica de la especie

#### ***Cliona cf. mucronata* Sollas, 1878**

##### Sinonimia

*Cliona mucronata* Sollas, 1878. *Cliona mucronata* Thomas 1972; Vacelet & Vasseur 1971; Desqueyroux-Faúndez 1981; Calcinai *et al.* 2005; Bautista-Guerrero *et al.* 2006; Rützler *et al.* 2014.

##### Material examinado

CIMAR- BS-SA01, CIMAR-BS-11, CIMAR-BS-19: Bahía Salinas, 16 m. 8.XII.2010, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-BS-21, CIMAR-BS-22, CIMAR-BS-23, CIMAR-BS-25, CIMAR-BS-26, CIMAR-BS-50, CIMAR-BS-52, CIMAR-BS-53: Bahía Salinas, 8 a 20 m, 3.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-CU-05, CIMAR-CU-09(II), CIMAR-CU-09(III), CIMAR-CU-09(IV), CIMAR-CU-09(V), CIMAR-CU-05, CIMAR-CU-08, CIMAR-CU-14: Bahía Culebra, 8 a 15 m. 21.III.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-CU-120, CIMAR-CU-123, CIMAR-CU-127, CIMAR-CU-200, CIMAR-CU-201, CIMAR-CU-210/1, CIMAR-CU-191(I), CIMAR-CU-191(II), CIMAR-CU-191(III), CIMAR-CU-191(IV), CIMAR-CU-191(V): Bahía Culebra, 8 a 15 m, 18.VI.2011, Cristian Pacheco Solano. CIMAR-IC-21, CIMAR-IC-32: Isla del Caño, 10 m, 12.II.2011, Cristian Pacheco Solano. Cmu.146.II: Isla Isabel, México, 2 a 3 m, 1.III.2013, Cristian Pacheco Solano. Cmu.147.II: Isla Isabel, México, 2 a 3 m, 1.III.2013, Cristian Pacheco Solano. Cmu.148.II: Isla Isabel, México, 2 a 3 m, 1.III.2013, Cristian Pacheco Solano. Cmu.149.II: Isla Isabel, México, 2 a 3 m, 1.III.2013, Cristian Pacheco Solano. Cmu.58.Ca: Cahuita, Caribe de Costa Rica, 3 a 6 m, 23.X.2012.

La esponja perforadora tiene un modo de vida endolítico y papilas que salen a la superficie, su coloración en vivo es naranja, y preservada es parda. Las papilas poseen un diámetro promedio de 330  $\mu\text{m}$ , y no se observó fusión entre ellas. Los especímenes se encontraron en coral vivo y muerto de *Pavona* sp. y coral muerto de *Porites lobata* y *Pocillopora* sp. además de conchas de moluscos muertos.

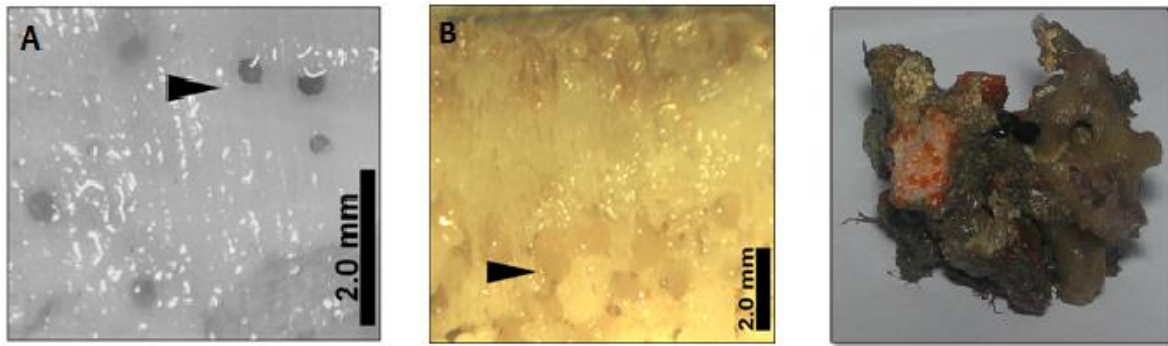


Fig. 2.3. Fotos de *C. cf. mucronata*. A) Papilas (flecha), B) Cámaras de perforaciones con tejido preservado (flecha), C) Perforaciones con tejido vivo y su coloración característica.

Presenta megascleras de los siguientes tipos: (i) tilostilos largos y delgados, levemente curvados y con longitudes entre los 92,5  $\mu\text{m}$  y los 247  $\mu\text{m}$  para un promedio de 142,4  $\mu\text{m}$ , y de 1,0 a 10,0  $\mu\text{m}$  de ancho con un promedio de 3.1  $\mu\text{m}$  y un tilo de 2,5 a 10,0  $\mu\text{m}$  de diámetro. En ocasiones pueden tener doble tilo o este estar desplazado hacia el centro. (ii) Tilostilos ensiformes cortos, también son levemente curvados con cabeza esférica, ovoide o altamente modificada incluyendo centrotílo y longitudes que van desde los 27,5 a los 115  $\mu\text{m}$  con un promedio de 78,8  $\mu\text{m}$ , exhibiendo grosores entre 1 a 17,5  $\mu\text{m}$  y con un promedio de 6,0  $\mu\text{m}$  con cabezas de diámetros entre los 2,5 a los 20  $\mu\text{m}$  para un promedio de 8,4  $\mu\text{m}$ .

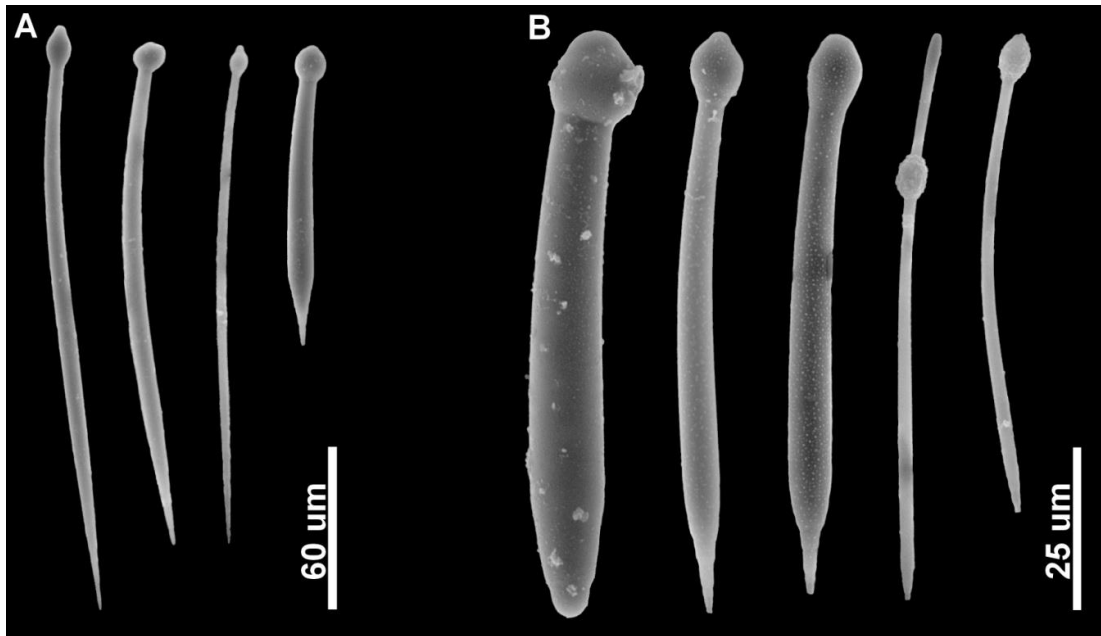


Fig. 2.4. Espículas de *C. cf. mucronata* al MEB. A) Variación morfológica en los tilostilos, B) Tilostilos ensiformes cortos característicos, a mayor magnificación.

Algunos especímenes mostraron un tercer y hasta cuarto tipo espicular que son fáciles de pasar por alto debido a su poca abundancia. Estos son estilos y oxas de forma particular a las que llamaré oxa-mucronas por sus extremos mucrones. No son tan comunes y resultaron particularmente notorios en especímenes de las Islas Revillagigedo, Islas Marías y Michoacán (México) sin embargo en especímenes de Costa Rica también aparece aunque en menor cantidad o incluso rara vez. Las puntas mucronas de los tilostilos ensiformes también presentaron modificaciones.

Si bien las mediciones de los estilos (iii) entran en el rango de los tilostilos y se diferencian simplemente por la ausencia de tilo, se registró un rango de longitud de 32,5 a 142,5  $\mu\text{m}$  con un promedio de 100  $\mu\text{m}$  y un grosor entre 2,5 a 7,5  $\mu\text{m}$  con promedio de 4,2  $\mu\text{m}$  (N = 11). El bajo número de estilos puede ser debido a deformaciones en los tilostilos largos y ensiformes. (iv) Las oxamucronas son pequeñas y con puntas agudas (mucronas). Las mediciones de longitud son de 39,9 a 180,0  $\mu\text{m}$  con un promedio de 76 y un rango de grosor de 2,5 a 7,5  $\mu\text{m}$  (N = 33). Estas se observaron más frecuentemente pero aun así, no fue posible encontrar más de 15 oxas en una preparación microscópica, algunos casos solo

presentaban una o dos, esto es relativamente muy bajo con respecto a las otras espículas tilostilos por lo que se deja registro de esa capacidad que tiene la especie. Sin embargo, al ser espículas raras, no se tomaron en cuenta para el análisis estadístico.

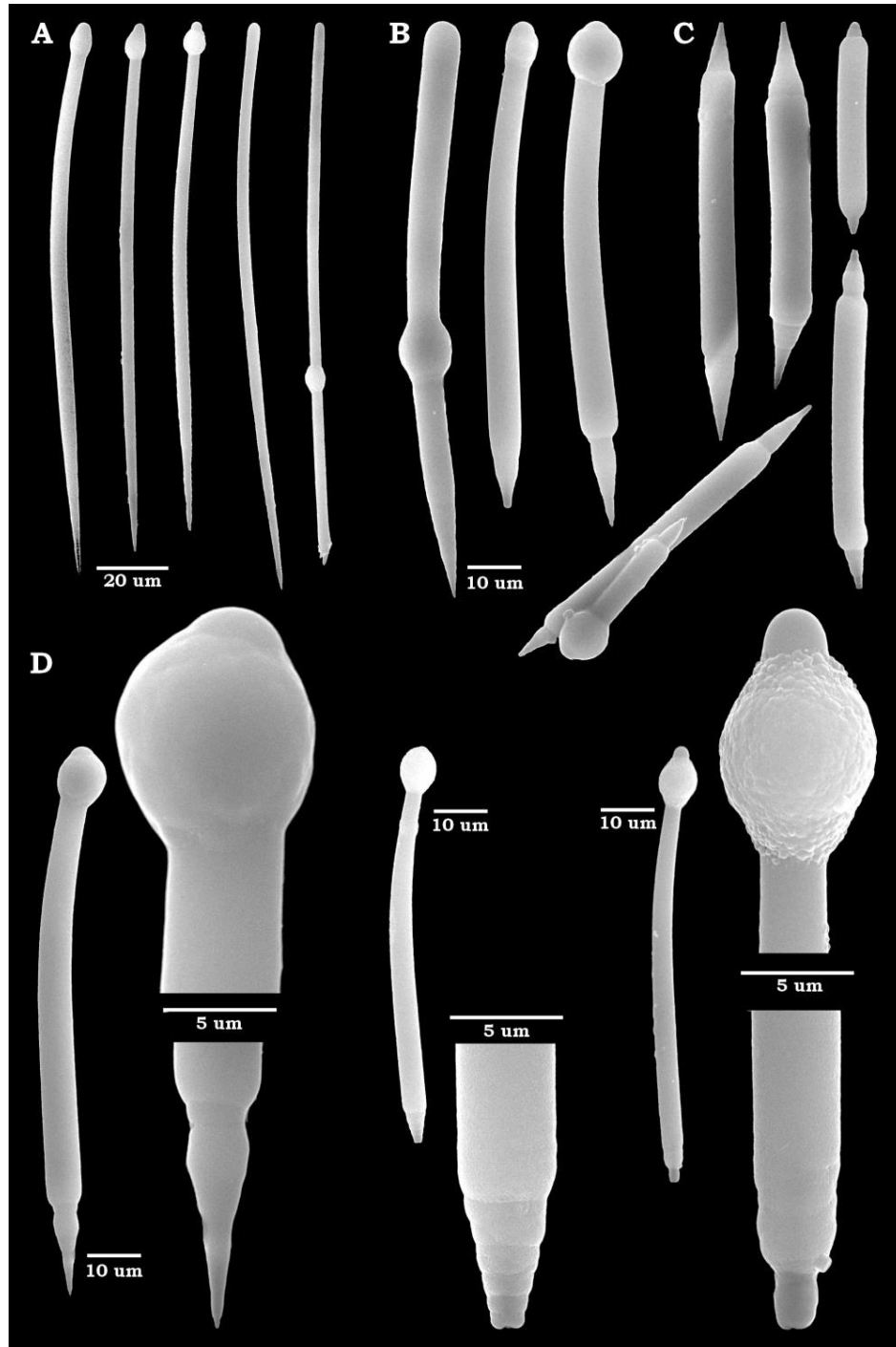


Fig. 2.5. A) Tilostilos largos y modificaciones a estilo o centrotíloles. B, D) Tilostilos ensiformes con modificaciones en las puntas. C) Oxamucronas.

Las perforaciones son poligonales, y las cámaras en promedio tienen un diámetro de 1 mm y posee ductos de unión con un grosor de 0.131 mm. En ocasiones se puede ver fusión de estas. Las marcas de perforación son áreas poligonales con diámetros entre los 24 y 66  $\mu\text{m}$ .

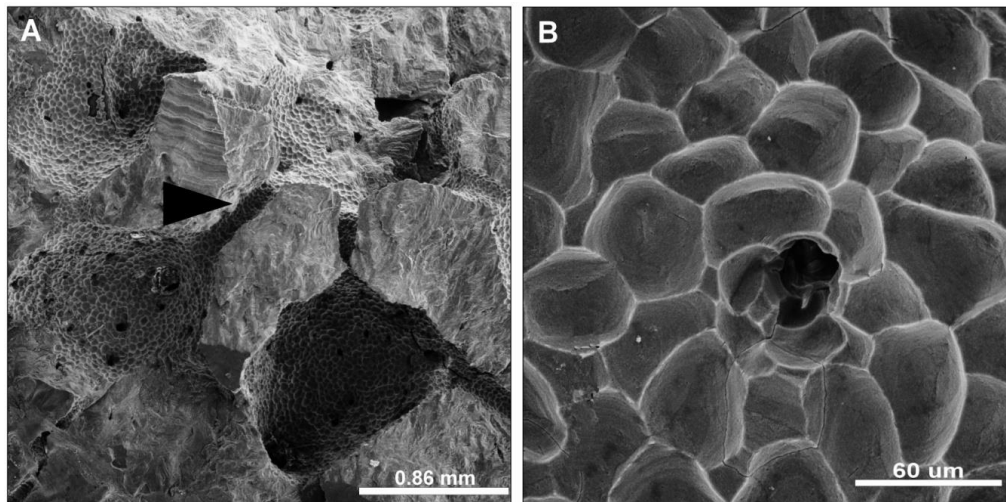


Fig. 2.6. Perforaciones de *C. cf. mucronata* al MEB. A) Cámaras de perforación y ductos de unión (señalados en la imagen), B) Marcas de perforación con perforación hecha por pseudopodios pioneros.

### Análisis morfológico

Se analizó la variabilidad espicular en los especímenes de *C. cf. mucronata* recolectados en cada región, tomando como factores la longitud, ancho y tilo para cada tipo espicular: tilostilos largos y tilostilos ensiformes para siete especímenes del Caribe, siete para el POT mexicano y ocho para el POT costarricense.

Se debe tener en cuenta que la edad del organismo no afecta estos factores ya que estos están dados desde el inicio por el núcleo protéico que les da la forma y la edad solo genera que haya una mayor o menor deposición de Silicio alrededor de ese núcleo.

Tabla 2.3. Rango de mediciones, promedios (entre paréntesis) y desviación estándar para cada factor en los tilostilos ensiformes. Los sitios han sido ordenados por su posición geográfica de norte a sur en el POT y Caribe. N representa el total de espículas medidas.

|                      |       | Tilostilos ensiformes   |           |                      |           |                      |           | N  |
|----------------------|-------|-------------------------|-----------|----------------------|-----------|----------------------|-----------|----|
| Sitios               |       | Longitud                | Desv.Est. | Grosor               | Desv.Est. | Tilo                 | Desv.Est. |    |
| Caribe               | a.Ch1 | 87.5 - (112.5) - 145    | 12.7      | 2 - (11.15) - 20     | 4.9       | 3 - (11.9) - 17.5    | 4.2       | 31 |
|                      | a.Ch2 | 105.0 - (125.2) - 147.5 | 11.9      | 12.5 - (18.6) - 22.5 | 2.1       | 12.5 - (18.9) - 25.0 | 2.4       | 31 |
|                      | a.Ch3 | 102.5 - (118.4) - 142.5 | 8.7       | 12.5 - (17.0) - 20.0 | 1.6       | 16.3 - (18.6) - 22.5 | 1.7       | 30 |
|                      | a.Ch4 | 80.0 - (116.7) - 140.0  | 17.7      | 2.5 - (13.2) - 18.7  | 5.6       | 5.0 - (14.3) - 20.0  | 4.7       | 31 |
|                      | a.Ch5 | 95.0 - (118.3) - 135.0  | 10.4      | 8.7 - (14.8) - 17.5  | 2.5       | 7.5 - (15.9) - 20.0  | 2.7       | 30 |
|                      | a.Ch6 | 97.5 - (117.5) - 142.5  | 9.4       | 5.0 - (16.6) - 21.3  | 3.5       | 8.8 - (17.7) - 22.5  | 3.3       | 30 |
|                      | a.Ch7 | 85.0 - (110.6) - 125.0  | 10.9      | 6.3 - (15.7) - 21.3  | 3.7       | 10.0 - (16.5) - 22.5 | 3.2       | 30 |
| POT sur (Costa Rica) | b.BSa | 45 - (72.5) - 95        | 9.7       | 2.5 - (1.3) - 7.5    | 1.3       | 2.5 - (6.3) - 8.8    | 1.5       | 25 |
|                      | b.BSb | 65 - (78.7) - 105       | 10.6      | 2.5 - (3.9) - 6.3    | 1.3       | 5 - (6.2) - 10       | 1.3       | 25 |
|                      | c.Cu  | 67.5 - (86.6) - 97.5    | 8.4       | 3 - (5.5) - 8.8      | 1.7       | 5 - (7.5) - 10       | 1.7       | 20 |
|                      | d.E1  | 50 - (81.1) - 102.5     | 11.0      | 1 - (7.6) - 12.5     | 3.5       | 2.5 - (9.0) - 12.5   | 3         | 27 |
|                      | d.E2  | 52.5 - (82.9) - 107.5   | 12.3      | 2.5 - (5.8) - 10     | 2.7       | 5 - (2.3) - 12.5     | 2.3       | 26 |
|                      | e.FS  | 31.3 - (82.3) - 115     | 8.2       | 2.5 - (9.0) - 17.5   | 4.2       | 7 - (11.8) - 20      | 3.7       | 25 |
|                      | f.R1  | 67.5 - (84.7) - 110     | 9.3       | 2.5 - (5.5) - 11.3   | 2.6       | 5 - (8.0) - 12.5     | 2.2       | 25 |
|                      | f.R2  | 72 - (87.1) - 115       | 10.1      | 2.5 - (6.3) - 10     | 2.2       | 5 - (8.9) - 12.5     | 2.2       | 26 |
| POT norte (México)   | g.SL  | 37.5 - (71.8) - 97.5    | 13.7      | 2.5 - (5.5) - 10     | 1.9       | 3.8 - (8.4) - 12.5   | 2         | 26 |
|                      | h.IM  | 27.5 - (75.5) - 108.5   | 19.2      | 2.5 - (5.7) - 8.8    | 1.3       | 5.9 - (8.6) - 12.5   | 1.5       | 33 |
|                      | i.II  | 50.0 - (80.4) - 110     | 12.5      | 2.5 - (6.3) - 10     | 1.8       | 5 - (8.9) - 12.5     | 2.1       | 25 |
|                      | j.Rev | 62.5 - (77.9) - 95      | 8.4       | 2.5 - (6.0) - 10     | 2.3       | 5 - (9.5) - 12.5     | 2         | 25 |
|                      | k.Mi  | 40 - (73.4) - 102.5     | 13.7      | 2.5 - (5.3) - 7.5    | 1.4       | 2.5 - (7.9) - 10     | 1.9       | 25 |
|                      | l.SA1 | 27.5 - (73.1) - 87.5    | 14.4      | 5 - (6.9) - 10       | 1.6       | 5 - (7.6) - 10       | 1.5       | 26 |
|                      | l.SA2 | 60 - (77.4) - 105       | 10.5      | 2.5 - (5.8) - 7.5    | 1.5       | 7.5 - (8.6) - 12.5   | 1.3       | 26 |

Al observar los resultados de las mediciones de las espículas ensiformes por espécimen, se aprecia una tendencia en donde los especímenes con menor promedio longitudinal de espículas desde g.SL a l.SA2, se ubicaron al norte del POT (México), mientras que los especímenes con mayor promedio longitudinal de espículas desde b.BSa a f.R2 se ubicaron al sur del POT (Costa Rica) y el promedio longitudinal de espículas para los especímenes del Caribe (a.Ch) excede por mucho a las espículas de los especímenes del POT.

Cuando se comparó mediante un diagrama de caja las medidas de: longitud, grosor y tilo de los tilostilos ensiformes, se realizó la Prueba T y se agruparon los especímenes por similitud. Los resultados obtenidos de estos análisis se presentan a continuación.

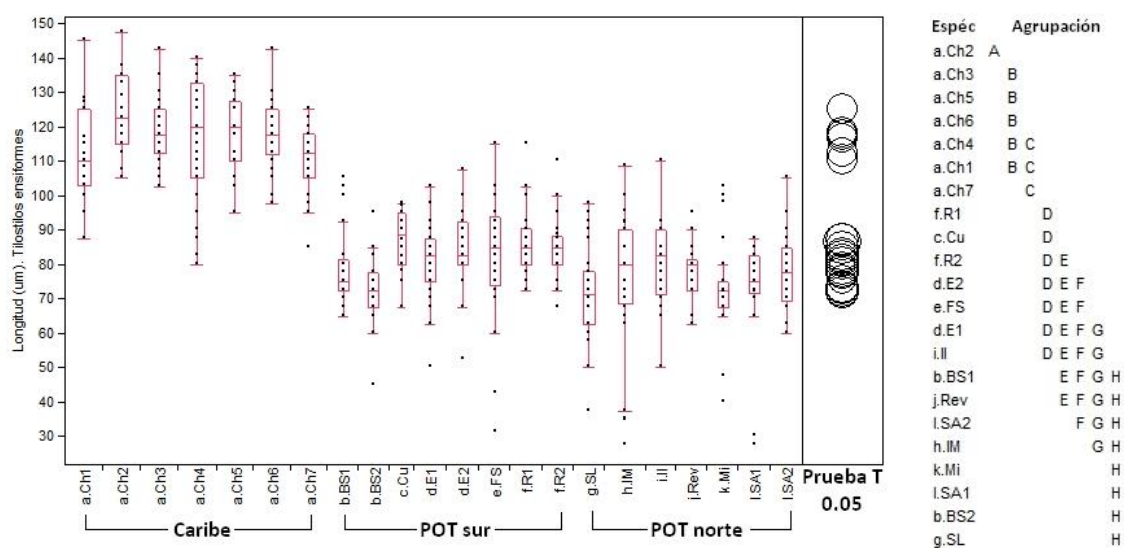


Fig. 2.7. Diagrama de caja para la longitud de los tilostilos ensiformes por espécimen y resultado de la Prueba T con la agrupación por similitud (representados por el traslape de círculos y las letras compartidas).

La Prueba T realiza círculos para cada espécimen, el radio de estos está dado por el intervalo de confianza, debido a que para cada espécimen se midió un número similar de espículas (alrededor de 30) todos los círculos tienen un intervalo parecido. Por otro lado, las similitudes entre especímenes genera un traslape entre círculos, mientras que especímenes diferentes generan círculos separados. A esto se añade un agrupamiento por similitud a través de letras. Especímenes agrupados con una misma letra muestran similitudes entre ellos y especímenes con letras diferentes muestran mayores diferencias.

La Prueba T mostro una diferencia significativa para el Caribe al considerar la longitud de los tilostilos ensiformes ( $p < 0,0001$ ), no es así para los especímenes a lo largo del POT en los cuales los valores extremos del espécimen de Isla Isabel (3II), México, se

agrupa con los del sur y los especímenes de Bahía Salinas (7BSa), Costa Rica, se agrupan con el norte. Se aprecia una gradualidad en el POT a diferencia del Caribe. El resultado para los demás factores, se expone a continuación.

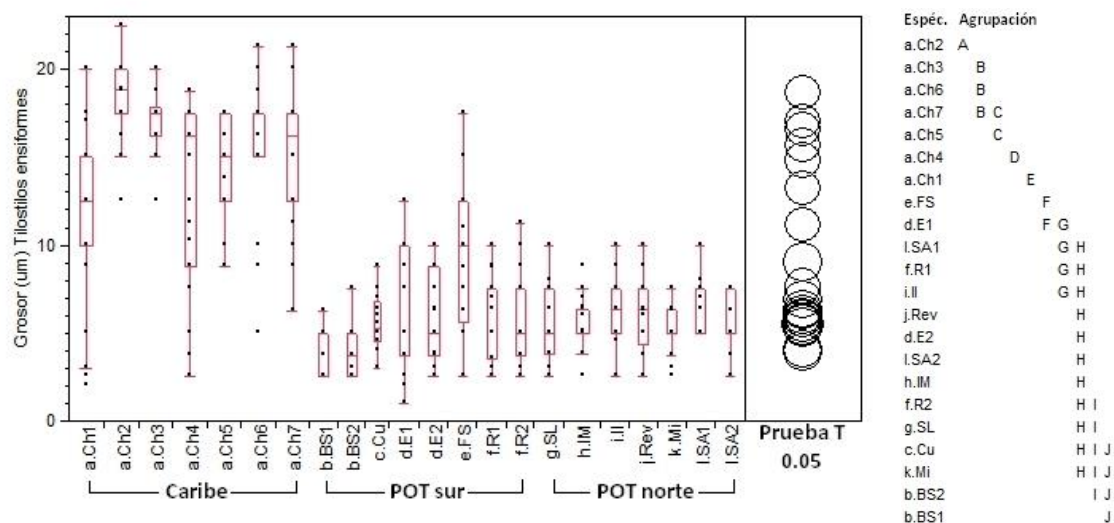


Fig. 2.8. Diagrama de caja para el grosor de los tilostilos ensiformes por especimen y resultado de la Prueba T con la agrupación por similitud.

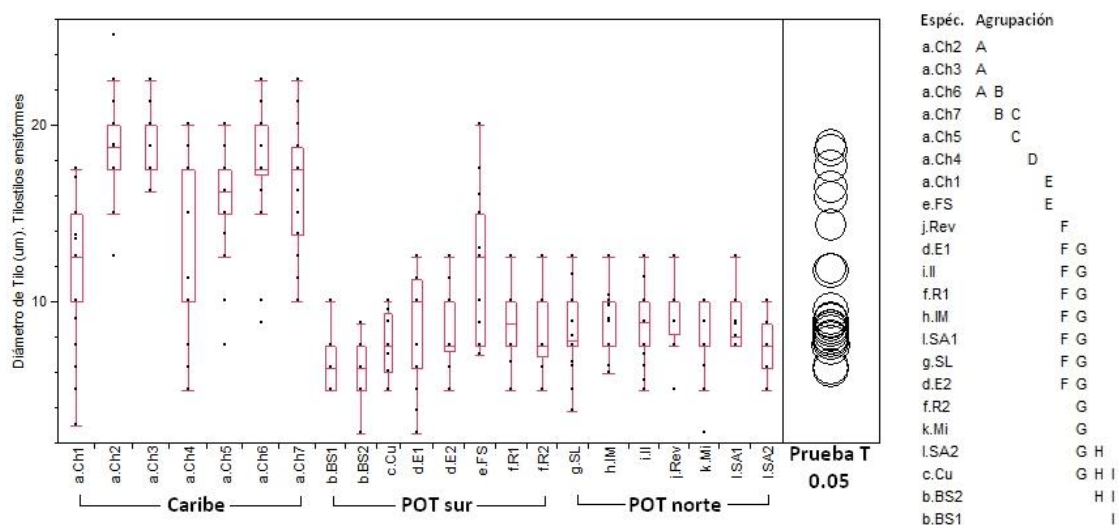


Fig.2.9. Diagrama de caja para el diámetro del tilo en los tilostilos ensiformes por especimen y resultado de la prueba T con la agrupación por similitud.

En los resultados de la Prueba T para el grosor, se observó la diferencia del Caribe así como un espécimen de Costa Rica (8FS). Con respecto a los demás especímenes no forman grupos coincidentes con regiones específicas, más bien se da una mezcla de especímenes, lo mismo sucede al considerar el tilo pero en este último caso, 8FS (Costa Rica) acompaña a 9ZCh (Caribe).

El resultado de las mediciones de los tilostilos largos para: longitud, grosor y diámetro de tilo se resumen en las siguientes tablas y figuras.

Tabla 2.4. Rango de mediciones y entre paréntesis promedios además de desviación estándar para cada factor de los tilostilos largos. Los sitios han sido ordenados por posición geográfica de norte a sur en el POT y Caribe. N representa el total de espículas medidas.

|                      |       | Tilostilos largos       |           |                    |           |                     |           | N  |
|----------------------|-------|-------------------------|-----------|--------------------|-----------|---------------------|-----------|----|
|                      |       | Longitud                | Desv.Est. | Grosor             | Desv.Est. | Tilo                | Desv.Est. |    |
| Caribe               | a.Ch1 | 122 - (197.5) - 225     | 20.1      | 2.5 - (4.9) - 7.5  | 0.8       | 6 - (8.5) - 11.3    | 1.3       | 31 |
|                      | a.Ch2 | 152.5 - (178.2) - 212.5 | 16.3      | 2.5 - (6.9) - 11.3 | 3.4       | 5 - (9.5) - 12.5    | 3.2       | 31 |
|                      | a.Ch3 | 162.5 - (198.1) - 295.0 | 30.2      | 3.8 - (6.8) - 17.5 | 2.9       | 7.5 - (10.3) - 16.3 | 1.9       | 30 |
|                      | a.Ch4 | 142.5 - (189.4) - 235.0 | 21.6      | 2.5 - (5.2) - 10.0 | 2.2       | 5.0 - (8.8) - 12.5  | 2.2       | 31 |
|                      | a.Ch5 | 150.0 - (181.1) - 202.5 | 13.7      | 3.8 - (6.4) - 10.0 | 1.8       | 5.0 - (10.3) - 15.0 | 2         | 30 |
|                      | a.Ch6 | 162.5 - (186.8) - 217.5 | 15.2      | 2.5 - (4.5) - 7.5  | 1.5       | 5.0 - (8.1) - 11.3  | 1.5       | 30 |
|                      | a.Ch7 | 140.0 - (175.1) - 205.0 | 15.3      | 2.5 - (6.8) - 10.0 | 30        | 2.5 - (10.2) - 12.5 | 2.2       | 30 |
| POT sur (Costa Rica) | b.BS1 | 105 - (130.8) - 170     | 16.2      | 2.5 - (2.7) - 3.8  | 0.5       | 2.5 - (5.3) - 7.5   | 1.4       | 25 |
|                      | b.BS2 | 110 - (127.2) - 150     | 11.2      | 2.5 - (2.6) - 3.8  | 0.3       | 5 - (5.2) - 7.5     | 0.6       | 25 |
|                      | c.Cu  | 95 - (142.7) - 247      | 37.8      | 1.5 - (3.8) - 5    | 1.4       | 3.5 - (6.7) - 10    | 1.6       | 20 |
|                      | d.E1  | 100 - (147.3) - 172.5   | 20.4      | 2.5 - (3.0) - 6.3  | 1.2       | 3.8 - (5.4) - 10    | 1.2       | 27 |
|                      | d.E2  | 135 - (172.3) - 205     | 16.8      | 1 - (2.6) - 5      | 0.8       | 3.5 - (5.2) - 7.5   | 0.9       | 26 |
|                      | e.FS  | 115 - (155.7) - 200     | 19.0      | 2 - (4.08) - 10    | 1.9       | 4 - (6.8) - 10      | 1.9       | 25 |
|                      | f.R1  | 122 - (150.7) - 180     | 15.4      | 2.5 - (2.7) - 3.8  | 0.4       | 3.8 - (5.1) - 7.5   | 0.7       | 25 |
|                      | f.R2  | 120 - (156.8) - 210     | 19.0      | 2 - (2.8) - 5      | 0.7       | 5 - (5.4) - 7.5     | 0.7       | 26 |
| POT norte (México)   | g.SL  | 102.5 - (137.3) - 170   | 18.7      | 2.5 - (3.4) - 5    | 1.1       | 3.8 - (6.4) - 10    | 1.4       | 26 |
|                      | h.IM  | 105 - (140.8) - 167.5   | 14.6      | 2.5 - (2.9) - 5    | 0.7       | 3.8 - (5.8) - 7.5   | 1.0       | 33 |
|                      | i.II  | 92.5 - (142.5) - 190    | 19.1      | 2 - (3.1) - 5      | 1.0       | 3.5 - (6.3) - 10    | 1.9       | 25 |
|                      | j.Rev | 115 - (138.6) - 167.5   | 14.0      | 2.5 - (2.9) - 5    | 0.8       | 2.5 - (6.1) - 7.5   | 1.4       | 25 |
|                      | k.Mi  | 100 - (132.6) - 155     | 13.2      | 2.5 - (2.8) - 5    | 0.7       | 3.8 - (5.3) - 7.5   | 0.8       | 25 |
|                      | l.SA1 | 105 - (128.4) - 150     | 12.2      | 2.5 - (3.4) - 5    | 1.1       | 3.8 - (6.1) - 8.8   | 1.4       | 26 |
|                      | l.SA2 | 100 - (132.0) - 160     | 12.5      | 2.5 - (3.5) - 7.5  | 1.2       | 3.8 - (5.7) - 8.8   | 1.2       | 26 |

Al observar los resultados de mediciones de las espículas largas por espécimen, también se aprecia una leve tendencia que mostraron las espículas ensiformes donde los especímenes con menor promedio longitudinal de espículas, de 1SL a 6SAb se ubican al norte del POT (México), mientras que los especímenes con mayor promedio longitudinal de espículas desde 8Cu a 9Rb se ubican al sur (Costa Rica) y el promedio para el espécimen del Caribe (9ZCh) excede por mucho a las espículas del POT. Los especímenes 7BSa, 7BSb mostraron valores mínimos a pesar de estar ubicados en el sur.

Al comparar las mediciones para longitud, grosor y tilo de cada espécimen y realizar el diagrama de caja, la Prueba T y la agrupación por similitud se observó los siguientes resultados.

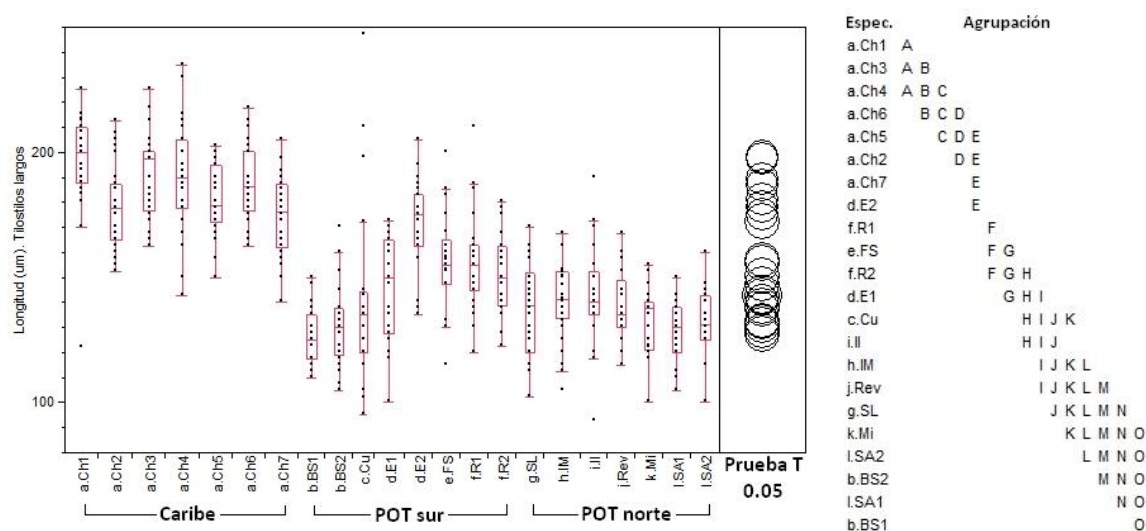


Fig. 2.10. Diagrama de caja para la longitud de los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.

Al analizar los resultados para la longitud, se observaron diferencias para el Caribe. Para el POT los especímenes se regionalizan para el sur y norte del POT (fig. 2.10.) con algunas excepciones (7BSa, 7BSb) en las que perteneciendo al POT sur poseen valores muy

bajos y se agrupan en POT norte. Los demás factores para los tilostilos largos se muestran a continuación.

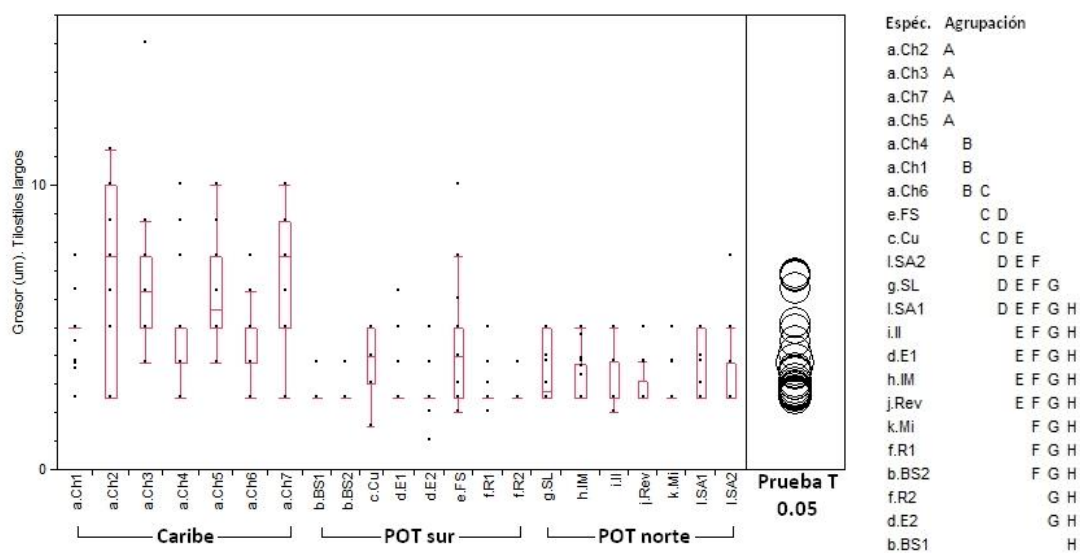


Fig. 2.11. Diagrama de caja para el grosor de los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.

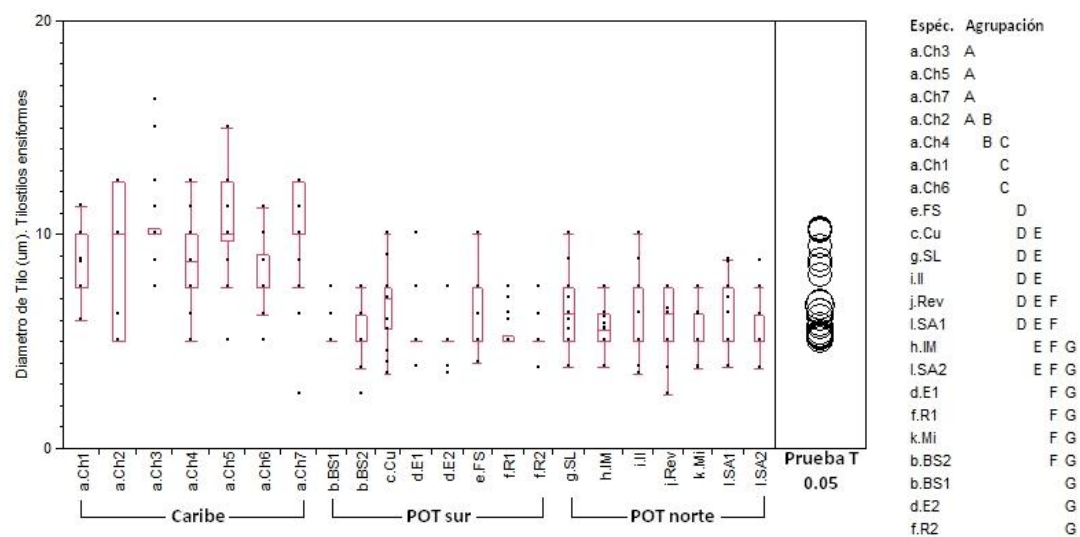


Fig. 2.12. Diagrama de caja para el diámetro del tilo en los tilostilos largos y resultado de la Prueba T con agrupamiento de especímenes por similitud.

Los resultados de grosor y tilo mantienen la separación del Caribe (9ZCh) y se presentan una mezcla entre el resto de especímenes sin una agrupación clara coincidente con las regiones de las que provienen.

El siguiente gráfico resume la información y muestra la tendencia observada en las longitudes de los tilostilos ensiformes y tilostilos largos que presentan los especímenes ordenados de norte a sur del POT.

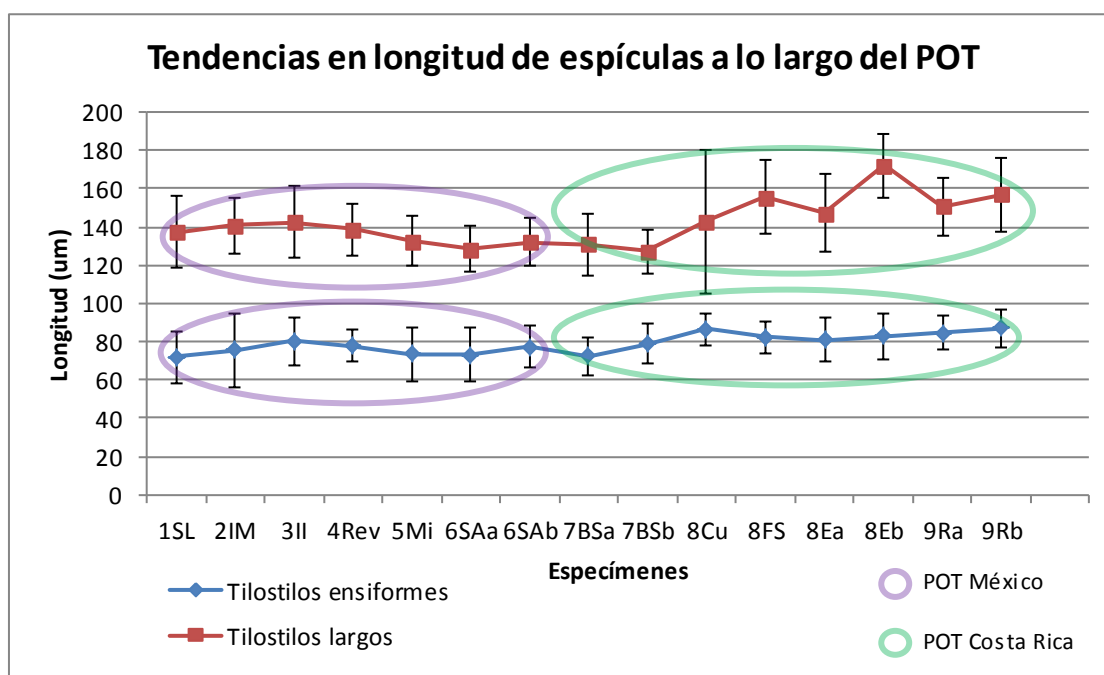


Fig. 2.13. Tendencias en longitudes de espículas por especímenes ordenados de norte a sur del POT (barras de desviación estándar).

Cuando se realizó el análisis por regiones, representadas por Caribe, POT Costa Rica y POT México los resultados son los siguientes.

Tabla 2.5. Rango de mediciones de las espículas tilostilos ensiformes. Además promedio y desviación estándar.

|            | Tilostilos ensiformes |           |                  |           |                    |           |
|------------|-----------------------|-----------|------------------|-----------|--------------------|-----------|
|            | Longitud              | Desv.Est. | Grosor           | Desv.Est. | Tilo               | Desv.Est. |
| Caribe     | 87.5 - (112.5) - 145  | 12.7      | 2 - (11.2) - 20  | 4.9       | 3 - (11.9) - 17.5  | 4.2       |
| Costa Rica | 31.3 - (81.9) - 115   | 12.2      | 1 - (6.0) - 17.5 | 3.1       | 2.5 - (8.3) - 20   | 2.9       |
| México     | 27.5 - (75.6) - 110   | 13.9      | 2.5 - (5.9) - 10 | 1.7       | 2.5 - (8.5) - 12.5 | 1.8       |

Tabla 2.6. Rango de mediciones de las espículas tilostilos largos. Además promedio y desviación estándar.

|            | Tilostilos largos   |           |                   |           |                  |           |
|------------|---------------------|-----------|-------------------|-----------|------------------|-----------|
|            | Longitud            | Desv.Est. | Grosor            | Desv.Est. | Tilo             | Desv.Est. |
| Caribe     | 122 - (197.5) - 225 | 20.1      | 2.5 - (4.9) - 7.5 | 0.8       | 6 - (8.5) - 11.3 | 1.3       |
| Costa Rica | 95 - (148.2) - 247  | 24.2      | 1 - (3.0) - 10    | 1.1       | 2.5 - (5.6) - 10 | 1.3       |
| México     | 92 - (136.2) - 190  | 15.6      | 2 - (3.2) - 7.5   | 1.0       | 2.5 - (6.0) - 10 | 1.4       |

Al observar los promedios de longitud para ambos tipos de espículas, se siguió la tendencia que ya mostraba el análisis hecho para los especímenes. En el POT, los especímenes al norte tienen espículas más pequeñas en comparación con los del sur y el Caribe excede a ambas regiones del POT.

Se tomó el promedio por espécimen y se realizó un análisis por región (país) en los tres factores: longitud, grosor y tilo. Al tener solo un espécimen del Caribe, el valor que representa esta zona es solo un promedio que aparece en los diagramas de caja como un solo punto.

Tabla 2.7. Valores de significancia para la Prueba T al comparar las regiones.

|                     | Tilostilos ensiformes |                    |                    | Tilostilos largos  |                    |                    |
|---------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
|                     | Longitud              | Grosor             | Tilo               | Longitud           | Grosor             | Tilo               |
| Caribe - Costa Rica | <b>&lt; 0.0001</b>    | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> |
| Caribe - México     | <b>&lt; 0.0001</b>    | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> | <b>&lt; 0.0001</b> |
| Costa Rica - México | <b>0.0010</b>         | 0.6284             | 0.9953             | <b>0.0152</b>      | 0.7854             | 0.4517             |

Se resaltan los valores p que indican diferencias significativas

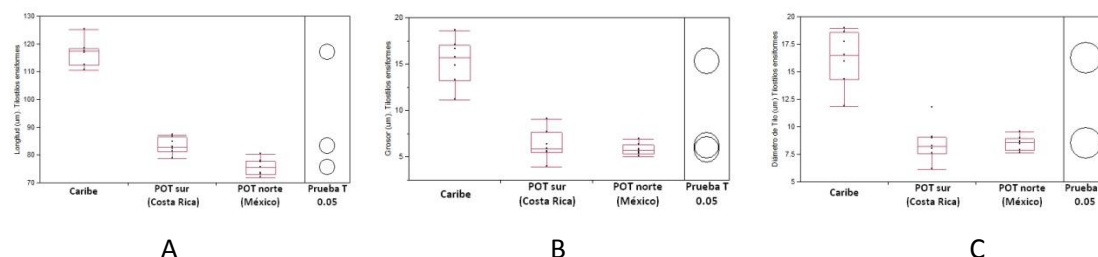


Fig. 2.14. Comparación de la longitud (A), grosor (B) y tilo (C) de los tilostilos ensiformes por región Caribe (CA), POT Costa Rica (CR) y POT México (MX).

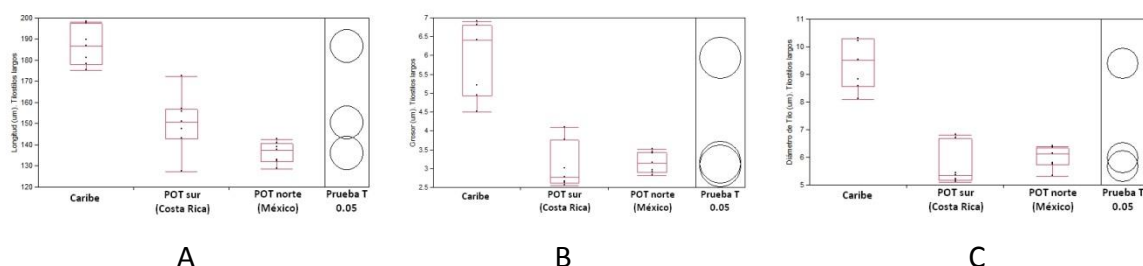


Fig. 2.15. Comparación de la longitud (A), grosor (B) y tilo (C) de los tilostilos largos por región Caribe (CA), POT Costa Rica (CR) y POT México (MX).

Los resultados muestran las diferencias significativas entre el Caribe y el POT para todas las características medibles en los dos tipos espiculares que presenta. Por otro lado hay diferencias significativas entre la longitud de ambos tipos espiculares para cada región, diferencia que no se aprecia para el grosor y tilo entre el POT México y POT Costa Rica.

Por último, si se toma en cuenta algunos trabajos donde mencionan descripciones y mediciones de espículas para especímenes alrededor del mundo. Se genera la siguiente tabla y gráfico que resume la información. Sin embargo al no tener los datos de las

mediciones de dichos trabajos, solamente se proporciona un panorama global, sin realizar análisis estadístico o tener medidas de la dispersión de datos.

Tabla 2.8. Promedios de mediciones espiculares obtenidas de la literatura y de este trabajo.

| Región              | Tilostilos ensiformes (um) |        |      | Tilostilos largos (um) |        |      | Otras Espículas      | Valores reportados | Fuente               |
|---------------------|----------------------------|--------|------|------------------------|--------|------|----------------------|--------------------|----------------------|
|                     | Longitud                   | Grosor | Tilo | Longitud               | Grosor | Tilo |                      |                    |                      |
| Índico              | 101.6                      | 10.2   | 15.2 | 185.4                  | 5.1    | 10.2 | Espiraster           | promed             | Sollas 1878          |
| Índico              | 70                         | 18     | 21   | 168                    | 4      | 8    | Ausentes             | promed             | Thomas 1972          |
| Índico              | 75.3                       | 11.5   | 9.75 | 120                    | 3      |      | Ausentes             | media              | Calcinai et al. 2000 |
| Índico Indonesia    | 89.2                       | 12.5   |      | 182                    | 9      |      | Espiraster/anfiaster | promed             | Calcinai et al. 2005 |
| Índico Filipinas    | 69                         | 12.5   |      | 143                    | 2.5    |      | Espiraster/anfiaster | promed             | Calcinai et al. 2005 |
| Pacífico México     | 75.6                       | 5.9    | 8.5  | 136.2                  | 3.2    | 6    | Ausentes             | promed             | Este estudio         |
| Pacífico Costa Rica | 81.9                       | 6      | 8.3  | 148.2                  | 3      | 5.6  | Ausentes             | promed             | Este estudio         |
| Caribe Costa Rica   | 112.5                      | 11.2   | 11.8 | 197.5                  | 4.9    | 8.5  | Ausentes             | promed             | Este estudio         |
| Caribe Belice       | 132                        | 12     | 12   | 208                    | 8      |      | Ausentes             | promed             | Rutzler et al. 2014  |

Algunos artículos omiten mediciones para los tilos

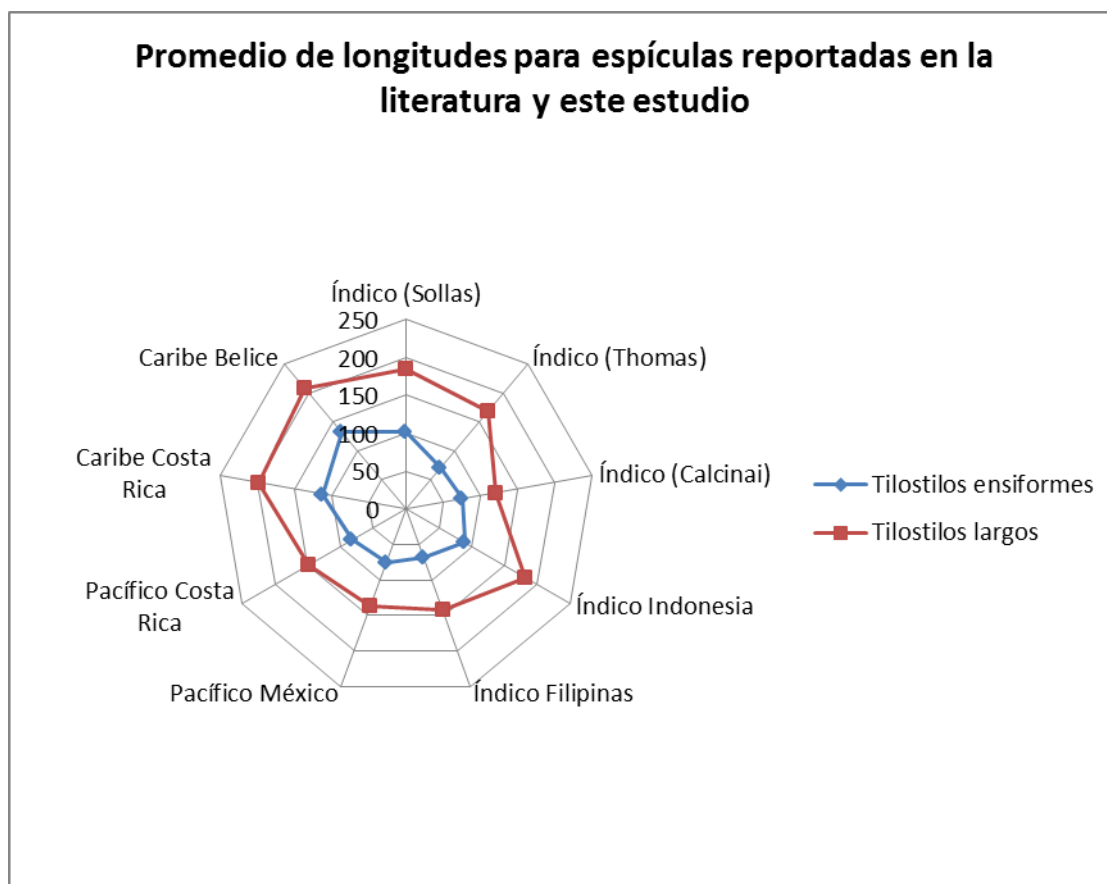


Fig. 2.16. Promedio de longitudes para espículas reportadas en la literatura y en este trabajo para el Océano Índico, Océano Pacífico y Mar Caribe. Los promedios de Indonesia y Filipinas pertenecen al segundo trabajo de Calcinai et al. (2005).

## Análisis molecular

### Secuencia nuclear D2-28S

El segmento D2 del gen 28S ADNr presentó 388 sitios, en los que se pudo observar divergencia entre secuencias del POT y Caribe. Estas divergencias están dadas por los cambio en los pares de bases que se observan por región (Tabla 2.8).

Tabla 2.9. Diferencias en pares de bases (pb) al comparar el marcador D2, 28S entre regiones.

28S, con 388 pb.

|           | POT norte | POT sur | Caribe |
|-----------|-----------|---------|--------|
| POT norte | -         |         |        |
| POT sur   | 0         | -       |        |
| Caribe    | 6         | 6       | -      |

Los datos fueron analizados a través del método de distancias Neighbor-Joining, infiriendo la estructura genética con el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano (HKY) seleccionado por MEGA 6 como aquel que más se adecuaba a los datos y valores. El cladograma permite observar dos grupos distintos en donde se agrupan por un lado los especímenes de *C. cf. mucronata* para el POT, y por otro, un espécimen analizado para el Caribe de Costa Rica (Cmu.58.CA en Fig.2.15).

Para el análisis se agregó a *Cliona californiana* como grupo externo (Cca.58.LF en Fig.2.17), este espécimen también fue secuenciado para este trabajo y se toma en cuenta en el análisis para tener referencia de otra especie que permita dar una visión más amplia en la topología del cladograma.

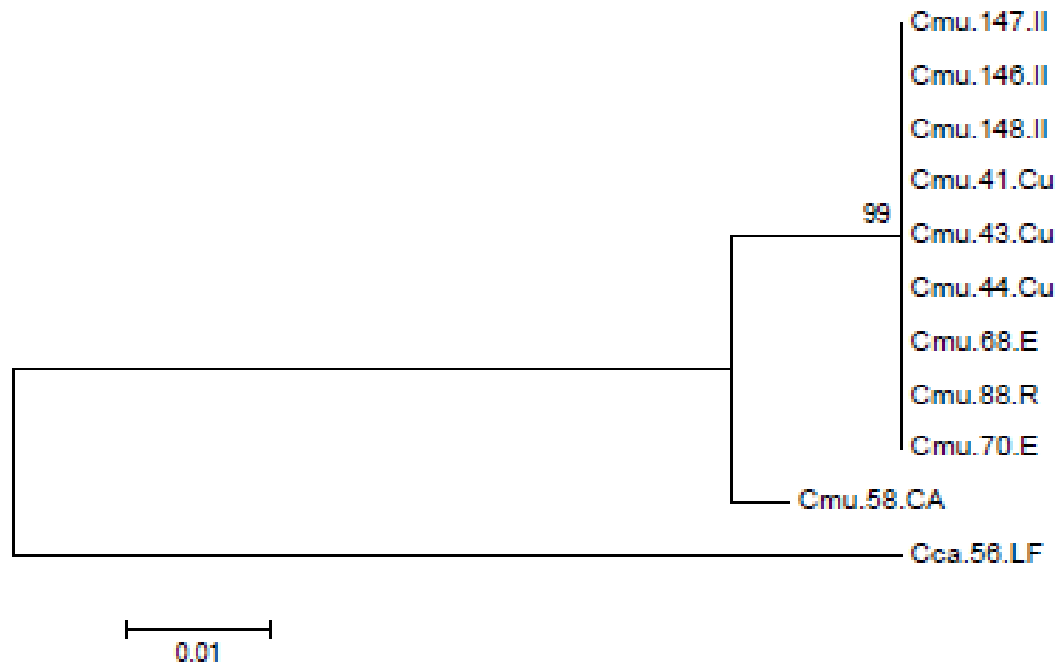


Fig. 2.17. Cladograma de distancias genéticas (Neighbor-Joining) para D2, 28S ADNr. *Cliona californiana* (Cca.56.LF) como grupo externo; el espécimen recolectado para el Caribe (Cmu.58.CA); y *Cliona* cf. *mucronata* de distintos sitios de Costa Rica (E, R, Cu) y México (II).

A continuación se presenta la matriz de distancias genéticas (Pairwise Distance) en un modelo de distancias P donde se establece la comparación pareada entre especímenes. Esta distancia p es la proporción de sitios nucleotídicos en los cuales dos secuencias difieren. Se obtienen dividiendo el número de diferencias nucleotídicas por el total de nucleótidos comparados.

Tabla 2.10. Distancias genéticas para D2, 28S ADNr. Distancias P en el extremo inferior izquierdo y error estándar en el extremo superior derecho.

|    |            | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     |
|----|------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1  | Cmu.88.R   |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0059 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 2  | Cmu.70.E   | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0059 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 3  | Cmu.68.E   | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0059 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 4  | Cmu.58.CA  | 0.0155 | 0.0155 | 0.0155 |        | 0.0059 | 0.0059 | 0.0059 | 0.0059 | 0.0059 | 0.0059 | 0.0150 |
| 5  | Cmu.44.Cu  | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 6  | Cmu.43.Cu  | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 7  | Cmu.41.Cu  | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 8  | Cmu.148.II | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0153 |
| 9  | Cmu.147.II | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0153 |
| 10 | Cmu.146.II | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0155 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0153 |
| 11 | Cca.56.LF  | 0.1211 | 0.1211 | 0.1211 | 0.1134 | 0.1211 | 0.1211 | 0.1211 | 0.1211 | 0.1211 | 0.1211 |        |

### Secuencia mitocondrial CO I

Los resultados para el Citocromo Oxidasa I se realizaron a partir de segmentos de 578 sitios. En estos segmentos se encontró divergencia para las regiones del POT norte, POT sur y Caribe que se exponen a continuación.

Tabla 2.11. Diferencias en pares de bases (pb) al comparar el marcador CO I entre regiones.

COI, con 578 pb.

|           | POT norte | POT sur | Caribe |
|-----------|-----------|---------|--------|
| POT norte | -         |         |        |
| POT sur   | 2         | -       |        |
| Caribe    | 14        | 13      | -      |

Las secuencias fueron analizadas a través de los métodos de: Máxima Parsimonia, Máxima Verosimilitud y Neighbor-Joining, infiriendo la estructura genética con el modelo de Hasegawa-Kishino-Yano y una distribución gama con cinco categorías que modela una tasa evolutiva no uniforme entre los sitios.

El modelo de distribución gama es un modelo de heterogeneidad de frecuencias de sustitución de bases en donde se asigna una probabilidad de sustitución asumiendo que para cada secuencia, las probabilidades varían de acuerdo con la distribución gama. Este

modelo se seleccionó como aquel que mejor se ajustó a los datos y a través del cual se busca obtener una reconstrucción filogenética robusta y fiable.

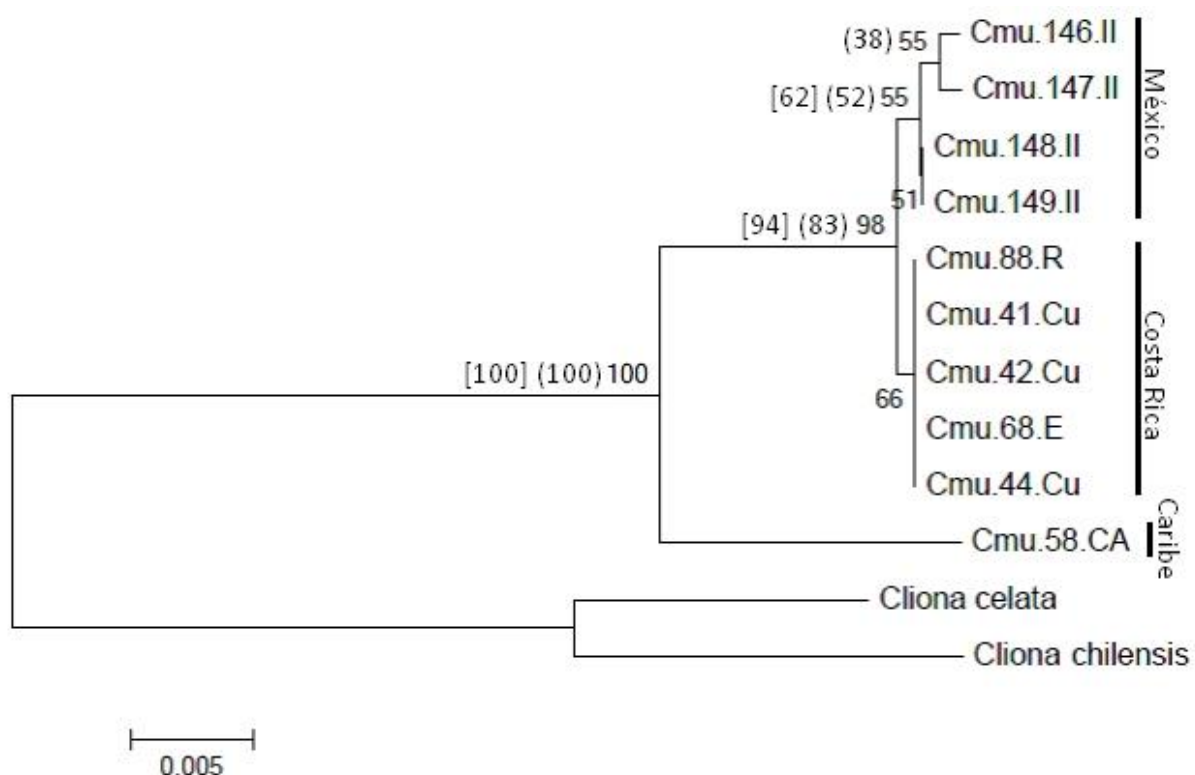


Fig. 2.18. Cladograma para CO I. Se representan los valores bootstrap para los diferentes métodos empleados: [Máxima Parsimonia] (Máxima Verosimilitud) Neighbor-Joining.

El cladograma muestra dos divisiones fuertemente sustentadas por los valores bootstrap, una de ellas separa los grupos del POT y del Caribe y la segunda presenta los grupos del POT México y POT Costa Rica. Además los tres métodos presentan una división de haplotipos para el POT México, los valores bootstrap que soportan esta última división son muy bajos. Se muestran las distancias P del análisis para COI.

Tabla 2.12. Matriz de distancias p y error estándar.

|    |                  | 1      | 2      | 3      | 4      | 5      | 6      | 7      | 8      | 9      | 10     | 11     | 12     |
|----|------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|
| 1  | Cmu.146.II       |        | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0061 | 0.0105 | 0.0106 |
| 2  | Cmu.147.II       | 0.0017 |        | 0.0016 | 0.0016 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0023 | 0.0063 | 0.0105 | 0.0106 |
| 3  | Cmu.148.II       | 0.0017 | 0.0017 |        | 0.0000 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0063 | 0.0105 | 0.0105 |
| 4  | Cmu.149.II       | 0.0017 | 0.0017 | 0.0000 |        | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0016 | 0.0063 | 0.0105 | 0.0105 |
| 5  | Cmu.41.Cu        | 0.0035 | 0.0035 | 0.0017 | 0.0017 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0062 | 0.0105 | 0.0105 |
| 6  | Cmu.42.Cu        | 0.0035 | 0.0035 | 0.0017 | 0.0017 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0062 | 0.0105 | 0.0105 |
| 7  | Cmu.44.Cu        | 0.0035 | 0.0035 | 0.0017 | 0.0017 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0000 | 0.0062 | 0.0105 | 0.0105 |
| 8  | Cmu.68.E         | 0.0035 | 0.0035 | 0.0017 | 0.0017 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0000 | 0.0062 | 0.0105 | 0.0105 |
| 9  | Cmu.88.R         | 0.0035 | 0.0035 | 0.0017 | 0.0017 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 | 0.0000 |        | 0.0062 | 0.0105 | 0.0105 |
| 10 | Cmu.58.CA        | 0.0225 | 0.0242 | 0.0242 | 0.0242 | 0.0225 | 0.0225 | 0.0225 | 0.0225 | 0.0225 |        | 0.0106 | 0.0105 |
| 11 | Cliona chilensis | 0.0761 | 0.0761 | 0.0744 | 0.0744 | 0.0761 | 0.0761 | 0.0761 | 0.0761 | 0.0761 | 0.0779 |        | 0.0066 |
| 12 | Cliona celata    | 0.0744 | 0.0744 | 0.0727 | 0.0727 | 0.0709 | 0.0709 | 0.0709 | 0.0709 | 0.0709 | 0.0727 | 0.0277 |        |

La distancia que separa *C. celata* de *C. chilensis* es de 0.0277 mientras que la distancia de separación entre el espécimen del Caribe con uno del POT es de 0.0225. Valores muy similares que serán discutidos en la siguiente sección.

## DISCUSIÓN

### Distribución cosmopolita de *Cliona mucronata*

Al referirnos a la especie estudiada en esta tesis, se utilizó la abreviación cualitativa “cf.” debido a la variación de los tipos espiculares y las medidas de los mismos en comparación con los especímenes descritos en el Océano Índico, además de las reservas que supone una dispersión a nivel cosmopolita. La figura 2.19 ilustra la distribución mundial de *C. mucronata* si se asumiese que los especímenes descritos en esta tesis pertenecen a la misma especie.



Fig. 2.19. Distribución teórica de *C. mucronata* si se asume que todos los registros son la misma especie.

Sin embargo, hay antecedentes en los que por razones geográficas se han separado especies, como es el caso de *Cliona dissimilis*, que fue sinonimizada con *Cliona celata* por Topsent (1900) para ser separada nuevamente por Hooper & Wiedenmayer (1994) basados en la imposibilidad biogeográfica de que una especie de Australia pudiera ser la misma que otra en el Mediterráneo.

Se debe tener en cuenta que las esponjas representan un grupo de invertebrados considerados con dispersión larvaria de corta distancia (Maldonado 2006) y las distancias geográficas implicarían un factor de aislamiento (Duran et al. 2004). Estas razones han conducido a la idea de que los escenarios de conectividad a través de una gran área geográfica son poco probables en este grupo taxonómico, por lo que se debe tomar con escepticismo una distribución cosmopolita (Xavier et al. 2010). Desde esta perspectiva se apoyaría la idea de especies hermanas definido como especies que son difícilmente identificables basados en las características morfológicas (Knowlton 1993).

## Variación espicular de *Cliona* cf. *mucronata* en el POT

La variación de las espículas oxas mucronas que aparecen rara vez y solo en algunos especímenes estudiados del POT, habla de la capacidad que tienen algunos individuos para formar este tipo de espículas, por lo que sería necesario un análisis mayor para esclarecer si este carácter podría tener un valor taxonómico.

En cuanto a las mediciones de los tilostilos ensiformes y los tilostilos largos, se debe distinguir entre la longitud por un lado y por otro el grosor de la espícula y diámetro de tilo.

La literatura señala que existe una correlación entre la temperatura del agua y la disponibilidad de Sílice con el grosor de las espículas (Simpson 1978), aquí cabría aplicar lo mismo para el diámetro del tilo. Experimentalmente se ha comprobado que a bajas temperaturas se producen espículas más gruesas (Simpson 1978), en este contexto se puede entender porque se tiene una aleatoriedad, al agrupar los especímenes por similitud de grosor de espícula o diámetro de tilo. La causa de no encontrar un patrón claro en estos factores podría deberse a las condiciones ambientales específicas de los sitios (temperatura y disponibilidad de sílice).

A pesar de que se intentó establecer una relación: ambiente – grosor de espículas, muchas regiones de donde se tomaron especímenes carecen de un dato de temperatura confiable y en algunos el rango de temperaturas varía notablemente debido a afloramientos, haciendo imposible explicar de forma segura estos parámetros medidos en las espículas.

En cuanto a la longitud, esta se ha visto como una característica más susceptible a cambios genéticos ya que está directamente relacionada con la longitud del filamento axial que es un núcleo protéico que da la forma a la espícula (Simpson 1978, Uriz et al. 2003).

Al observar el diagrama de caja para la longitud de tilostilos ensiformes (fig. 2.6), los especímenes de POT sur tienen un promedio mayor a los especímenes del POT norte. Son excepciones los especímenes i.II (POT norte, México) que presenta valores altos y los especímenes b.BS1 y b.BS2 (POT sur, Costa Rica), los cuales presentaron los valores mínimos de longitud similares a los valores registrados en los especímenes mexicanos. Por otro lado, al comparar las regiones POT norte y POT sur, la Prueba T logrando encontrar diferencias significativas (Fig. 2.14.A y 2.15.A) ya que a pesar del traslape de mediciones, los datos son consistentes y las dos regiones tienen un promedio de longitud de espículas cercano el uno del otro.

Cuando se consideran las mediciones de espículas a nivel mundial, el Océano Índico presenta un gran rango de variación, y a simple vista, los rangos de mediciones no harían posible la distinción entre Índico y POT, sin embargo habría que considerar las diferencias propias de los estudios y la ambigüedad en la literatura en cuanto al tercer tipo de espícula a la que ya se ha aludido y que puede implicar dos especies diferentes. Para aclarar el problema se requeriría trabajar con especímenes del Índico que en este trabajo no fue posible obtener.

## Variación espicular en el Caribe

El Caribe presenta diferencias significativas en las mediciones para todos los factores al compararse con el POT sur y POT norte (Fig. 2.14 y 2.15), Incluso cuando se considera, los rangos de mediciones que se reportan para el Caribe de Belice por Rützler et al. (2014).

Se plantea que las espículas de los especímenes del Caribe son de mayor dimensión que aquellas del Pacífico, pero también del Océano Índico (Fig. 2.16), sugiriendo que en el Caribe hay una especie distinta.

Casos como este, donde pequeñas diferencias morfológicas como lo es el promedio de la longitud de espículas ya han sido utilizados para separar especies. Ejemplos de esto son *Cliona nigricans* cuyas tallas la distinguen en el complejo *Cliona viridis* (Schönberg 2000) y *Cliona minuscula* (Schönberg 2006) con promedio de tilostilos más pequeño que otras especies con mismo tipo espicular.

Sin embargo, las diferencias en las dimensiones espiculares entre esponjas no debe ser rigurosamente empleado para delimitar especies y afirmar que son diferentes (Little 1968). Ya que en organismos más simples y que se encuentran en la base evolutiva de muchos otros, las diferencias morfológicas no siempre son el resultado de las diferencias genéticas (Coyne & Orr 2004), de ahí la importancia que representa la herramienta molecular para dilucidar mejor lo que se puede concluir.

## Variación molecular en D2-28S

Antes de meterse de lleno con la variación molecular en los dos marcadores analizados, es necesario resaltar el concepto de especies que es tradicionalmente definido como un grupo de organismos con capacidad de reproducirse entre ellos mismos y aislado de otros grupos (Coyne & Orr 2004). Al no ser tan fácilmente comprobable este aislamiento reproductor, surgen otras definiciones apuntando a diferentes aspectos, por ejemplo al tomar como base la historia evolutiva, se pueden considerar tres definiciones de especies filogenéticas: 1) una agrupación irreducible de organismos que es distinto de otros agrupamientos y dentro del cual hay una relación de parentesco. 2) El grupo monofilético más reducido. 3) Grupo exclusivo de organismos de los cuales los genes coalescen más recientemente que otros grupos fuera de este y no contienen grupos exclusivos dentro de este (Coyne & Orr 2004).

Otro término que se desea aclarar es el de “secuencias tipo” que utiliza Wörheide et al. (2002) en lugar de haplotipo, ya que si bien son sinónimos, este último remite a un

componente haploide de una secuencia dada. El término secuencia tipo será utilizado al tratar de la variación molecular.

En cuanto al análisis para el segmento D2 del gen 28S ADNr, este señala la divergencia entre el espécimen del Caribe con los del resto del Pacífico. Por otro lado este marcador molecular no tuvo la resolución para ver diferencias entre los especímenes a lo largo del POT (fig. 2.15).

Al revisar las distancias P y su error estándar (definidas anteriormente en los resultados) entre las secuencias tipo, el valor que separa el espécimen del Caribe con el resto es de 0.0155 (+/- 0.0059). Este valor puede ser contrastado con el valor que separa al grupo externo representado por *Cliona californiana* (mismo fragmento del gen, obtenido en este trabajo) de 0.1211. A pesar de que el valor del Caribe es pequeño en comparación con el que presenta otra especie, no existe suficiente evidencia de que se tenga “secuencias tipo” y por lo tanto sean dos poblaciones o que se tienen dos especies diferentes.

## Variación molecular de COI

En el caso del gen COI del ADNm se logra observar una mayor resolución en la topología del cladograma, que refleja una diferenciación no solo entre el Caribe y POT sino también dentro del POT (figura 2.16). Los tres métodos revisados apoyan con valores bootstrap altos la separación entre Caribe y Pacífico, así como la separación entre los especímenes del POT norte (México) y el POT sur (Costa Rica). Valores bootstrap más bajos pero mayores a 50 soportan la variedad de secuencias tipo dentro de la región POT sur (México).

La matriz de distancias P muestra el valor mínimo que separa al espécimen del Caribe con el más similar genéticamente del Pacífico que es 0.0225 (+/- 0.0061). Este valor se puede contrastar con el registrado entre la especie *C. chilensis* y *C. celata* que es de

0.0277 (+/- 0.0066). Esto podría indicar que la distancia  $P$  que se tiene entre Caribe – Pacífico es similar a la distancia hallada en estudios similares para dos especies diferentes.

Los valores de distancias  $P$  entre POT sur y POT norte son de 0.0035 (+/- 0.0023) que representa un valor relativamente bajo llevando a la consideración de una estructura génica entre poblaciones. De hecho, la poca diversidad genética de este marcador para el caso de esponjas ya ha sido vista en poblaciones separadas por 3000 km, incluso grados de diversidad mucho más bajos que los encontrados entre poblaciones de otros invertebrados con larva lecitotrófica (Duran et al. 2004). En comparación con el 28S, el marcador molecular COI no solo apoya la separación POT - Caribe sino que también muestra una diferencia a lo largo del POT.

Para organismos con reproducción sexual y asexual como las esponjas, se piensa que en un panorama en el que la reproducción asexual sea el preponderante, se tenderá en primer lugar a generar divergencia más fácilmente entre los individuos, enfatizando diferencias morfológicas y moleculares (Coyne & Orr 2004), a diferencia del caso en el que la reproducción sexual tiene un mayor peso y se genera una homogeneidad genética y fenotípica (Coyne & Orr 2004).

Si existe esa variabilidad grande entre individuos esta tendería a ocultar las diferencias entre especies. Coyne & Orr (2004) lo explican de la siguiente manera, cuando la reproducción sexual se vuelve menos importante, se tiende a ver menos diferenciación entre especies y mayor diferenciación entre individuos de la misma especie. En nuestro caso, la variabilidad morfológica observada a lo largo del POT podría corresponder a esas diferencias entre individuos de una misma especie y el marcador CO I podría sugerir secuencias tipo de poblaciones distintas ya que el marcador 28 S no aporta evidencias de que haya separación de especies.

En la biología evolutiva del desarrollo un aspecto fundamental es el entendimiento de como pequeñas modificaciones genotípicas que son seleccionadas por el ambiente

pueden ser relacionadas a cambios fenotípicos durante la evolución y como los cambios de microevolución contribuyen a eventos de macroevolución (Raff 2000).

Si bien es cierto que las diferencias genéticas entre las regiones se infieren de marcadores no relacionados directamente al desarrollo del fenotipo estudiado como lo es el tamaño de las espículas, esta si muestra una microevolución que actúa a lo largo del Pacífico Oriental Tropical debido a la separación que existe entre los especímenes de cada región y que es coincidente para los tres análisis filogenéticos realizados con el COI.

Las regiones del POT relativamente aislados por esa separación que marcan los arrecifes de coral bien desarrollados al no ser continuos a lo largo del POT, muestra posiblemente, una estructura genética para el COI y se podría ver apoyada a nivel morfológico por la diferencia en longitudes de espículas entre el POT norte y el POT sur. Un futuro estudio poblacional podría analizar esta estructura genética bajo un modelo de “Stepping Stone” en donde la migración de individuos ocurre restringida a colonias adyacentes (Kimura & Weiss 1964).

Otra posible explicación a las diferencias genéticas y morfológicas encontradas en el POT, es la presencia de especies anillo. Este concepto rompe con el modelo tradicional que enfatiza la separación geográfica como requisito para la especiación y propone la divergencia de una especie en dos (a diferencia de los modelos poblacionales) a pesar de flujo génico que se mantiene por poblaciones anillo (Irwin et al. 2005); también se le conoce como especiación por fuerza de distancia (Irwin et al. 2005). La primera vez que se pudo observar un patrón de variación genética gradual que coincidía con la teoría de una especie anillo fue en el 2005 para *Phylloscopus trochiloides*, un ave paseriforme que habita en Siberia en donde la variación del ADN mitocondrial mostraba estructuración filogenética y los AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) mostraron un patrón de aislamiento por distancia (Irwin et al. 2005).

Sin embargo el probar una hipótesis de especies anillo a lo largo del POT, requeriría un mayor número de especímenes a lo largo de la costa mexicana para obtener

un análisis más robusto que logre detectar si se da un gradiente morfológico así como trabajar con más secuencias.

Por otro lado, en el Caribe las diferencias tanto morfológicas como moleculares son más pronunciadas remitiendo a una historia evolutiva que diverge de la del POT y por lo tanto define una nueva especie que por su gran similitud y probablemente separación relativamente reciente, se consideraría una especie hermana. Una estimación del tiempo de divergencia entre las secuencias de las dos regiones, podría ser útil para comprobar si el evento macroevolutivo asociado a esta especiación pudo haber sido el surgimiento del Istmo Centroamericano hace al menos 3 millones de años.

## **CONCLUSIÓN**

Se concluye que lo que se creía la misma especie para el Caribe y el POT, en realidad son dos especies hermanas. Esta separación de especies está apoyada por diferencias significativas en las medidas de: longitud, grosor de espícula y diámetro de tilo. Además, los resultados obtenidos a través de los marcadores moleculares: D2 28S y COI siguiendo diferentes métodos de análisis para las secuencias, fueron congruentes y apoyan la existencia de dos especies entre el Caribe y el POT.

Con respecto a los especímenes del POT norte (México) y POT sur (Costa Rica), se evidencia cierta separación apoyada por las diferencias morfológicas que sin embargo, no son tan notables como las diferencias con el Caribe. Además el análisis con el COI demuestra una separación entre ambos grupos con un porcentaje bootstrap alto, pero la comparación con las distancias P son muy bajas para poder tener certeza de que es otra especie por lo que se piensa puede ser variación entre poblaciones que ilustra un proceso de microevolución.

La causa de esta estructura genética así como la diferencia en la longitud de espículas es atribuida a la barrera del “Pacific Central American Faunal Gap” (comentado

en el capítulo I, al referirme al sitio de muestreo) que separa el POT norte del POT sur y que sugeriría un modelo “Stepping Stone” que está fuera de los objetivos de esta tesis.

Los resultados de este estudio ponen en entredicho la distribución cosmopolita, definido como esa característica en la que la diferenciación geográfica es incipiente o inexistente y la especie cuenta con una amplia distribución. Las diferencias observadas entre Caribe y POT son el resultado de la nula conectividad genética que ha producido diferentes historias evolutivas dando lugar a especies hermanas. Además, la amplia distribución es difícil de concebir debido a la poca capacidad de dispersión que poseen las esponjas y a su hábito endolítico dentro de los corales o restos de carbonato de calcio.

Si bien se prefiere considerar distintos linajes de la especie en el caso del POT norte y POT sur, posiblemente especímenes del Océano Índico acaben completando lo que podría ser el complejo *Cliona mucronata*.

## Referencias

- Avise, J. C., W.S. Nelson & H. Sugita. 1994. A Speciation History of "Living Fossils": Molecular Evolutionary Patterns in Horseshoe Crabs. *Evolution*. 48: 1986–2001.
- Bautista-Guerrero, E., J.L. Carballo, J.A. Cruz-Barraza & H. Nava. 2006. New coral reef boring sponges (Hadromerida: Clionaidae) from Mexican Pacific Ocean. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.* 86: 963–970.
- Borchiellini, C., C. Chombard, B. Lafay & N. Boury-esnault. 2000. Molecular systematics of sponges (Porifera). *Hydrobiologia*. 420: 15–27.
- Calcinai, B., C. Cerrano, M. Sará, G. Bavestrello. 2000. Boring sponges (Porifera, Demospongiae) from the Indian Ocean. *Ital. J. Zool.* 67: 203-219.
- Calcinai, B., G. Bavestrello, C. Cerrano. 2005. Excavating sponge species from the Indo-Pacific Ocean. *Zool. Stud.* 44: 5-18.
- Cárdenas, P. 2010. Phylogeny, taxonomy and evolution of the Astrophorida (Porifera , Demospongiae). Tesis de doctorado. University of Bergen, Noruega. p. 80.
- Coyne, J. A. & H. Orr. 2004. Speciation. Sunderland, MA: Sinauer Associates. Vol. 37. p. 545.
- Domínguez-Domínguez, O. & E. Vázquez-Domínguez. 2009. Filogeografía: aplicaciones en taxonomía y conservación. *Anim. Biodivers. Conserv.* 32:59-70.
- Duran, S., Pascual, M., & Turon, X. (2004). Low levels of genetic variation in mtDNA sequences over the western Mediterranean and Atlantic range of the sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida). *Mar. Biol.* 144: 31–35.
- Erpenbeck, D. & G. Wörheide. 2007. On the molecular phylogeny of sponges (Porifera). *Zootaxa*. 1668: 107-126.

- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz & R. Vrijenhoek. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome C oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3: 294-299.
- Hooper, J.N.A. & F. Wiedenmayer. 1994. Porifera. In Wells, A. (Ed.) *Zoological Catalogue of Australia*. Vol. 12. Melbourne, CSIRO, Australia. pp. 1-624.
- Irwin, D. E., S. Bensch, J.H. Irwin & T.D. Price. 2005. Speciation by distance in a ring species. *Science*. 307: 414–416.
- Kimura, M. & G.H. Weiss. 1964. The stepping stone model of population structure and the decrease of genetic correlation with distance. 49: 561-576.
- Knowlton, N. 1993. Sibling species in the Sea. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 189-216.
- Little, F.J. 1968. An experimental or tentative revision of the genus *Cliona* utilizing the principles of numerical taxonomy. *Proc. Pa. Acad. Sci.* 42: 38-48.
- Maldonado, M. 2006. The ecology of sponge larvae. *Can. J. Zool.* 84: 175–194.
- Meyer, C.P., J.B. Geller & G. Paulay. 2005. Fine scale endemism on coral reefs: archipelagic differentiation in turbinid gastropods. *Evolution*. 59: 113-125.
- Peña, C. 2011. Métodos de inferencia filogenética. *Rev.Peru.Biol.* 18:265-267.
- Raff, R.A. 2000. Evo-devo: the evolution of a new discipline. *Nat. Rev. Genet.* 1: 74–79.
- Rützler, K., C. Piantoni, R. van Soest, M.C. Díaz. 2014. Diversity of sponges (Porifera) from cryptic habitats on the Beliza barrier reef near Carrie Bow Cay. *Zootaxa*. 3805: 1-129.
- Schönberg, C.H.L. 2000. Sponges of the "*Cliona viridis* complex" - a key for species identification. In: Moosa, M.K., S. Soemodihardjo, K. Romimohtarto, A. Nontji, S. Soekarno. (Eds.). *Proc. 9<sup>th</sup> Int. Coral Reef Symp.* 1: 295-300.

- Schönberg, C.H.L. 2006. *Cliona minuscula* sp. nov. (Hadromerida, Clionaidae) and other bioeroding sponges that only contain tylostiles. *Zootaxa*. 1312: 1-24.
- Simpson, T.L. 1978. The biology of the marine sponge *Microciona prolifera* (Ellis and Solander). III. Spicule secretion and the effect of temperature on spicule size. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 35: 31-42.
- Soest, R.W.M van. 2014. *Cliona mucronata* Sollas, 1878. In: Soest, R.W.M van; N. Boury-Esnault, J.N.A. Hooper, K. Rützler, N.J. de Voogd, B. Alvarez de Glasby, E. Hajdu, A.B. Pisera, R. Manconi, C. Schoenberg, D. Janussen, K.R. Tabachnick, M. Klautau, B. Picton, M. Kelly, J. Vacelet, M. Dohrmann, M.C. Díaz, P. Cárdenas. 2014 World Porifera database. Accessed through: Soest, R.W.M van, N. Boury-Esnault, J.N.A. Hooper, K. Rützler, N.J. de Voogd, B. Alvarez de Glasby, E. Hajdu, A.B. Pisera, R. Manconi, C. Schoenberg, D. Janussen, K.R. Tabachnick, M. Klautau, B. Picton, M. Kelly, J. Vacelet, M. Dohrmann, M.C. Díaz, P. Cárdenas. 2014. World Porifera database at <http://www.marinespecies.org/porifera/porifera.php?p=taxdetails&id=170461> on 2014-04-30.
- Sollas, W. 1878. On two new and remarkable species of *Cliona*. *Ann. Mag. Nat. Hist.* 1: 54-67.
- Thomas, P.A. 1972. Boring sponges of the reefs of Gulf of Mannar and Palk Bay. In: *Proceedings of the Symposium on Coral and Coral Reefs*. Mar. Biol. Ass. India. 333-362.
- Topsent, E. 1900. Étude monographique des spongiaires de France. 3. Monaxonida (Hadromerina). *Arch. Zool. Exp. Genève*. 3: 1-331.
- Uribe, M., X. Turon, M.A. Becerro & G. Agell. 2003. Siliceous spicules and skeleton frameworks in sponges: origin, diversity, ultrastructural patterns and biological functions. *Microsc. Res. Techniq.* 62: 279-299.

- Usher, K.M., D.C. Sutton, S. Toze, J. Kuo, J. Fromont. 2004. Biogeography and phylogeny of *Chondrilla* species (Demospongiae) in Australia. Mar. Ecol. Prog. Ser. 270: 117-127.
- Vacelet, J., P. Vasseur, C. Lévi. 1976. Spongiaires de la pente externe des récifs corallines de Tulear (Sud-Ouest de Madagascar). Mém. Mus. Nat. Hist. Nat. 49:1-116.
- Whiting, M., J. Carpenter, Q. Wheeler & W.C. Wheeler. 1997. The strepsiptera problem: phylogeny of the holometabolous insect orders inferred from 18S and 28S ribosomal DNA sequences and morphology. Syst. Biol. 46: 1-68.
- Wörheide, G., J.N.A. Hooper, & B.M. Degnan. 2002. Phylogeography of western Pacific *Leucetta 'chagosensis'* ( Porifera : Calcarea ) from ribosomal DNA sequences : implications for population history and conservation of the Great Barrier Reef World Heritage Area (Australia). Mol. Ecol. 11: 1753–1768.
- Xavier, J.R., P.G. Rachello-Dolmen, F. Parra-Velandia, C.H.L. Schönberg, J. Breeuwer & R.W.M. van Soest. 2010. Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolitan” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionidae). Mol. Phylogenet. Evol. 56: 13–20.