



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE MANABÍ

CARRERA DE BIOLOGÍA MARINA

TRABAJO DE TITULACIÓN

ANÁLISIS MOLECULAR, MORFOMETRÍA Y DISTRIBUCIÓN
DE TRES ESPECIES DE CORALES EN LA ZONA
LITORAL DEL ECUADOR.

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN
MANEJO DE RECURSOS

PREVIO AL TÍTULO DE
BIÓLOGA MARINA

AUTORA
SUSAN PAMELA JARAMILLO VALLEJO

TUTOR
MG. FRANCISCO HERNÁN POZO MIRANDA

BAHÍA DE CARÁQUEZ – MANABÍ
FEBRERO DE 2023

Certificación

En mi calidad de tutor del trabajo de integración curricular, certifico haber revisado el presente manuscrito de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, cumpliendo los requisitos establecidos por la Dirección de Investigación; en consecuencia, es apto para su presentación y sustentación.

Francisco Pozo Miranda, *Biól., M. Sc.*

Director del trabajo de titulación

CI: 0918330952

Aprobación del tribunal

El jurado examinador, aprueba el presente manuscrito de investigación en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí.

Evelyn Arias Cedeño, *Biól., M. Sc.*

Primera Lectora

Gabriel Durán Cobo, *Biól., M. Sc.*

Segundo Lector

Francisco Pozo Miranda, *M. Sc.*

Tercer lector

Bahía de Caráquez, febrero de 2023

Declaración de originalidad

Este manuscrito no contiene ningún tipo de material que ha sido aceptado para la obtención de un título universitario en otra institución, excepto en forma de información de soporte que ha sido debidamente citada en mi trabajo. Este trabajo es de total responsabilidad de autor, quien declara bajo juramento que ninguna sección de este trabajo de integración curricular infringe los derechos de autor de nadie.

Susan Pamela Jaramillo Vallejo

CI: 1718481292

Teléfono: 099-507-4250

susanpamelajv@gmail.com

Declaración de derechos de autor y co-autoría

Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a distribuir este manuscrito de investigación en medios físicos y electrónicos con el fin de promover la divulgación de mis resultados a la comunidad científica y a la sociedad en general. Adicionalmente autorizo el uso de los contenidos de esta investigación como bibliografía para fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, citando como fuente de información al autor de este trabajo.

Susan Pamela Jaramillo Vallejo

CI: 1718481292

Dedicatoria

Esta tesis se realizó en lo profundo del mar, pero va dedicada a lo más alto del cielo, donde está mi Madre, Susana Vallejo. Te amo.

Siempre estuve muy emocionada por este momento, soñaba con mi graduación. Sin embargo, tu partida física hizo que en el fondo de mi corazón sepa que este día iba a ser muy difícil y lleno de sentimientos encontrados. Redactar esta dedicatoria sería uno de los momentos más tristes para mi, porque la persona a la que le dedico este logro, no está físicamente para verlo. No obstante, en el camino me he encontrado con muchas situaciones que me han hecho notar que tú siempre estás y que este es un logro para festejar y honrarte.

Esta tesis es una muestra de que sigo viviendo por las dos y cumpliendo los sueños que siempre imaginamos.

Así también me he rodeado de personas que han hecho más llevadero el camino y que también son parte de esta dedicatoria.

Mi Padre Edison Jaramillo, que tomó toda la responsabilidad en el momento más difícil junto con Danny, el apoyo de todos.

Mis hermanitas Paula Emilia e Isabela Valentina. Esta tesis tiene una dedicatoria especial para ustedes, para demostrarles que tenemos la capacidad de seguir adelante a pesar de cualquier adversidad y que nuestro esfuerzo debe ser doble, pero así también se disfruta el doble. Daría la vida por ustedes.

Mis hermanos Naomi y Damian, a quienes les dedico este logro para que ellos también cumplan sus sueños.

Mis abuelitos maternos Susana y Guillermo, que han sido siempre las personas incondicionales para mi. Mis abuelitos paternos Alicia y Rolando, que han sabido alentarme para culminar esta etapa.

Mi mejor amiga, prima y confidente Estefanía Jaramillo.

Mi familia en general y mis amigos que fueron parte de este camino.

Dedicada del mar al cielo con todo el amor de la tierra.

Agradecimiento

Esta tesis es un trabajo en conjunto de muchas personas, es un ecosistema formado por seres vivos increíbles y les agradezco a todos los que formaron parte de este camino y de este ecosistema.

A la persona más increíble que he conocido, a mi Mami Lili, por llenarme de amor cada segundo, por enseñarme todo con paciencia y canciones, por hacer de mi su mejor versión, por apoyarme en cada decisión y en cada paso, por enseñarme a ver la vida tan hermosa como ella, por todo, gracias por todo Mami, siempre seremos una sola alma. Te amo y te extraño.

A mi Padre Edison, por apoyarme siempre y más aún en el momento más difícil de mi vida, cuando la tragedia llegó no dudaste ni un segundo en levantarme y en el camino no flaqueaste a pesar de la dificultad. Te amo, y le agradezco también a Danny, por ser tu apoyo y mi apoyo, por estar pendiente siempre de todo, por cuidarme y brindarme consejos acertados.

A mis hermanitas, por ser mi cable a tierra, por ser el motor de mi vida, por siempre creer en mi, por llenarme del amor más puro y sincero, por cada risa, por cada lágrima, por cada aventura, gracias por llenarme de vida, gracias por enseñarme a ser tan fuerte como ustedes y sobre todo gracias por nunca permitirme desfallecer.

A mis hermanos, Damian y Nao, por enseñarme otra versión distinta del amor, por alentarme en la tesis y ayudarme con su opinión cuando mi perspectiva ya estaba nublada.

A todo el equipo de la Plataforma Científica de Microscopía Electrónica del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) Dr. Leopoldo Izquieta Pérez. En especial a la Dra. Linda Díaz Mgs, el Dr. Wellington Espinoza y el Téc. Carlos Cepeda, por brindarme toda su disponibilidad, su buena voluntad y sus conocimientos.

Al Técnico del Laboratorio IDgen y gran amigo, el Ing. Francisco Garrido, por estar dispuesto siempre a compartir conmigo sus conocimientos, por incentivar mi gusto hacia la biología molecular, por escucharme y compartir conmigo charlas interminables y llenas de consejos de oro. A mi gran inspiración, mi abuelito Guillo, por siempre estar al pie del cañón, por estar en cada paso, por enseñarme todo en la vida desde leer y escribir hasta conducir.

A mi abuelita Susi, por ser mi confidente, por brindarme su apoyo moral, por ser mi soporte, por llenarme de amor y sacarme un millón de sonrisas siempre que nos vemos.

A mis abuelitos Alicia y Rolando, por hacerme sentir como en casa siempre, por consentirme en cada visita y por apoyarme para culminar mi tesis.

A mi prima Stefy, por ser mi refugio, por ser mi mejor amiga, por escucharme siempre, por estar en cada momento de mi vida, por enseñarme a volar.

A Pablo, porque a pesar de todo seguimos aquí, y lo enseñado y aprendido no se borra.

A mis primos por enseñarme las aristas de la vida, a mis tíos por guiarme y aconsejarme, y a toda mi familia por siempre estar conmigo.

A mi tutor, el Mg. Francisco Pozo, por su orientación y apoyo en la ejecución de esta tesis.

A mis profesores a lo largo de este camino Juan Carlos Murillo, Eduardo Barahona, Gabriel Durán, Francisco Pozo, Evelyn Arias e Iván Llor por todos sus conocimientos impartidos, tanto profesionales como personales.

A los amigos que me dio la Biología, Sebastian, Elian, Tommy, Bridgitte, Tania, Yuber, Miguel, Robert, David, Eduardo, Steffany, Rupert y Emilio les agradezco a todos por brindarme momentos inolvidables, llenos de alegría y aventuras. Especialmente a Kristell, por brindarme su amistad más sincera, llegaremos muy lejos.

A la naturaleza y a cada ser vivo, por enseñarme a apreciar los detalles, por ayudarme a ver la belleza en lo desconocido y por regalarme miles de paisajes hermosos.

Y finalmente, gracias a mi yo pasada, por todo lo que luchó y por permitirnos estar aquí, a mi yo presente, por nunca rendirse y ser resiliente, y a mi yo futura porque estoy completamente segura de que cumplirá cada sueño que siempre imaginamos.

Sin ustedes esta tesis no sería una realidad.

Resumen

Se llevó a cabo este estudio mixto en donde se realizó un análisis molecular, morfométrico y distributivo de tres especies de coral (*Pocillopora damicornis*, *Pocillopora verrucosa* y *Psammocora stellata*) colectadas mediante buceo en el Bajo Santa Martha, Manabí, y El Real, Santa Elena, para sustentar la identificación tradicional de corales. Por ello, en este estudio descriptivo realizado de julio a octubre de 2022, se identificaron morfológicamente muestras *ex situ*. Se extrajo ácido desoxirribonucleico (ADN) para identificación molecular y mediante microfotografías se identificó morfométricamente. La distribución se determinó utilizando la plataforma *Barcode of Life Data System (BOLDSystems)*. Los resultados moleculares no amplifican especies de coral, pero mediante análisis morfológico y morfométrico se identifican tres corales, *P. damicornis*, *P. verrucosa* y *P. stellata*. En la distribución se determina que *P. damicornis* se encuentra en Costa Rica, Australia, Malasia, Estados Unidos e India; *P. verrucosa* en Sudáfrica, Malasia, Australia, Japón y Sri Lanka; y *P. stellata* en Costa Rica y Sudáfrica. La morfometría determina que *P. damicornis* y *P. verrucosa* presentan una relación cercana por sus características, mientras *P. stellata* es la especie ramificada del género, con los septos y la columella más grandes. En conclusión, *P. damicornis* y *P. verrucosa* pueden considerarse morfotipos del mismo linaje con características morfológicas diferentes por su extensa distribución, y *P. stellata* posee una marcada diferencia morfológica por su aislamiento geográfico. Considerando el análisis filogenético, la región genómica codificante del ARN ribosomal (ARNr), es la más viable.

Palabras clave: corales, análisis molecular, morfometría, *P. damicornis*, *P. verrucosa*, *P. stellata*

Abstrac

This mixed research was carried out to perform a molecular, morphometric and distributional analysis of three reef coral species, *Pocillopora damicornis*, *Pocillopora verrucosa* y *Psammocora stellata* collected through diving from the waters of *Bajo Santa Martha* in *Manabí* and *El Real* in *Santa Elena*, to support the traditional coral identification. Hence, some ex-situ samples were morphologically identified in this descriptive research study conducted from July through October 2022. Deoxyribonucleic acid (DNA) was extracted for molecular identification and was identified morphometrically identified through microphotographs. Distribution was determined using the BOLDSystems Platform. The molecular findings do not amplify coral species, but through morphological and morphometric analyses three reef coral species are identified, *P. damicornis*, *P. verrucosa* y *P. stellata*. The distribution determines that *P. damicornis* is found in Costa Rica, Australia, Malaysia, the United States, and India; *P. verrucosa* in South Africa, Malaysia, Australia, Japan, and Sri Lanka; and *P. stellata* in Costa Rica and South Africa. The morphometric results show that *P. damicornis* and *P. verrucosa* have a close relationship because of their characteristics, while *P. stellata* is the branched species of the coral genus with the largest septa and columella. In conclusion, *P. damicornis* and *P. verrucosa* may be viewed as morphotypes of the same genetic lineage with different morphological characteristics due to their worldwide distribution, and *P. stellata* has a marked morphological difference because of geographic isolation. As per phylogenetic analysis, the genomic region encoding ribosomal RNA (rRNA) is the most viable.

Keywords: corals, molecular analysis, morphometry, *P. damicornis*, *P. verrucosa*, *P. stellata*

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN	18
2. METODOLOGÍA.....	23
2.1. Área de estudio	23
2.2. Trabajo de campo	24
2.2.1. Recolección de especímenes de coral	25
2.3. Trabajo de laboratorio.....	25
2.3.1. Identificación morfológica de las tres especies de coral.....	25
2.3.2. Microscopía electrónica	26
2.4. Morfometría <i>Pocillopora</i>	26
2.5. Morfometría <i>Psammocora</i>	27
2.6. Análisis molecular.....	28
2.6.1. Extracción de ADN.....	28
2.6.2. Medición de ADN	29
2.6.3. PCR	29
2.6.4. Visualización del ADN.....	30
2.7. Distribución	30
2.8. Análisis de datos.....	30
3. RESULTADOS	31
3.1. Análisis molecular.....	31
3.2. Distribución de especies.....	32
3.2.1. <i>Pocillopora damicornis</i>	32
3.2.2. <i>Pocillopora verrucosa</i>	34
3.2.3. <i>Psammocora stellata</i>	34
3.3. Caracterización morfológica	36
3.3.1. <i>Pocillopora damicornis</i>	36
3.3.2. <i>Pocillopora verrucosa</i>	37
3.3.3. <i>Psammocora stellata</i>	40
3.4. Análisis morfométrico	41
4. DISCUSIÓN	45
5. CONCLUSIONES	49

6. RECOMENDACIONES	50
7. BIBLIOGRAFÍA	51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Sitios de muestreo y muestras de corales analizadas en la zona litoral del Ecuador. M = muestras para análisis molecular, m = muestras para análisis morfométrico. En paréntesis se encuentra el número de muestras que se analizaron	23
Tabla 2: Lista de variables lineales medidas en <i>Psammocora stellata</i> . VC: Variable del coralite. VR: Variable de la rama	27
Tabla 3: Condiciones para la reacción de las muestras de coral	29
Tabla 4: Lista de los caracteres cualitativos y morfométricos del esqueleto coralino implementados en el análisis de taxonomía numérica. OTU: <i>Pocillopora damicornis</i> y <i>Pocillopora verrucosa</i>	42
Tabla 5: Medidas en <i>Psammocora stellata</i> según Stefani, et al., 2007	43

ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICOS

Figura 1: Representación gráfica de las estructuras del coralite. A) Coralite con pared definida, B) Coralite con coenosteum	20
Figura 2: Mapa de las zonas muestreadas. en las provincias de Manabí y Santa Elena	24
Figura 3: Representación gráfica de las variables lineales medidas en <i>Psammocora stellata</i> . A) Variables del coralite. B) Variables de la rama	28
Figura 4: Gel de agarosa al 1% cargado con tres muestras de ADN de coral. MM: Marcador de peso molecular ABM 100pb plus opti DNA marker	31
Figura 5: Resultado de la electroforesis con los amplicones obtenidos con los primers TEPCOIF/TEPCOIR e ITS1/ITS4. MM: Marcador de peso molecular ABM 100pb plus opti DNA marker	32
Figura 6: Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de <i>Pocillopora damicornis</i>	33
Figura 7: Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI de <i>Pocillopora damicornis</i> tomadas de BoldSystems	33
Figura 8: Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de <i>Pocillopora verrucosa</i>	34
Figura 9: Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI de <i>Pocillopora verrucosa</i> tomadas de BoldSystems	34
Figura 10: Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de <i>Psammocora stellata</i>	35
Figura 11: Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI del género <i>Psammocora</i> tomadas de BoldSystems	36
Figura 12: <i>Pocillopora damicornis</i> . A) Colonia con ramificaciones y subramificaciones, B) Morfología del exoesqueleto, C) Estructuras del coralite, D) Coenosteum presente y ausente en una sola colonia ..	37

Figura 13: *Pocillopora verrucosa*. A) Colonia con ramificaciones, subramificaciones y verrugas, B) Morfología del exoesqueleto, C) Coralite de cerca del ápice de la colonia con septos poco desarrollados, D) Coralite del ápice de la colonia con septos casi ausentes, E) Coenosteum cubierto de espinas 39

Figura 14: *Psammocora stellata*. a) Colonia con ramificaciones, b) Morfología del exoesqueleto, c) Estructuras del coralite, d) Coralite con columella presente 41

1. INTRODUCCIÓN

Los arrecifes de coral se encuentran catalogados como uno de los ecosistemas con más importancia en el océano, debido a que sus estructuras crean hábitats que albergan una gran cantidad de especies, convirtiéndolo en un ecosistema muy diverso en el planeta y a la vez uno de los más amenazados (Paz, 2015; Rodríguez, et al., 2022; Sellares, et al., 2022). A pesar de que las especies de coral son tan diversas, los arrecifes de coral se caracterizan generalmente por ser regiones no muy extensas, las cuales en porcentaje corresponden al 0.2% del océano y tan solo al 0.1% de la superficie terrestre (Knowlton & Jackson, 2008). No obstante, los ecosistemas coralinos son sumamente importantes debido a su alta productividad en el turismo, la pesca y la industria farmacéutica (Paz, 2015; Lazcano, et al., 2020).

Actualmente, existen alrededor de 6000 especies de corales identificadas tradicionalmente, entre ellas las especies pertenecientes a la subclase Octocorallia que son los corales blandos o ahermatípicos y la subclase Hexacorallia que son los corales duros o hermatípicos (Torruco & González, 2010; Rodríguez, et al., 2022). Dentro de la subclase hexacorallia se encuentra el orden Scleractinia, estos son los corales escleractinios, los cuales tienen la capacidad de formar arrecifes y son el componente principal de los mismos (Torruco & González, 2010; Paz, 2015).

A lo largo del tiempo los corales escleractinios han sido identificados por la morfología de la colonia; no obstante, esta identificación cae en el error de la subjetividad, careciendo de datos numéricos objetivos (Torruco & González, 2010; Shau, et al., 2011; Justel, 2017; Matamoros-Calderón, et al., 2021). La identificación morfológica se basa en los caracteres que presenta el esqueleto coralino (Paz, 2015; Justel, 2017). Sin embargo, hay que considerar que no todas las estructuras son informativas, sino que dependen del género analizado (Budd, 1990; Paz, 2015). Tal es el caso de los géneros *Psammocora* (variables lineales) y *Porites* (puntos de referencia) los cuales se diferencian principalmente debido a las microestructuras de sus coralites (Budd, et al., 1994; Stefani, et al., 2007; Forsman, et al., 2015; Paz, 2015; Justel, 2017) y los géneros *Pocillopora* y *Stylophora* se diferencian por la forma de la colonia, las características de coralite y la forma y tamaño que poseen sus verrugas y ramificaciones (Budd, 1990; Paz, 2015; Paz-García, et al., 2015).

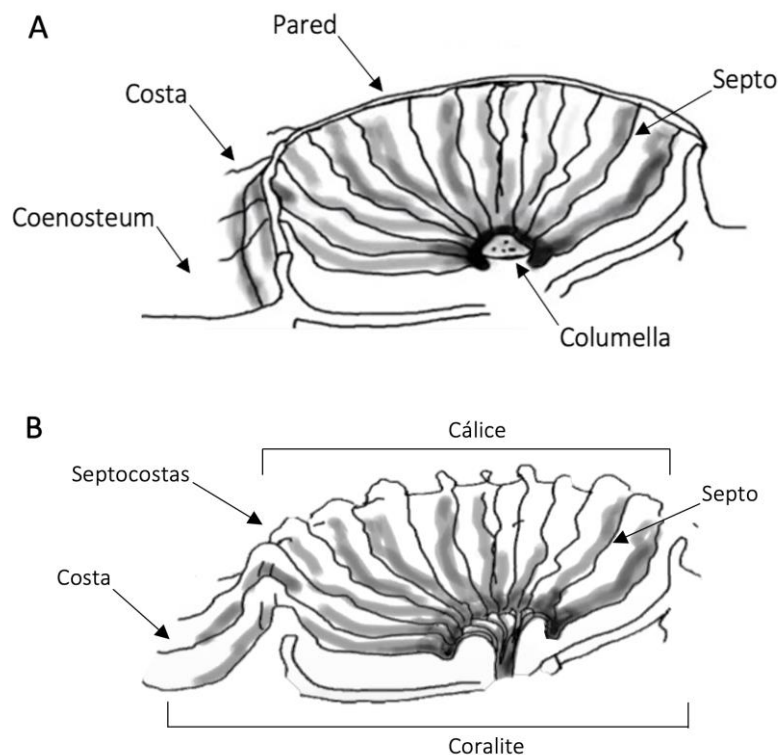
Sin embargo, la morfología de las colonias de corales posee una gran plasticidad fenotípica, la cual depende de efectos ambientales, genéticos y la correlación simultánea de ambos factores (Forsman, et al., 2015; Justel, 2017), como el género *Pocillopora* el cual debido a la penetración de luz, y la dirección y velocidad de las corrientes, presenta una variación en la forma de las colonias y en sus ramificaciones (Paz, 2015; Reyes-Bonilla, et al., 2017). Por lo tanto, el comportamiento moldeable y la selección inapropiada de caracteres morfológicos dan como resultado una identificación equívoca o poco confiable de los corales (Paz, 2015; Justel, 2017).

Para identificar de mejor manera las especies de corales, basándose solamente en su morfometría, hay que considerar entre muchas otras cosas, la anatomía del coral y las diferentes formas coloniales que este presenta (Paz, 2015; Paz-García, et al., 2015; Zhao, et al., 2021). El esqueleto del coral presenta una anatomía, la cual consta del coralite que básicamente es la estructura en la cual el pólipos se asienta y se retrae, el pólipo es un animal vivo que construye capas de carbonato de calcio, estas hacen que el coralite se endurezca y crezca más a medida que el pólipo también lo hace (Budd, et al., 2010; Justel, 2017).

El coralite, según la especie de coral de la que se trate, presenta variaciones, sin embargo según Zhao, et al. (2021), entre las estructuras externas principales del coralite se encuentran: columella (estructura axial donde se asienta la boca), pared (estructura que encierra un coralite), septos (particiones verticales dispuestas radialmente, las cuales van desde la columella hasta la pared de cada coralite), costas (extensiones del septo más allá de la pared, existen corales en los cuales las paredes de cada coralite se unen, por lo tanto no presentan costa), coenosteum o peritheca (espacio entre coralites, no todas las especies lo presentan) (figura 1A), septocostas (extremo del coralite en donde el septo continúa hasta convertirse en costa) y el cáliz que más que una estructura es la superficie de un coralite limitada por la pared (figura 1B).

Figura 1

Representación gráfica de las estructuras del coralite. A) Coralite con pared definida, B) Coralite con coenosteum. Modificado de: Conservation Diver, (2015).



En

cuanto a la distribución en Ecuador, al no encontrarse en una zona de afloramiento y al estar expuesto recurrentemente a eventos severos como el fenómeno de El Niño, no presenta arrecifes coralinos muy desarrollados. Sin embargo, a lo largo de la costa continental y en las Islas Galápagos, se encuentran comunidades coralinas discontinuas y parches arrecifales, los cuales forman los asentamientos coralinos más meridionales del Pacífico Este Tropical (Reina, 2015).

Según el estudio de Marin (2021) en Ecuador los parches de coral se encuentran distribuidos principalmente en las Islas Galápagos (San Cristobal y Santa Cruz), Santa Elena (Reserva Faunística Costera Puntilla de Santa Elena, El Pelado y Anconcito), Manabí (Parque Nacional Machalilla) y Esmeraldas (Reserva San Francisco de Galera), siendo la familia Pocilloporidae la más abundante con 25%

de frecuencia y con 7 especies, entre ellas *P. damicornis* y la familia Psammocoridae presentó un 7,1% de frecuencia y 2 especies, entre ellas *P. stellata*.

En Ecuador la identificación de corales se ha hecho de una forma tradicional basándose solamente en la morfología. Es así que en el estudio de Reina (2015) se identificaron un total de 13 especies de corales, 7 octocorales y 6 hexacorales, en la zona submareal de la punta de Anconcito de la Reserva de Producción Faunística Costera Puntilla de Santa Elena, estas especies fueron identificadas a partir de características morfológicas; sin embargo, en las recomendaciones del estudio se menciona que realizar estudios genéticos de las especies serviría para corroborar los registros e identificar especies que la morfología tradicional no pudo lograr.

Debido a los diferentes inconvenientes que presenta la identificación tradicional y que han sido contextualizados anteriormente en este documento, han surgido varias opciones para una correcta identificación de corales, como lo es la identificación molecular, la cual se basa en la implementación de marcadores moleculares genéticos (Servis et al., 2020).

Con ayuda de la identificación molecular se ha logrado identificar con éxito varios géneros de coral como *Isopora*, *Pavona*, *Acropora*, *Pocillopora*, *Porites* y *Montipora* (Hsu et al., 2014). Con respecto a las especies, las más analizadas han sido *I. palifera*, *I. cuneata* y *P. evermanni* (Hsu et al., 2014; Justel, 2017).

Cabe destacar, que no todos los marcadores moleculares son igual de efectivos en todos los géneros y según lo que se conoce actualmente, la región ITS sirve para la identificación de corales, aunque no se recomienda su uso para identificar al género *Acropora* (Justel, 2017). Finalmente, con respecto al gen COI se sugiere que no se trabaje solo sino en conjunto con ITS (Justel, 2017; Daza, 2018).

Sin embargo, en Ecuador no se ha realizado ninguna investigación enfocada en definir molecularmente especies de corales existentes, por lo que la diversidad de estos organismos en las costas ecuatorianas aún no se conoce completamente y la presencia de las especies ya descritas no es del todo certera (Reina, 2015). Hay que recalcar, que una vez conocidas las especies, determinar la distribución de estas es un factor clave, ya que si se desea realizar en el futuro planes de repoblación de corales, será necesario conocer la distribución de los organismos para no alterar el ecosistema (Paz, 2015; Reina, 2015;

Zhao, et al., 2021). Por lo tanto, la presente investigación tuvo como objetivo establecer la presencia de tres especies de corales en Manabí y Santa Elena, mediante análisis molecular y morfométrico con el fin de definir la distribución de estos organismos.

2. METODOLOGÍA

2.1. Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en las provincias Manabí y Santa Elena, zona litoral del Ecuador (tabla 1).

Tabla 1

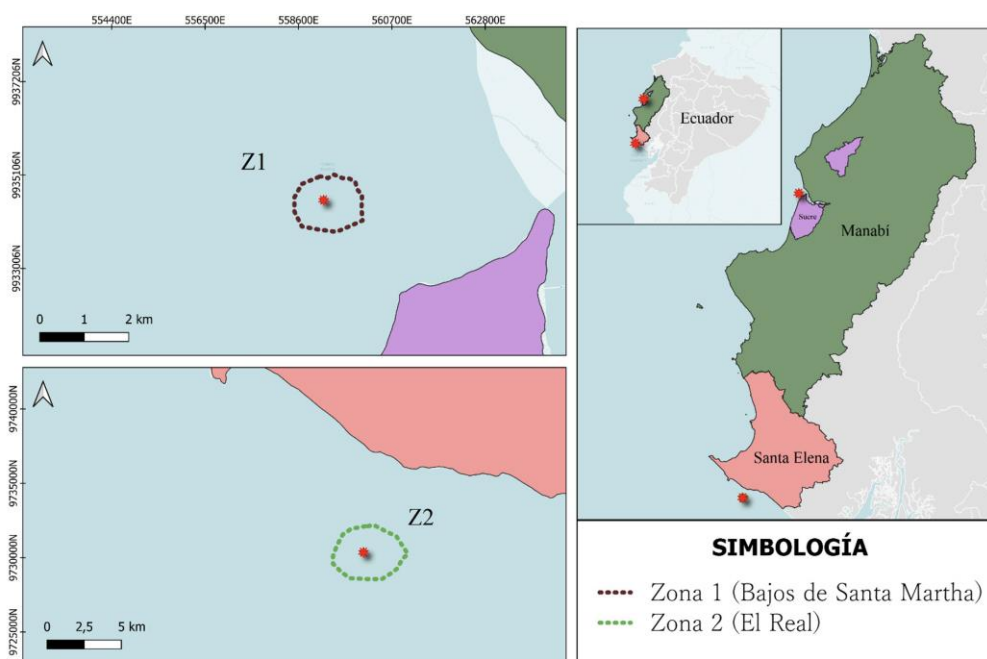
Sitios de muestreo y muestras de corales analizadas en la zona litoral del Ecuador. M = muestras para análisis molecular, m = muestras para análisis morfométrico. En paréntesis se encuentra el número de muestras que se analizaron.

Sitios	Nivel de profundidad	Coordenadas (S – W)	Especímenes (Género)	Tipo de análisis
Bajo de Santa Martha	Somero (3,7 m)	0°35'05.5''S 80°27'26.3''W	<i>Psammocora</i>	M (1), m (5)
El Real	Medio (8 m)	02°24'23.2''S 80°50'10.6''W	<i>Pocillopora</i>	M (2), m (10)

En Manabí, puntualmente el Bajo de Santa Martha ubicado a 5 km al noroeste de Bahía de Caráquez, con las coordenadas 0°35'05.5''S 80°27'26.3''W. El lugar esta compuesto por zonas rocosas, arenosas y placas de piedra grandes, la longitud exacta de la expansión de los bajos no se conoce actualmente; cuya profundidad está entre los 0 y 9 m (Andino, 2015). La zona pertenece a la nueva Reserva Marina Puerto Cabuyal – Punta San Clemente declarada como zona protegida en noviembre de 2021, debido a la diversidad de ecosistemas que presenta, entre ellos las formaciones coralinas que albergan a varias especies (MAATE, 2021). Mientras que en la provincia de Santa Elena, se escogió la zona de la comuna El Real, parroquia Chanduy, ubicada a 10 km al sureste del Puerto de Anconcito cuyas coordenadas fueron 02°24'23.2''S 80°50'10.6''W (figura 2).

Figura 2

Mapa de las zonas muestreadas. en las provincias de Manabí y Santa Elena.



La zona colinda con la Reserva de Producción Faunística Marino Costera Santa Elena (REMACOPSE), compartiendo varias características con esta, entre ellas la presencia de un fondo rocoso-arenoso, con presencia de arrecifes rocosos sobre los cuales se han formado parches de corales, tanto hermatípicos como ahermatípicos, dando paso a la formación de arrecifes rocosos-coralinos, en donde existe una gran diversidad de organismos, constituyendo un ambiente dinámico con alto interés biológico (Reina, 2015; MAATE, 2020). Estos arrecifes, con características típicas de los arrecifes del Pacífico, poseen tamaños relativamente reducidos y geográficamente se encuentran aislados entre sí (Barreiro & García, 2022).

2.2.Trabajo de campo

Debido a que ambos sitios donde se realizaron los muestreos, presentaron zonas mixtas entre arena, rocas y placas de piedra, se realizó previamente un buceo exploratorio inicial con un recorrido de 50 m con la finalidad de identificar los parches de coral existentes, de acuerdo con la metodología de Proaño (2011)

y Andino (2015). Una vez identificados los sitios con presencia de corales, se procedió a tomar las muestras y fotos de los organismos.

2.2.1. Recolección de especímenes de coral

Para el análisis morfológico y morfométrico, mediante buceo, se recolectaron fragmentos de aproximadamente 5 cm de largo de las colonias adheridas al sustrato y las colonias que se encontraban sueltas (vida libre) se tomaron en su totalidad. Los fragmentos recolectados se colocaron dentro de un bolso de malla durante el buceo y una vez se llegó a la superficie los fragmentos se lavaron con agua dulce y se dejaron secar al sol.

Para el análisis molecular se recolectó un fragmento de aproximadamente 2 cm del centro de la colonia de cada coral analizado (3 especímenes) y se fijaron con alcohol al 96% (León-Pech et al., 2015).

Se tomaron los datos del sitio de recolección y se colocaron en el formato tomado del “Protocolo para el monitoreo ecológico de formaciones coralinas” tales como: Sitio, fecha, hora, profundidad, visibilidad y coordenadas (latitud y longitud) (SINAC, 2016).

2.3.Trabajo de laboratorio

Una vez realizado el trabajo de campo se procedió a analizar las muestras en el laboratorio de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí Campus Bahía de Caráquez y en el laboratorio de la Plataforma Científica de Microscopía Electrónica del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI) Dr. Leopoldo Izquieta Pérez.

2.3.1. Identificación morfológica de las tres especies de coral

Los especímenes fueron identificados *ex situ* y con ayuda de fotografías *in situ* tomadas durante los buceos. Para la identificación se tomaron como referencia las descripciones taxonómicas de la morfología del esqueleto coralino de Veron, 2000; Ketchum & Reyes-Bonilla, 2001; Nui, et al., 2007; Stefani, 2007; Chau, et al., 2011.

2.3.2. Microscopía electrónica

Las fotos de los corales usadas en los análisis morfométricos fueron tomadas con ayuda del Microscopio Electrónico de Barrido JEO JSM-IT500. Los especímenes ingresados al microscopio fueron deshidratados completamente. El proceso consistió, inmediatamente después de que se recolectaron del mar, se limpiaron a presión con agua dulce y se secaron al sol durante dos semanas. Se realizó una limpieza extra, introduciéndolos en gluteraldehído al 3% durante 5 minutos y se realizaron movimientos leves al frasco donde se encontraban, una vez pasado el tiempo las muestras se dejaron secar al sol durante 3 días (Amano & Díaz, 2015).

El montaje consistió en colocar un trozo de muestra seca de aproximadamente 1 cm sobre una base de metal y adherirla a esta con ayuda de un pedazo de cinta de carbón doble adhesiva. Una vez montada la muestra esta fue colocada en el Evaporador al Vacío donde se sometió al proceso de recubrimiento con oro por 20 segundos, este proceso fue repetido de 3 a 5 veces hasta cubrir por completo la muestra. Finalmente, la muestra ya recubierta se introdujo en el Microscopio Electrónico de Barrido JEO JSM-IT500 y se realizaron las fotos para el análisis morfométrico (Amano & Díaz, 2015).

2.4. Morfometría *Pocillopora*

Se analizaron 28 caracteres cualitativos y morfométricos del esqueleto coralino de 10 especímenes de coral como se muestra en la tabla 4 (Cantera, et al., 1988). Cada especie de coral identificada anteriormente según la morfología, fue considerada como una OTU (Unidad Taxonómica Operacional), se analizaron 5 especímenes por cada OTU y los caracteres de los ejemplares de cada especie se codificaron de dos maneras: 1.0 (carácter presente) y 0.0 (carácter ausente). Las mediciones se realizaron en las fotos de los fragmentos recolectados con ayuda del programa ImageJ.

A partir de los datos obtenidos se realizó un análisis de coeficientes de similitud o Simple Matching Coeficiente (SMC) propuesto por Cantera, et al. (1988).

$$SMC = \frac{a + d}{a + b + c + d}$$

Donde:

a = Número de caracteres presentes en ambas OTU (*P. damicornis* y *P. verrucosa*).

b = Número de caracteres presentes en *P. damicornis* y *P. verrucosa*.

c = Número de caracteres ausentes en *P. damicornis* y *P. verrucosa*.

d = Número de caracteres ausentes en ambas OTU (*P. damicornis* y *P. verrucosa*).

Esto nos permitirán conocer la asociación de las OTU y el nivel de relación que existe entre ellas.

2.5.Morfometría *Psammocora*

Se midieron 16 variables lineales, 8 variables del coralite y 8 variables de la rama, (tabla 2) de 5 especímenes de *Psammocora stellata* (Stefani, et al., 2007).

Tabla 2

Lista de variables lineales medidas en Psammocora stellata. VC: Variable del coralite. VR: Variable de la rama (Stefani, et al., 2007).

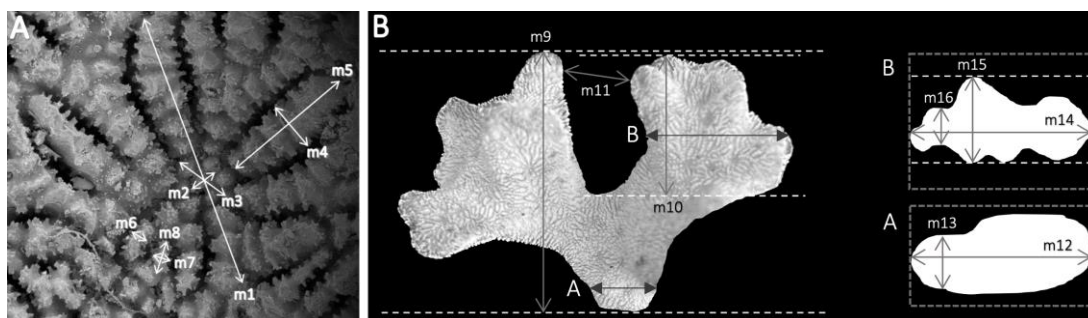
Nombre	Descripción	Tipo de variable
m1	Diámetro del cálce	VC
m2	Diámetro de la fosa	VC
m3	Diámetro de la columella	VC
m4	Ancho máximo de septos petaloides que llegan a la fosa	VC
m5	Longitud máxima de septos petaloides que llegan a la fosa	VC
m6	Ancho máximo de septos no petaloides	VC
m7	Ancho máximo de septos petaloides cerrados	VC
m8	Longitud máxima de septos petaloides cerrados	VC
m9	Altura total de la rama	VR
m10	Altura de la porción distal de la rama	VR
m11	Distancia mínima entre las porciones distales de la rama	VR
m12	Ancho máximo de la parte basal de la rama	VR
m13	Ancho mínimo de la parte basal de la rama perpendicular a m12	VR

m14	Ancho máximo de la porción distal de la rama	VR
m15	Ancho máximo de la porción distal de la rama perpendicular a m14	VR
m16	Ancho mínimo de la porción distal de la rama perpendicular a m14	VR

Las variables del coralite (VC) se midieron en las fotos de los fragmentos recolectados con ayuda del programa ImageJ (figura 3A) y las variables de la rama (VR) se midieron directamente del fragmento recolectado con ayuda de un calibrador Truper (figura 3B).

Figura 3

Representación gráfica de las variables lineales medidas en Psammocora stellata. A) Variables del coralite. B) Variables de la rama.



2.6. Análisis molecular

2.6.1. Extracción de ADN

La extracción de ADN se realizó siguiendo las instrucciones del Kit Fast DNA™ SPIN Kit for Soil. Se colocaron 50mg de muestra en un tubo de 1.5 mL con 3 perlas de vidrio, estériles junto con 500μL de buffer de extracción y 2μL de β-mercaptoetanol y se agitó la muestra vigorosamente usando BeadBeater a velocidad máxima, 2 veces. Una vez que el tejido quedó pulverizado, se incubó en baño María a 60°C por 30 minutos y se mezcló invirtiendo cada 10 minutos. Seguido a estos se añadieron 500μL de cloroformo congelado, se homogenizó en Vortex por 30 segundos y se dejó reposar unos minutos. Se continuó con centrifugación a 14,500 xg por 5 a 10 minutos y se colocaron aproximadamente 400μL del sobrenadante en un nuevo tubo estéril de 1.5 mL, junto con 400μL de etanol absoluto frío, 150μL de Acetato de sodio 3M y 300μL de etanol 70% filtrado, con el fin de precipitar el ADN. Se dejó reposar a -20°C toda la noche,

se centrifugó a 14,500 xg por 15 minutos y se eliminó el sobrenadante. Se realizaron 2 lavados con etanol 70%, usar aprox 200µL y se descartó el etanol por inversión. Se secaron los pellets durante 20 minutos en la cámara de flujo laminar. Pasado el tiempo se re suspendió el pellet de ADN con 25µL de agua DEPC, se añadió 1µL de RNAsa y se incubó 30 minutos a 37°C. Finalmente, se almacenaron las muestras a -20°C hasta su posterior uso.

2.6.2. Medición de ADN

La medición de ADN se realizó con ayuda del espectofotómetro NanoDrop. Se colocó 1 µL de muestra de ADN con ayuda de una micropipeta y las mediciones se obtuvieron en el programa del NanoDrop para la computadora.

2.6.3. PCR

El ADN se amplificó mediante una PCR utilizando los cebadores ITS1 e ITS4. La PCR se llevó a cabo en un termociclador MultiGene Mini 24 con las condiciones de amplificación detalladas en la tabla 3. Los tiempos y temperaturas de la PCR consistieron en 45 segundos a 94°C para desnaturalizar el ADN, 30 segundos a 54°C para acoplar los cebadores y el ADN diana y 90 segundos a 72°C para la extensión. La extensión final fue de 30 ciclos por 10 minutos a 72°C. Los resultados de la PCR se visualizaron mediante electroforesis.

Tabla 3

Condiciones para la reacción de las muestras de coral.

Componentes	Concentración para una muestra (µl)
DreamTaq Green DNA Polimerasa	12,5
Forward ITS1 5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'	1
Reverse ITS4 5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3'	1
H ₂ O	8,5
ADN	2
Final	25

2.6.4. Visualización del ADN

El ADN se visualizó en un gel de agarosa 1% en TBE 1X con 2 µL de bromuro de etidio. Se cargaron 2 µL de los productos de la PCR y 2 µL del marcador molecular (ABM 100pb plus opti DNA marker). Los parámetros para la electroforesis fueron 90V por 35 minutos. Finalmente, la visualización se realizó con ayuda de un transiluminador UV (WiseUv® - WUV-L10).

2.7.Distribución

Una vez identificadas las tres especies de coral, se realizó una revisión en la página http://v3.boldsystems.org/index.php/TaxBrowser_Home, con el fin de definir su distribución espacial.

2.8.Análisis de datos

El análisis de la morfometría se realizó mediante estadística descriptiva (promedio y desviación estándar) para *Psammocora* y mediante el coeficiente de similitud (SMC) para *Pocillopora*. Finalmente, para el análisis de distribución se realizó filogenia mediante alineación Clustalo y mediante el programa MEGA.

3. RESULTADOS

3.1. Análisis molecular

De las tres muestras de coral analizadas: *Pocillopora damicornis*, *Pocillopora verrucosa* y *Psammocora stellata*, solamente se logró obtener ADN genómico de la muestra de *Psammocora stellata* con una concentración de 269 ng/μL (figura 4).

El ADN obtenido fue utilizado en el proceso de preparación de librerías de los amplicones COI e ITS. Sin embargo, no se obtuvieron resultados al realizar la PCR (reacción en cadena de la polimerasa) con los primers TEPCOIF/TEPCOIR e ITS1/ITS4 (figura 5).

Figura 4

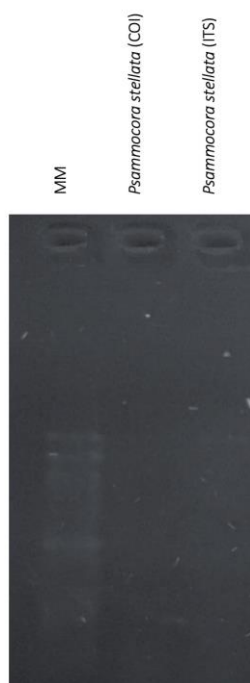
Gel de agarosa al 1% cargado con tres muestras de ADN de coral.

MM: Marcador de peso molecular ABM 100pb plus opti DNA marker.



Figura 5

Resultado de la electroforesis con los amplicones obtenidos con los primers *TEPCOIF/TEPCOIR* e *ITS1/ITS4*. MM: Marcador de peso molecular ABM 100pb plus opti DNA marker.



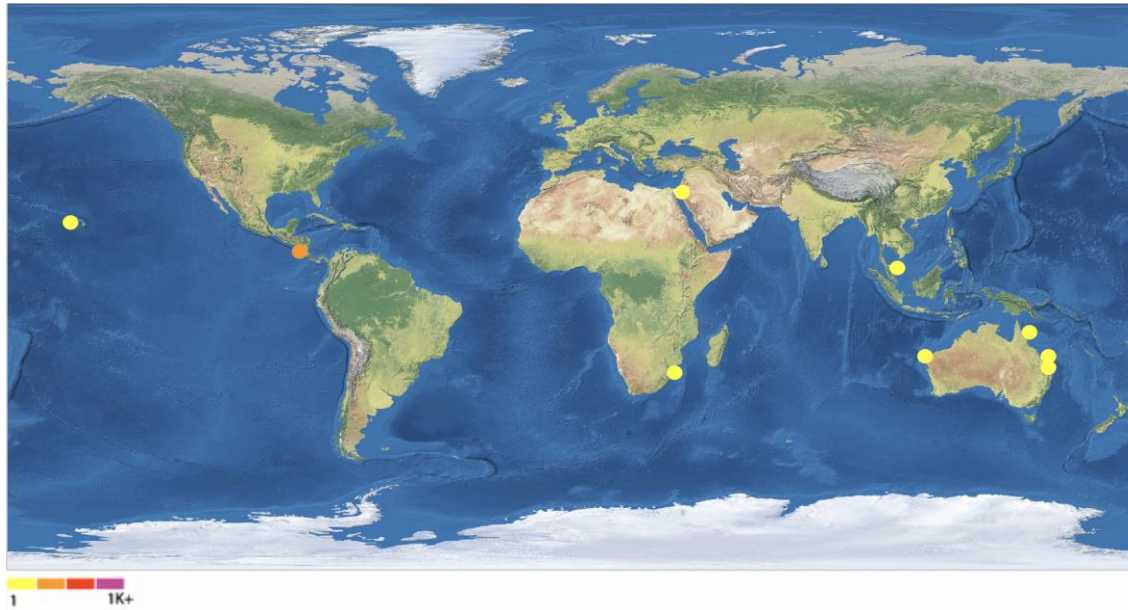
3.2.Distribución de especies

3.2.1. *Pocillopora damicornis*

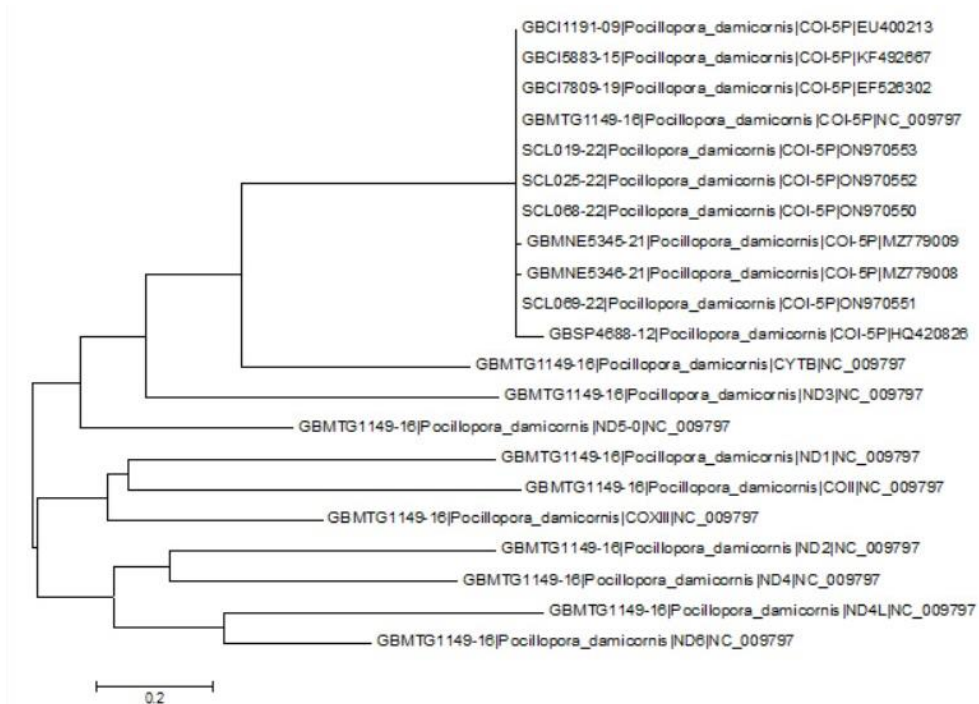
Se reporta la recolección de 31 especímenes de *Pocillopora damicornis* en 5 países: Costa Rica (18 especímenes), Australia (6 especímenes), Malasia (4 especímenes), Estados Unidos (2 especímenes) e India (1 especimen) (figura 6). Según la descripción molecular se ha descrito 9 clados (figura 7).

Figura 6

Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de *Pocillopora damicornis*.

**Figura 7**

Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI de *Pocillopora damicornis* tomadas de BoldSystems.



3.2.2. *Pocillopora verrucosa*

Se reporta la recolección de 17 especímenes de *Pocillopora verrucosa* en 5 países: Sudáfrica (10 especímenes), Malasia (3 especímenes), Australia (2 especímenes), Japón (1 espécimen) y Sri Lanka (1 espécimen) (figura 8). En cuanto a la filogenia a nivel molecular se ha descrito 3 clados (figura 9).

Figura 8

Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de Pocillopora verrucosa

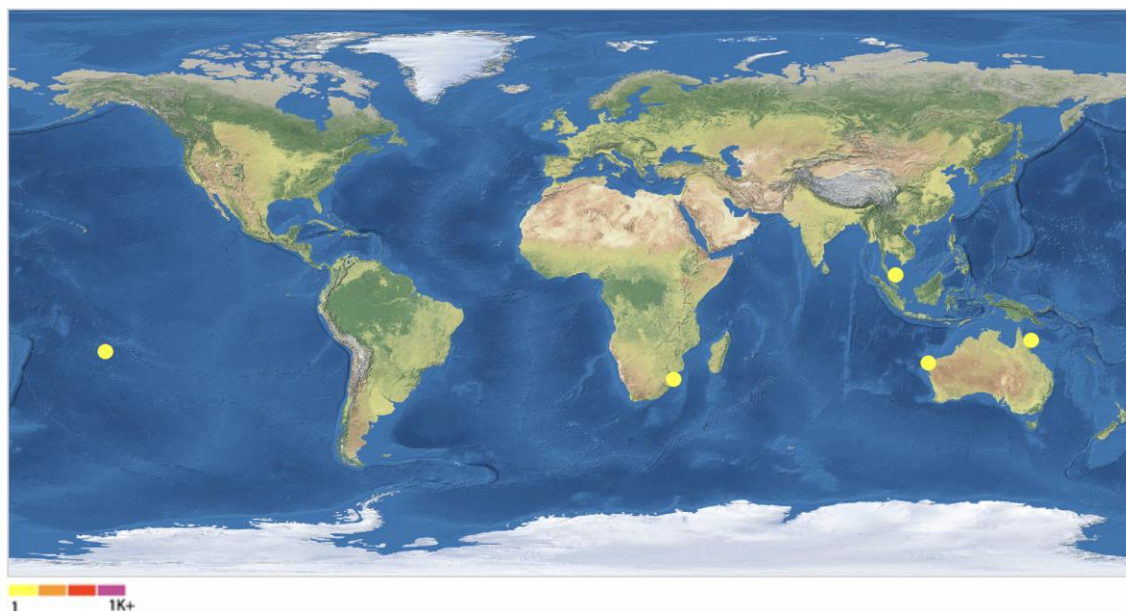


Figura 9

Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI de Pocillopora verrucosa tomadas de BoldSystems.



3.2.3. *Psammocora stellata*

Se reporta la recolección de 10 especímenes de *Psammocora stellata* en 2 países: Costa Rica (9 especímenes) y Sudáfrica (1 espécimen) (figura 10). Según la descripción molecular se ha descrito 19 clados (figura 11).

Figura 10

Mapa en donde se señalan los lugares de recolección de Psammocora stellata.

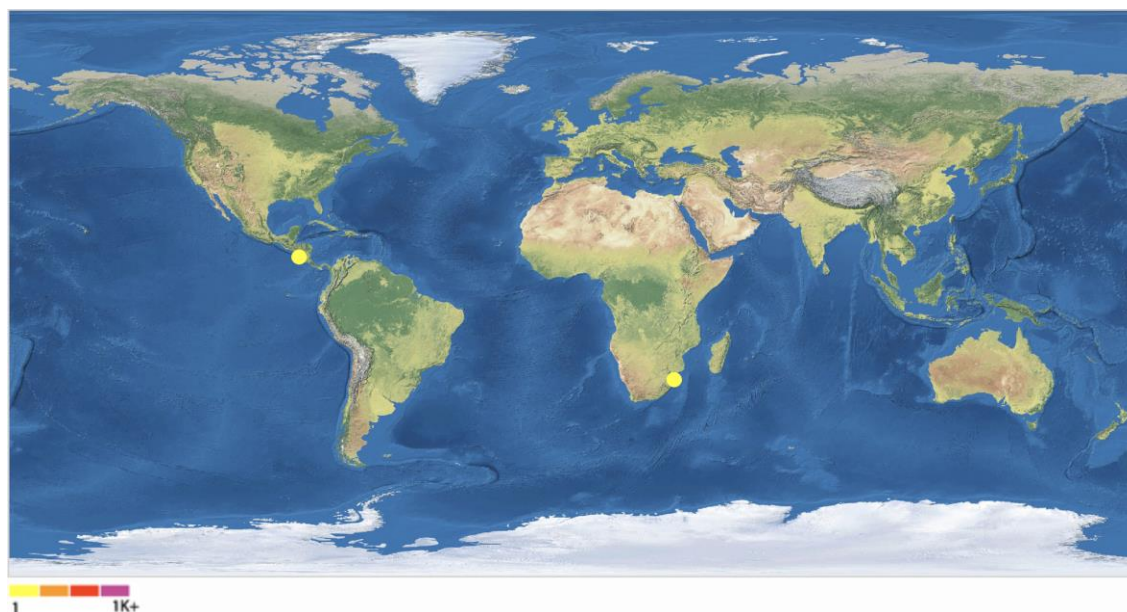
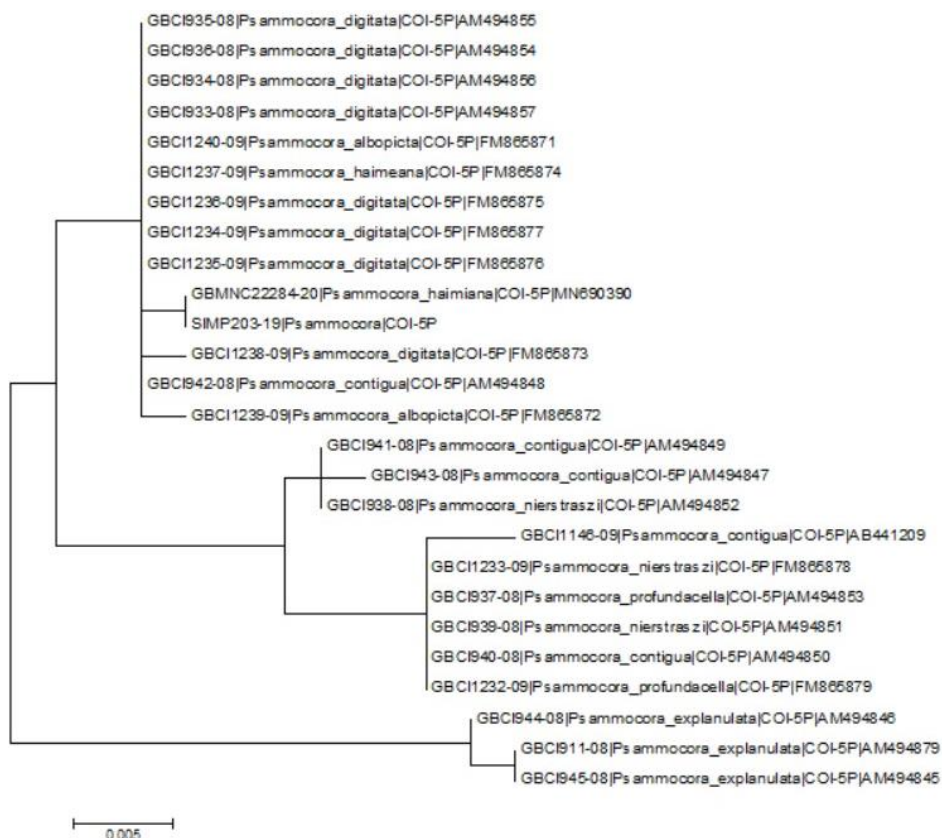


Figura 11

Árbol filogenético de las secuencias de la región del gen COI del género *Psammocora* tomadas de *BoldSystems*.



3.3. Caracterización morfológica

A partir de la caracterización morfológica se identificaron 3 especies de coral *P. damicornis*, *P. verrucosa* y *P. stellata*.

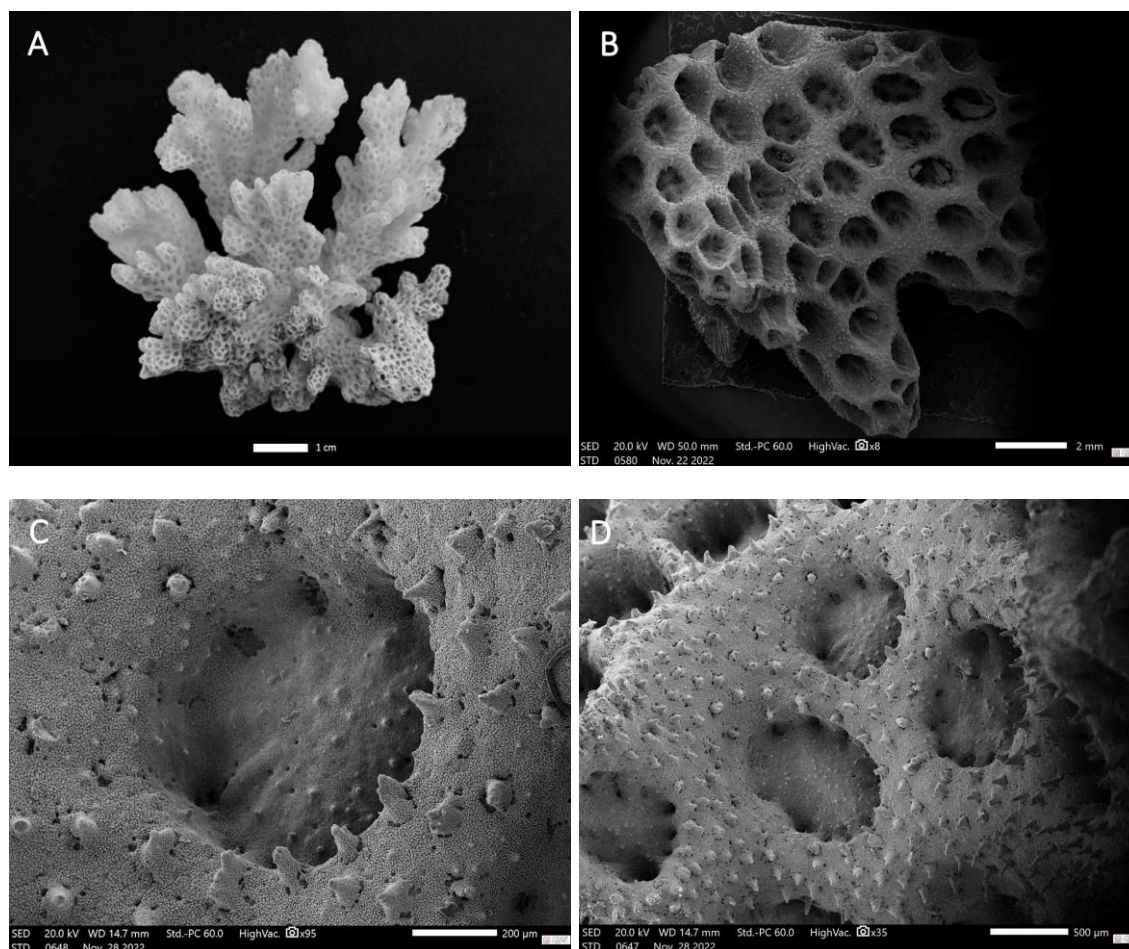
3.3.1. *Pocillopora damicornis*

Esta especie presenta una forma hemisférica y muy ramificada, las ramas poseen formas columnares y son delgadas, y las colonias disponen de escasas verrugas las cuales dan lugar a subramificaciones (figura 12A). Posee un color café claro con zonas que tienden a volverse amarillas. Todo el esqueleto, sin excepción, está lleno de orificios de tamaños diferentes, estos orificios son sus coralites, los cuales se encuentran sumergidos en la superficie de la colonia (figura 12B).

Como parte de la estructura del coralite de los ejemplares analizados, los septos son rudimentarios o ausentes y se encuentran bordeados por una pared definida, con ausencia de costa, y en cuanto a la columella, se encuentra ausente o poco desarrollada, presentando una estructura rudimentaria con espigas (figura 12C). Finalmente, el coenosteum dependiendo del lugar de la colonia, se encuentra presente o ausente y está cubierto con abundantes dentículos (figura 12D).

Figura 12

Pocillopora damicornis. A) Colonia con ramificaciones y subramificaciones, B) Morfología del exoesqueleto, C) Estructuras del coralite, D) Coenosteum presente y ausente en una sola colonia.



3.3.2. *Pocillopora verrucosa*

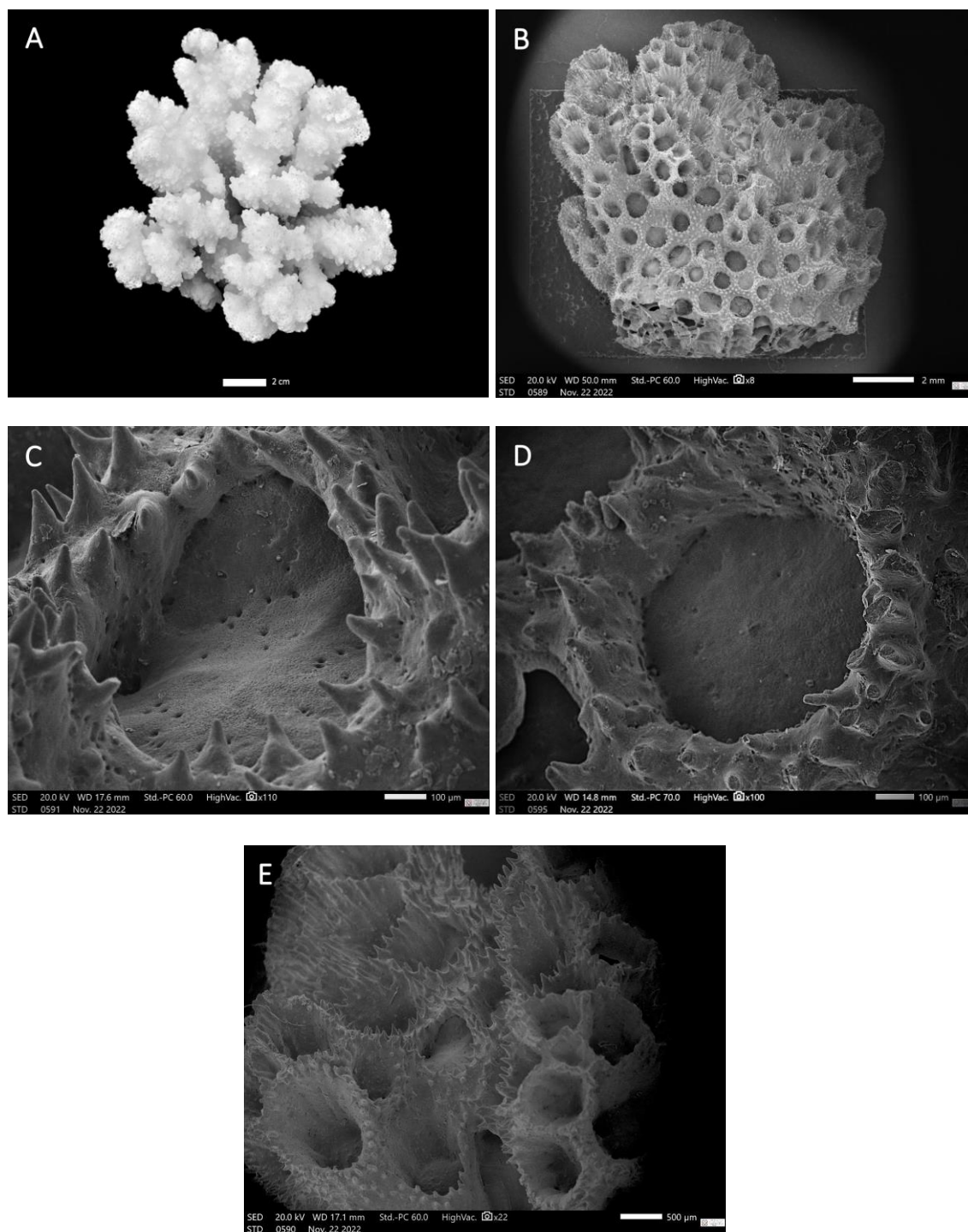
Las colonias se componen de ramas redondeadas o ligeramente ovaladas, las cuales se originan a partir de una base submasiva y poseen formas erguidas y uniformes, evidentemente muy distintas a las

verrugas y las subramificaciones las cuales poseen tamaños irregulares, las verrugas a pesar de presentar orientación y tamaño irregular, siempre se encuentran bien definidas con un aspecto liso y redondeado, cubriendo toda la estructura aunque en los ápices suelen volverse más pequeñas (figura 13A).

Los coralites se encuentran dispuestos debajo de la superficie de toda la colonia densa y uniformemente, aunque no en forma de hileras, no presentan costas y poseen una pared definida (figura 13B). Los septos y la columella se encuentran bien desarrollados; sin embargo, conforme los coralites se acerquen más al ápice los septos y la columella son menos desarrollados, cuando la columella está presente suele tener forma redonda definida o planada lateralmente (figura 13C y D). El coenosteum se encuentra cubierto de espinas que rodean a los coralites (figura 13E).

Figura 13

Pocillopora verrucosa. A) Colonia con ramificaciones, subramificaciones y verrugas, B) Morfología del exoesqueleto, C) Coralite de cerca del ápice de la colonia con septos poco desarrollados, D) Coralite del ápice de la colonia con septos casi ausentes, E) Coenosteum cubierto de espinas.



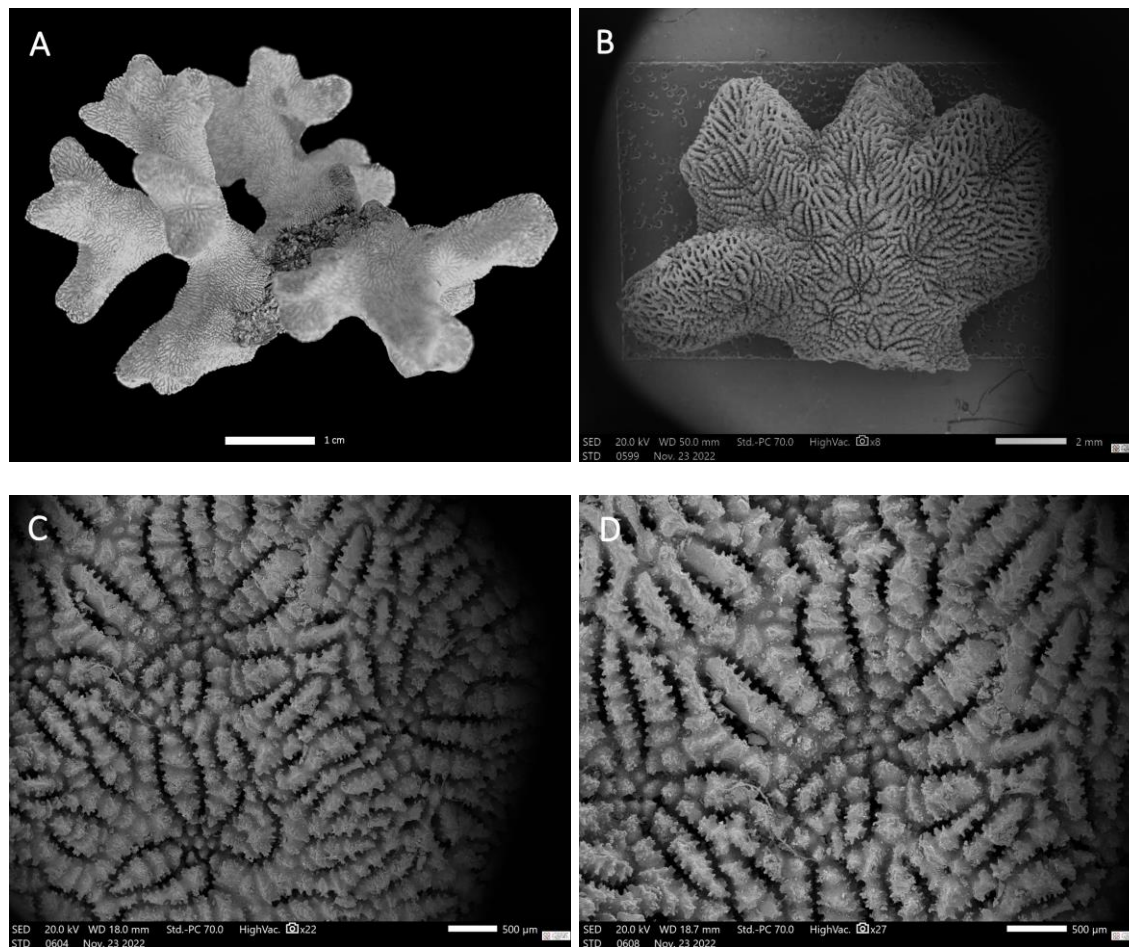
3.3.3. *Psammocora stellata*

Las colonias pueden ser ramificadas o submasivas, con una base inscrustante y los extremos de las ramas son redondeados (figura 14A). Presenta un color gris-marrón. Sus coralites son someros, no presentan un tamaño uniforme, se distribuyen en toda la colonia, presentan septocostas y una pared sinapticotecal que rodea los cálices y que no es visible a menos de que se eleve ligeramente de la superficie de la colonia, pueden formarse series cortas de cálices a lo largo de la dirección de crecimiento de la rama (figura 14B).

El coralite presenta 7 a 10 septos, de los cuales 3 o 4 poseen forma petaloide, los septos no petaloides se bifurcan y fusionan los septos petaloides que los rodean, formando una malla compacta con espacios interseptales reducidos, los septos petaloides que alcanzan la columella tienen 0.2 a 0.3 mm de ancho y 0.7 a 1 mm de largo, y los septos no petaloides tienen 0.1 a 0.2 mm de ancho (figura 14B, 14C). La columella posee un diámetro de 0.3 a 0.4 mm, la cual se compone de estructuras redondas (5-7) del mismo tamaño (figura 14D).

Figura 14

Psammocora stellata. A) Colonia con ramificaciones, B) Morfología del exoesqueleto, C) Estructuras del coralite, D) Coralite con columella presente.



3.4. Análisis morfométrico

La codificación de los caracteres cualitativos y morfométricos de *Pocillopora damicornis* y *P. verrucosa* se muestran en la tabla 4. En cuanto a los caracteres cualitativos, ambas especies presentaron subramificaciones, ramificaciones abundantes y verrugas redondeadas. No obstante, *P. damicornis* presentó ramificaciones dicotómicas y *P. verrucosa* presentó ramificaciones espatuladas con muchas verrugas, región apical aplanada y con verrugas. Finalmente, los caracteres morfométricos mostraron los mismos rangos para las dos especies, promedio de la ramificación fue de 5 a 10 cm, la amplitud máxima región apical fue de 11 a 25 cm, la altura promedio de verruga fue de 1.1 a 2.5 cm y el diámetro promedio de

verruga fue de 1.1 a 2.0 cm, el único carácter diferente fue el diámetro promedio del cálce, siendo de 0.4 a 0.5 cm para *P. damicornis* y de 0.51 a 0.7 cm para *P. verrucosa*.

Tabla 4

Lista de los caracteres cualitativos y morfométricos del esqueleto coralino implementados en el análisis de taxonomía numérica. OTU: Pocillopora damicornis y Pocillopora verrucosa.

Caracteres		OTU	
Caracteres		<i>Pocillopora damicornis</i>	<i>Pocillopora verrucosa</i>
1.	Subramificaciones	1	1
2.	Ramificaciones abundantes	1	1
3.	Ramificaciones dicotómicas	1	0
4.	Ramificaciones espatuladas	0	1
5.	Ramificaciones capitadas	0	0
6.	Ramificaciones con muchas verrugas	0	1
7.	Región apical aplanada	0	1
8.	Verrugas en la región apical	0	1
9.	Verrugas elongadas	0	0
10.	Verrugas redondeadas	1	1
11.	Columnela desarrollada	0	0
12.	Septas desarrolladas	0	0
13.	Septa directriz	0	0
14.	Diámetro promedio ramificación 5-10	1	1
15.	Diámetro promedio ramificación 11-20	0	0
16.	Diámetro promedio ramificación 21-35	0	0
17.	Amplitud máxima región apical 4-10	0	0
18.	Amplitud máxima región apical 11-25	1	1
19.	Amplitud máxima región apical 26-80	0	0
20.	Altura promedio de verruga 1.1-2.5	1	1

21. Altura promedio de verruga 2.6-3.5	0	0
22. Altura promedio de verruga 3.6-5.5	0	0
23. Diámetro promedio de verruga 1.1-2.0	1	1
24. Diámetro promedio de verruga 2.1-3.0	0	0
25. Diámetro promedio de verruga 3.1-4.0	0	0
26. Diámetro promedio del cáliz 0.4-0.5	1	0
27. Diámetro promedio del cáliz 0.51-0.7	0	1
28. Diámetro promedio del cáliz 0.71-0.8	0	0

El análisis de coeficientes de similitud SMC que se obtuvo fue de 0.75. Es decir *P. verrucosa* y *P. damicornis* mostraron un nivel de similitud de 0.75.

En el caso de la especie *Psammocora stellata* las dimensiones establecidas se muestran en la tabla 5. En cuanto a las variables del coralite (VC) los valores de la desviación estandar fueron menores a 1, presentando poca dispersión en sus datos, a diferencia de las variables de la rama (VR) que presentaron valores mayores a 1, es decir una mayor dispersión en las medidas, a excepción del ancho máximo de la parte basal de la rama, el ancho mínimo de la parte basal de la rama perpendicular a m12 y el ancho mínimo de la porción distal de la rama perpendicular a m14.

Tabla 5

Medidas en Psammocora stellata según Stefani, et al., 2007.

	Promedio	Desviación estandar
Diámetro del cáliz	1,742	0,70
Diámetro de la fosa	0,175	0,02
Diámetro de la columella	0,425	0,06
Ancho máximo de septos petaloides que llegan a la fosa	0,358	0,05
Longitud máxima de septos petaloides que llegan a la fosa	0,853	0,14
Ancho máximo de septos no petaloides	0,245	0,05

Ancho máximo de septos petaloides cerrados	0,231	0,07
Longitud máxima de septos petaloides cerrados	0,415	0,19
Altura total de la rama	22,051	2,16
Altura de la porción distal de la rama	12,195	1,53
Distancia mínima entre las porciones distales de la rama	4,001	2,06
Ancho máximo de la parte basal de la rama	6,785	0,78
Ancho mínimo de la parte basal de la rama perpendicular a m12	5,048	0,66
Ancho máximo de la porción distal de la rama	13,382	3,72
Ancho máximo de la porción distal de la rama perpendicular a m14	8,040	1,65
Ancho mínimo de la porción distal de la rama perpendicular a m14	3,458	0,65

4. DISCUSIÓN

La identificación de los corales a nivel de especie resulta complicada debido a la poca cantidad de caracteres diagnósticos y a la variabilidad que posee su morfología esquelética. Esta problemática con los corales puede conllevar consigo un obstáculo en la comprensión de su evolución y biodiversidad (Forsman et al., 2009). Sin embargo, todos estos inconvenientes han hecho que la identificación molecular surja como una opción viable para la delimitación correcta de las especies de coral (Paz, 2015; Justel, 2017).

La información del ADN mitocondrial es una herramienta de gran importancia para los análisis filogenéticos enfocados a nivel de especie. Entre los marcadores moleculares más usados de la región mitocondrial se encuentra el gen codificante de la enzima citocromo c oxidasa o citocromo oxidasa I (COI) (Justel, 2017). Este gen posee un aproximado de 894 pb y se utiliza comunmente en la rama de la filogenia molecular (Justel, 2017). Sin embargo, posee un nivel bajo de poliformismo y presenta limitaciones como herramienta útil para la delimitación de especies de corales, aunque al combinarlo y compararlo en un enfoque de marcador múltiple puede llegar a ser muy informativo (Forsman et al., 2009).

Una de las mejores opciones para el análisis filogenético es la región genómica codificante del ARN ribosomal (ARNr), ya que es universal y posee regiones variables y conservadas (Keshavmurthy et al., 2012). En el caso de las células eucariotas, la región genómica que codifica al 5.8S se encuentran dos regiones no codificantes conocidas como espaciadores internos transcritos 1 y 2 (ITS 1 y 2) (Justel, 2017). La región ITS se considera un marcador molecular eficiente, siendo utilizado con éxito en gran variedad de organismos, entre ellos plantas, hongos y corales (Forsman et al., 2009; Keshavmurthy et al, 2012; Paz, 2015; Justel, 2017). En nuestros análisis moleculares los resultados de secuenciación no permitieron ser concluyentes para la identificación a nivel de especie, posiblemente por la contaminación debido a la presencia de microorganismos como hongos y bacterias adheridos a los corales.

Esto nos permite establecer que la implementación de marcadores moleculares para la identificación de corales es una forma de asegurar la veracidad de las identificaciones morfológicas tradicionales pero es necesario mantener la pureza del material genética de la especie objetivo, además de considerar que antes de llevar a cabo esta técnica, es importante seleccionar un marcador molecular apto

para la especie que se decida analizar y definir primers específicos para la región con el fin de obtener una extracción de ADN correcta. Así, Benzoni, et al. (2007), evaluó una porción del gen 5.8S, la región completa ITS2 y una porción del gen 28S usando un primer diseñado específico para el género *Psammocora*, con el fin de evitar la amplificación del ADN de zooxantelas, logrando identificar 7 especies de *Psammocora*, entre ellas *P. explanulata*, *P. contigua*, *P. digitata*, *P. nierstraszi*, *P. profundacella*, *P. stellata* y *P. superficialis*.

No obstante, Stefani, et al. (2007), para el análisis molecularmente al género *Psammocora*, usó otra región del gen β -tubulina, utilizando los primers β tubF y β tubR, dando como resultado la identificación de 3 especies de *Psammocora*: *P. obtusangula*, *P. contigua* y *P. stellata*, sin embargo, no todos los especímenes pudieron ser secuenciados debido a que presentaron bandas con mayor o menor peso molecular característico de una impureza en la calidad del ADN. En cuanto al género *Pocillopora*, inicialmente, se secuenció el genoma mitocondrial de *Pocillopora eydouxi* y *Pocillopora damicornis*, y se estableció que dos regiones mitocondriales brindan información importante para distinguir las morfoespecies a partir del marco abierto de lectura (siglas en inglés ORF/*Open Reading Frame*) y región de control (CR/*Control Region*) (Flot & Tillier, 2007).

En general, la correcta identificación de especies ayuda a establecer análisis más avanzados, como determinar si especímenes distintos son parte de un solo linaje basándose en datos filogenéticos de varios genes en distintos individuos del género. Esto permite establecer la distribución en distintas localidades, logrando explicar las variantes morfológicas en cada sitio (Paz, 2015).

En los casos donde la identificación molecular no ha resultado posible, debido a los costos elevados y los inconvenientes presentados durante la ejecución de los protocolos de análisis molecular, la identificación basada en análisis morfométricos se ha llevado a cabo como alternativa en diferentes especies, entre ellas los corales. En el estudio de Stefani, et al. (2007) se identifican especies ramificadas del género *Psammocora*, basándose en diferentes análisis, entre ellos el morfométrico que sirve para delimitar una especie. Así, con el afán de distinguir y agrupar grupos taxonómicos, se ha usado la similitud total (De Luna, 2020). Una opción de agrupación es el coeficiente de similitud (SMC), esta es una medida

estadística que sirve para correlacionar la similitud que existe entre muestras que presenten datos binarios (Crisci & Lopez, 2018; Verma & Kumar, 2019). Se define como la relación entre el número total de los atributos coincidentes con el número total de los atributos presentes (Crisci & Lopez, 2018; Aubert-Carreño et al., 2021).

La interpretación de los resultados del SMC son simples; sin embargo, es importante que los caracteres sean binarios y significativos para obtener datos correctos (Crisci & Lopez, 2018). El valor del SMC siempre estará entre 0 y 1, y mientras más alto sea este, mayor será la similitud entre la muestra de los datos (Crisci & Lopez, 2018; Verma & Kumar, 2019). Esto nos permite delimitar a las especies coralinas basándose en su morfometría (Cantera, et al., 1988). En nuestros resultados el índice de SMC es de 0.75, esto nos permite establecer la presencia de dos especies distintas en el estudio, no obstante estudio realizado por Paz (2015), se menciona que *Pocillopora damicornis* y *Pocillopora verrucosa* presentan una mayor similitud en sus caracteres morfológicos en condiciones de alta corriente, así observaciones realizadas por Pinzon, et al. (2013) advierten que en algunas zonas del Indo-Pacífico *P. verrucosa* puede presentar colonias con las características de *P. damicornis*. Por lo tanto, debido a la plasticidad fenotípica que posee el género *Pocillopora*, su identificación basada solamente en caracteres morfológicos puede ser errónea. Ante esto, es importante considerar la distribución de los organismos al momento de realizar delimitaciones de especies, ya que la distribución juega un papel clave en su morfología. Tal es el caso de *Psammocora stellata*, la cual presenta grandes diferencias con el resto de especies ramificadas del género *Psammocora*, debido a que *Psammocora contigua* y *Psammocora obtusangula* presentan una distribución superpuesta, dando como resultado el aislamiento de *P. stellata* y su marcada diferencia morfológica, demostrando que la distribución geográfica es el principal factor delimitante de la especie (Stefani, et al., 2007).

Por lo tanto, el aislamiento geográfico junto con las amplias distribuciones de ciertos organismos interfieren en la morfología de estos, ya que al estar expuestos a la heterogeneidad ambiental, y con el fin de hacer frente a los cambios ambientales y aumentar su tasa de supervivencia, se adaptan al ambiente modificando sus características y generando plasticidad fenotípica específica, ya que depende del genoma del organismo y las presiones ambientales a las que esté expuesto (Paz, 2015).

5. CONCLUSIONES

- La región genómica codificante del ARN ribosomal (ARNr) es una gran opción para los análisis filogenéticos de corales. En *Psammocora* se recomienda el uso de una porción del gen 5.8S, la región completa ITS2, una porción del gen 28S, y con respecto a *Pocillopora* la región ITS2, junto con las regiones ORF (*Open Reading Frame*) y CR (*Control Region*). Con respecto a los primers de ITS la mejor opción es que sean específicos y se implementen secuencias de *Symbiodinium*.
- El SMC mostró que *Pocillopora damicornis* y *P. verrucosa* presentan una relación muy cercana debido a sus características morfométricas y debido a que ambas presentan una distribución muy extensa a lo largo del Indo-Pacífico y al antecedente de su morfología plástica, no se puede descartar la opción de que sean morfotipos de un solo linaje con características morfológicas diferentes.
- Los análisis morfométricos realizados en las especies ramificadas de *Psammocora*, indican que *Psammocora stellata* es la especie que presenta los septos y la columella más grande a comparación de *P. contigua* y *P. obtusangula*, y debido a que su distribución se encuentra limitada, recae en el aislamiento geográfico, dando como resultado una marcada diferencia morfológica en esta especie.

6. RECOMENDACIONES

- Con el fin de evidenciar los diferentes tipos de variación morfológica que pueden presentar las especies de la región, sería importante al momento de realizar este tipo de estudios trabajar con varias morfoespecies de una zona específica a fin de compararlas y determinar los morfotipos de la zona.
- Considerando que la región ITS se utiliza también para la identificación de hongos y plantas, es importante que al momento de escoger la muestra para la extracción de ADN, esta no sea de la superficie del coral, ya que es más propensa a contaminación, que pueden interferir en los resultados de la identificación molecular.
- *Psammocora stellata* ha sido la única especie del género reportada en la zona; por lo tanto, sería importante explorar las zonas aledañas en busca de más ejemplares del género y analizar su morfometría con la finalidad de determinar si *P. stellata* presenta aislamiento geográfico en la región.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Amano, Y., & Díaz, L. (2015). Introducción a la microscopia electrónica principios - aplicaciones. En Y. Amano, & L. Díaz, *Introducción a la microscopia electrónica principios - aplicaciones* (págs. 50-55). Guayaquil.
- Andino, D. (Abril de 2015). Identificación taxonómica de la ictiofauna marina diurna durante la época lluviosa en los Bajos de Santa Martha (Bahía de Caráquez) antón Sucre, provincia de Manabí. Bahía de Caráquez, Manabí, Ecuador.
- Aubert-Carreño, R., Quispe-Flórez, M., Muñiz-Durán, G., & Blas-Sevillano, R. (2021). Comparación de tres coeficientes de similitud para análisis con marcadores moleculares AFLP en *Lupinus mutabilis* Sweet. Lima, Perú.
- Barreiro, S., & García, R. (2022). Evaluación de la interacción entre zoantidos y poríferos en base a su nivel de cobertura espacial en anconcito y san lorenzo provincia de Santa Elena, 2022. La Libertad, Santa Elena , Ecuador.
- Benzoni, F., Stefani, F., Stolarski, J., Pichon, M., Mitta, G., & Galli, P. (2007). Debating phylogenetic relationships of the scleractinian *Psammocora*: molecular and morphological evidences.
- Budd, A. (1990). Reproduction, Longterm Patterns of Morphological Variation within and among Species of Reef-corals and their Relationship to Sexual.
- Budd, A., Johnson, K., & Potts, D. (1994). Recognizing morphospecies in colonial reef corals: I. Landmark-based methods.
- Budd, A., Romano, S., Smith, N., & Barbeitos, M. (3 de junio de 2010). Rethinking the Phylogeny of Scleractinian Corals: A Review of Morphological and Molecular Data.
- Cantera, J., von Prahl, H., Escobar, J., & Peña, E. (1988). Sistemática de los corales del género *Pocillopora* del pacífico colombiano utilizando taxonomía numérica. Cali, Colombia.
- Conservation Diver. (12 de octubre de 2015). Coral Taxonomy and Identification.

- Crisci, J., & Lopez, F. (2018). Introducción a la Teoría y Práctica de la Taxonomía Numérica.
- Daza, L. (2018). Uso del gen citocromo oxidasa I (COI) y código de barras en estudios de genética y biología molecular para la identificación de especies animales. Fusagasugá, Colombia.
- De Luna, E. (25 de febrero de 2020). Integrando análisis morfométricos y filogenéticos: de la sistemática fenética a la morfometría filogenética. Mexico.
- Flot, J., & Tillier, S. (15 de octubre de 2007). The mitochondrial genome of Pocillopora (Cnidaria: Scleractinia) contains two variable regions: The putative D-loop and a novel ORF of unknown function.
- Forsman, Z., Barshis, D., Hunter, C., & Toonen, R. (24 de febrero de 2009). Shape-shifting corals: Molecular markers show morphology is evolutionarily plastic in Porites.
- Forsman, Z., Wellington, G., Fox, G., & Toonen, R. (3 de febrero de 2015). Clues to unraveling the coral species problem: distinguishing species from geographic variation in Porites across the Pacific with molecular markers and microskeletal traits.
- Hsu, C., De Palma, S., Kuo, C., Denis, V., & Allen, C. (11 de septiembre de 2014). Identification of Scleractinian Coral Recruits Using Fluorescent Censusing and DNA Barcoding Techniques.
- Justel, M. (2017). Identificación molecular de Porites evermanni: análisis morfológico y óptico de dos morfotipos en el Pacífico mexicano. Ensenada, Baja California, México.
- Keshavmurthy, S., Hsu, C., Kuo, C., Meng, P., Wang, J., & Chen, C. (2012). Symbiont communities and host genetic structure of the brain coral *Platygyra verweyi*, at the outlet of a nuclear power plant and adjacent areas. Taipei, Taiwan.
- Ketchum, J., & Reyes-Bonilla, H. (2001). Taxonomía y distribución de los corales hermatípicos (Scleractinia) del Archipiélago de Revillagigedo, México.
- Knowlton, N., & Jackson, J. (Febrero de 2008). Shifting Baselines, Local Impacts, and Global Change on Coral Reefs.
- Lazcano, J., Salazar, Z., & González-Márquez, H. (abril de 2020). Anémonas, corales y medusas: los cnidarios y su importancia médica. México.

- León-Pech, M., Castillo-Páez, A., Bisbal-Pardo, C., & Rocha-Olivares, A. (21 de junio de 2015). Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermicifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific.
- MAATE. (2020). Plan de manejo reserva de producción de fauna marino costera puntilla de Santa Elena. Ecuador.
- MAATE. (26 de Noviembre de 2021). Ecuador comprometido con la conservación: nueva reserva marina en Manabí. Manabí, Ecuador.
- Marin, J. (2021). Clasificación de hexacorales-corales en la zona costera e insular del Ecuador. La Libertad, Santa Elena, Ecuador.
- Matamoros-Calderón, W., Lara, M., & Breedy, O. (Octubre de 2021). Bosques de coral negro del Área de Conservación Guanacaste, Costa Rica: especies y distribución. Costa Rica.
- Nui, R., Glynn, P., Wellington, G., Riegl, B., Olson, D., Borneman, E., & Wieters, E. (2007). Diversity and Biogeography of the Scleractinian Coral Fauna of Easter Island.
- Paz, D. (Enero de 2015). Variación genética y morfológica de los corales pocillopora (anthozoa: scleractinia) en el Pacífico Oriental. La Paz, Baja California Sur, Mexico.
- Paz-García, D., Aldana-Moreno, A., Cabral-Tena, R., . García-De-León, F., Hellberg, F., & Balart, E. (Enero de 2015). Morphological variation and different branch modularity across contrasting flow conditions in dominant Pocillopora reef-building corals.
- Pinzon, J., Sampayo, E., Cox, E., Chauka, L., Chen, C., Voolstra, C., & LaJeunesse, T. (2013). LaJeunesse.
- Proaño, C. (2011). Identificación y listado de gasterópodos y bivalvos del Bajo de Santa Marta, Manabi - Ecuador octubre 2010 - abril 2011. Bahía de Caráquez, Manabí, Ecuador.
- Reina, J. (2015). Diversidad y abundancia de corales en la zona submareal de la punta de Anconcito de la reserva de producción faunística marino costera puntilla de Santa Elena (REMACOPSE), durante el periodo diciembre 2014 – abril 2015. La Libertad, Santa Elena, Ecuador.

- Reyes-Bonilla, H., López-Pérez, A., Paz-García, D., Parra-Madrado, G., Medina-Rosas, P., & Balart, E. (abril de 2017). Distribución del coral arrecifal *Pocillopora inflata* (Scleractinia) en el Pacífico Mexicano y comentarios sobre su situación taxonómica . Ciudad de México, México.
- Rivera, F., & Martínez, P. (2011). Guía Fotográfica de Corales y Octocorales. Ecuador.
- Rodríguez, R., Báez, D., Valcárcel, A., Evangelista, D., Bello De Lillo, Y., & Matos Mercedes, J. (01 de enero de 2022). Importancia de los viveros de coral y su impacto socioeconómico .
- Sellares, R., Valdez, A., Villalpando, M., Guendulain, S., Croquer, A., Plekaniec, R., . . . Delance, J. (2022). Estado actual de los arrecifes del Banco de la Plata, República Dominicana: expedición abril 2022. República Dominicana .
- Servis, J., Reid, B., Timmers, M., Stergioula, V., & Naro-Maciel, E. (10 de Mayo de 2020). Caracterización de la biodiversidad de los arrecifes de coral: delimitación de especies genéticas en cangrejos braquiuros del atolón de Palmyra, Pacífico central. Estados Unidos.
- Shau, A., Woo, A., Fukami, H., Hibino, K., Pollisco, F., & Inciong, R. (abril de 2011). Training Manual on Corals Taxonomy in Southeast Asia.
- SINAC. (2016). Protocolo para el monitoreo ecológico de formaciones coralinas. San José, Costa Rica.
- Stefani, B., Benzoni, F., Pichon, M., Cancelliere, C., & Galli, P. (2 de octubre de 2007). Blackwell Publishing Ltd A multidisciplinary approach to the definition of species boundaries in branching species of the coral genus *Psammocora* (Cnidaria, Scleractinia).
- Torruco, D., & González, A. (2010). Estado actual de los corales. En R. Durán, & M. Méndez, *Biodiversidad y Desarrollo Humano en Yucatán* (págs. 204-208). Mérida, México.
- Verma, V., & Kumar, R. (08 de junio de 2019). A New Similarity Measure Based on Simple Matching Coefficient for Improving the Accuracy of Collaborative Recommendations.
- Veron, J. (2000). New species described in Corals of the World.
- Zhao, M., Zhang, H., Zhong, Y., Xu, X., Yan, H., Li, G., & Yan, W. (13 de enero de 2021). Microstructural characteristics of the stony coral genus *Acropora* useful to coral reef paleoecology and modern conservation. China.