



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
UNIDAD ACADÉMICA MAZATLÁN
(BIOLOGÍA MARINA)**

**“TAXONOMÍA Y DISTRIBUCIÓN DE ESPONJAS CÓRNEAS
(DEMOSPONGIAE: DENDROCERATIDA Y DICTYOCERATIDA) EN EL
PACÍFICO MEXICANO”**

**T E S I S
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS**

**PRESENTA:
LIC. CAROLINA SALAS SINGH**

**TUTOR:
DR. JOSÉ ANTONIO CRUZ BARRAZA.
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNIDAD ACADÉMICA
MAZATLÁN, UNAM**

**MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:
DR. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,
MAZATLÁN, UNAM**

**DR. ALBERTO ABREU GROBOIS
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,
MAZATLÁN, UNAM**

**DR. FRANCISCO ALONSO SOLÍS MARÍN
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,
MÉXICO, UNAM**

**DR. ENRIQUE ÁVILA TORRES
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA,
CIUDAD DEL CARMEN, UNAM**

MÉXICO, D. F. OCTUBRE 2015.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Agradecimientos.

Al posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, estación Mazatlán y a la Universidad Nacional Autónoma de México por permitirme formar parte de este posgrado.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología CONACyT por su apoyo económico durante la realización de la tesis.

A mi director de tesis Dr. José Antonio Cruz Barraza por su paciencia y guía durante la realización de este trabajo, por los conocimientos adquiridos, por la confianza depositada, por el tiempo invertido. Gracias.

Al Dr. José Luis Carballo Cenizo, por toda la ayuda y el apoyo recibido durante el desarrollo de este trabajo.

A mi comité tutorial: Dr. Alberto Abreu Grobois, Dr. Francisco Alonso Solís Marín, Dr. Enrique Ávila Torres, Dr. José Luis Carballo Cenizo por sus aportaciones, comentarios, críticas y sugerencias que hicieron esta tesis posible.

A Margarita Cordero Ruíz por su disponibilidad y apoyo en los trámites académicos. Al Mat. Germán Ramírez Reséndiz y al Lic. Carlos Suarez Gutiérrez por su apoyo en los tutorales. A María Clara Ramírez Jáuregui, por su ayuda en las consultas del material de biblioteca.

A mis compañeros y amigos de generación: Imelda Martínez, Denisse Tirado, Martha Millán, Rosa Elena Silva, Miriam Lerma, Pablo Meza, Emmanuel Sánchez, Erick González, Mario Peraza, Juan Francisco Fierro y Gladys Valencia.

A los proyectos que financiaron este trabajo IACOD-IB200711, proyecto PAPIIT-:IA201614, Taxonomía y sistemática integrativa de invertebrados marinos de México, esponjas y tunicados: bases para la elaboración de códigos de barras de ADN, período 2014-2016. También al proyecto Nuevas aportaciones a la biodiversidad de esponjas marinas de México: bases para la elaboración de código de barras de ADN. Fuente de financiamiento: CONABIO JF193. Periodo 2012-2014.

Dedicatoria.

A Ti, gracias amor, por permanecer aquí y por creer, por darme fuerza y ayudarme a dar la mejor versión de mí.

A Ellos, que son alegría, son risas y sueños, fuente de amor incondicional y de los más valiosos momentos de mi vida.

Los amo.

Índice.

1. Resumen.	1
2. Abstract.....	2
3. Introducción.....	3
4. Antecedentes y justificación.	6
2.1. Antecedentes de esponjas córneas en el Pacífico este.	6
2.2. Sistemática de Porifera: esponjas córneas.	8
2.3. Códigos de barras	9
2.4. Taxonomía integrativa.....	11
5. Objetivos.....	12
3.1. Objetivo general.....	12
3.2. Objetivos particulares.	12
6. Área de estudio.	13
4.1 Pacífico mexicano.....	13
7. Material y métodos.	15
5.1. Procedencia del material examinado.	15
5.2. Muestras.....	15
5.3. Tratamiento de las muestras en el laboratorio.	17
5.4. Análisis morfológico.	17
5.4.1. Técnica para la preparación de las fibras de esponjina.....	17
5.4.2. Descripción de las especies.	17
5.4.3 Estructura de las descripciones.....	17
5.5 Análisis molecular.	18
5.5.1 Extracción de ADN.....	18

5.5.2 Amplificación.....	19
5.5.3 Purificación de ADN y secuenciación.....	20
5.5.4 Edición de las secuencias.....	20
8. Resultados.....	21
6.1. Taxonomía y distribución de las esponjas córneas en el Pacífico mexicano.	21
6.1.1. Listado taxonómico de las especies.....	21
Orden: Dictyoceratida Minchin, 1900	21
Orden Dendroceratida Minchin, 1900	22
6.1.2 Descripción de las especies.	23
Phylum Porifera Grant, 1836.....	23
Clase Demospongiae, Bowerbank, 1866	23
Orden Dictyoceratida Minchin, 1900	23
Familia Dysideidae Gray, 1867.	23
Género <i>Dysidea</i> Johnston, 1842.	23
<i>Dysidea cachui</i> Carballo <i>et al.</i> , 2006.....	24
<i>Dysidea uriae</i> Carballo <i>et al.</i> , 2006	25
<i>Dysidea reformensis</i> Carballo <i>et al.</i> , 2006.....	27
<i>Dysidea</i> sp. 1.....	28
Familia Irciniidae Gray, 1867.....	33
Género <i>Ircinia</i> Nardo, 1833	33
<i>Ircinia</i> sp. 1	33
<i>Ircinia</i> sp. 2.....	35
<i>Ircinia</i> sp. 3.....	38
Género <i>Hyattella</i> Lendefeld, 1888	44

Especie tipo: <i>Spongia intestinalis</i> Lamarck, 1814: Océano Índico.	44
<i>Hyattella</i> aff. <i>intestinalis</i> (Lamarck, 1814).....	44
<i>Hyattella</i> sp. 1	46
Esqueleto.....	48
<i>Hyattella</i> sp. 2.....	49
<i>Hyattella</i> sp. 3.....	51
Familia Thorectidae Bergquist, 1978	57
Subfamilia Thorectinae Bergquist, 1978	57
Género <i>Hyrtios</i> Duchassaing & Michelotti, 1864	57
<i>Hyrtios</i> sp. 1.....	57
Orden Dendroceratida Minchin, 1900	59
Familia Darwinellidae Merejkowsky, 1879	59
Género <i>Aplysilla</i> Schulze, 1878.....	60
<i>Aplysilla</i> aff. <i>glacialis</i> (Merejkowsky, 1878)	60
<i>Aplysilla</i> aff. <i>sulfurea</i> Schulze, 1878.....	61
Género <i>Darwinella</i> Müller, 1865	65
<i>Darwinella</i> aff. <i>rosacea</i> Hetchel.....	65
Género <i>Chelonaplysilla</i> De Laubenfels, 1948.....	67
<i>Chelonaplysilla</i> aff. <i>violacea</i> (Lendenfeld, 1883)	68
6.2. Resultados del análisis de ADN	73
6.2.1. Extracciones de ADN y Amplificación de los loci seleccionados.....	73
6.2.2. Análisis y edición de las secuencias.	77
6.2.3. Alineamiento y filogenia del Gen COX1.	77
6.2.4. Alineamiento y filogenia del fragmento D2-28S.....	80

9. Discusión.	82
7.1. Diversidad y distribución de las esponjas córneas en el Pacífico este.....	82
7.2. Sistemática molecular de esponjas Córneas	84
7.2.1 Familia Dysideidae.	85
7.2.2 Familia Irciinidae.....	86
7.2.3 Thorectidae + Spongiidae.	87
7.3 Taxonomía molecular e integrativa.	87
10. Conclusiones.....	92
11. Bibliografía.	94

Índice de figuras.

Figura 1. Mapa del océano Pacífico mexicano. Los puntos señalan la ubicación de las distintas áreas de estudio de este trabajo, el nombre de la localidad y su localización geográfica se indican en la Tabla 2.	16
Figura 2. Distribución de <i>Dysidea cachui</i> en el Pacífico mexicano, el punto señala las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	25
Figura 3. Distribución de <i>Dysidea uriae</i> en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	27
Figura 4. Distribución de <i>Dysidea reformensis</i> en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	28
Figura 5. Distribución de <i>Dysidea</i> sp. 1 en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró el ejemplar de esta especie.	29
Figura 6. Distribución de <i>Ircinia</i> sp. 1 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontraron los ejemplares de esta especie.	35
Figura 7. Distribución de <i>Ircinia</i> sp. 2 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades de registro.	38
Figura 8. Distribución de <i>Ircinia</i> sp. 3 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades de registro.	40
Figura 9. Distribución de <i>Hyattella</i> aff. <i>intestinalis</i> en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	46
Figura 10. Distribución de <i>Hyattella</i> sp. 1 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	49
Figura 11. Distribución de <i>Hyattella</i> sp. 2 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se registró.	51
Figura 12. Distribución de <i>Hyattella</i> sp. 3 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	53

Figura 13. Distribución de <i>Hyrtios</i> sp. 1 en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró el ejemplar de esta especie.....	58
Figura 14. Distribución de <i>Aplysilla glaciallis</i> en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.....	61
Figura 15. Distribución de <i>Aplysilla</i> aff. <i>sulfurea</i> en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie....	63
Figura 16. Distribución de <i>Darwinella</i> aff. <i>rosacea</i> en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie....	66
Figura 17. Distribución de <i>Chelonaplysilla</i> aff. <i>violacea</i> en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.	70
Figura 18. Geles de agarosa con diferentes extracciones. La figura muestra la variación en la calidad y cantidad del ADN obtenido.....	73
Figura 19. Árbol taxonómico correspondiente al fragmento mitocondrial COX 1. En negritas se indican las especies trabajadas del Pacífico mexicano que se encuentran en la colección LEB-ICML-UNAM.	79
Figura 20. Árbol correspondiente al loci nuclear 28sD2. El nombre del grupo indica la familia que incluye: Irciinidae, Thorectidae, Spongiidae, Dysideidae y Darwinellidae. Las etiquetas del lado derecho color gris oscuro indican familias y gris claro indica el orden. Las especies mexicanas se encuentran representadas en negritas.	81
Figura 21. Mapa de las localidades tipo de las especies <i>Hyattella intestinalis</i> , <i>Darwinella rosacea</i> , <i>Chelonaplysilla violacea</i> , <i>Aplysilla glaciallis</i> y <i>Aplysilla sulfúrea</i>	84

Índice de láminas.

Lámina 1. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Dysidea* presentes en el Pacífico mexicano: 32

Lámina 2. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Ircinia* presentes en el Pacífico mexicano: 43

Lámina 3. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Hyattella* y el género *Hyrtios* presentes en el Pacífico mexicano: 56

Lámina 4. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies de los géneros *Aplysilla*, *Chellonaplysilla* y *Darwinella* presentes en el Pacífico mexicano: 72

Índice de tablas

Tabla 1. Especies reportadas de esponjas córneas para el Pacífico mexicano (Cruz - Barraza, 2008).	7
Tabla 2. Nombre y ubicación geográfica de la procedencia de las muestras y localidades de muestreo.....	16
Tabla 3. Comparación entre las seis especies de <i>Dysidea</i> reportadas para el Pacífico y las especies del Pacífico mexicano. Las medidas de las fibras primarias FP y fibras secundarias FS se expresan en micrómetros.....	31
Tabla 4. Comparación entre las especies de <i>Ircinia</i> del Pacífico mexicano y especies reportadas para el Pacífico. Las medidas de fibras primarias FP, fibras secundarias FS y luz de malla LM se expresan en micrómetros.	42
Tabla 5. Comparación entre <i>Hyattella</i> reportadas para el Pacífico y las especies del Pacífico mexicano. Las medidas de fibras primarias FP, fibras secundarias FS, fibras pseudoterciarias FT y luz de malla LM se expresan en micrómetros.	55
Tabla 6. Comparación de las especies del género <i>Aplysilla</i> del Pacífico mexicano y algunas descritas para diferentes localidades. Diámetro D y longitud L de las fibras están expresados en micrómetros.	64
Tabla 7. Comparación entre <i>Darwinella</i> aff. <i>rosacea</i> del Pacífico mexicano y de algunas especies del género <i>Darwinella</i> del mundo. Las medidas de Longitud (L) se dan en micrómetros.....	67
Tabla 8. Comparación entre las especies del género <i>Chelonaplysilla</i> del Pacífico mexicano y algunas descritas para diferentes localidades. Diámetro (D) y longitud (L) de las fibras están expresados en micrómetros.....	71
Tabla 9. Especies de las cuales se realizó al menos una extracción de ADN. Se especifica el número de ejemplar, el protocolo de extracción y el marcador amplificado de cada una. Los símbolos (+) (-) y (~) significan positivo, negativo y regular, respectivamente.	75

Tabla 10. Listado de cebadores y los perfiles de termociclado utilizados en estudio.
..... 76

Tabla 11. Nucleótidos diagnósticos en fragmento D2, para dos de las especies mexicanas de *Ircinia* comparadas con la especie caribeña *Ircinia campana*. Los sitios variables se han sombreado en gris en las esponjas del Pacífico mexicano..... 89

1. Resumen.

Este trabajo es una contribución a la biodiversidad de esponjas marinas del Pacífico mexicano, específicamente en conocimiento taxonómico de las esponjas córneas de la subclase Keratosa, mediante el uso de la taxonomía tradicional y de marcadores moleculares. Se analizaron 92 ejemplares, algunos recolectados durante este estudio y otros de la colección “Esponjas del Pacífico Mexicano” del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán. Los ejemplares analizados corresponden a los órdenes: Dictyoceratida y Dendroceratida; de donde fueron identificadas 16 especies, pertenecientes a cinco familias (Irciniidae, Spongiidae, Thorectidae, Dysideidae y Darwinellidae) y siete géneros distintos (*Ircinia*, *Dysidea*, *Hyrtios*, *Hyattella*, *Aplysilla*, *Darwinella* y *Chelonaplysilla*). Ocho especies son potencialmente nuevas para la ciencia, una del género *Dysidea*, tres del género *Ircinia*, tres del género *Hyattella* y una del género *Hyrtios*. Para algunas especies fue amplificado y secuenciado un fragmento del extremo 5' del gen citocromo oxidasa c de ADN mitocondrial (COI ADNmt). También se obtuvo el fragmento “D2” de la sub-unidad 28 de ADN ribosomal (ADNr) analizando su variabilidad nucleotídica para su uso en estudios sistemáticos. Los resultados con COX y D2 resuelven los grupos de acuerdo a las hipótesis filogenéticas, y se prueba la monofilia de los grupos Dictyoceratida y Dendroceratida, así como de las familias Irciniidae y Dysideidae. Aunque el gen COX presentó una baja variabilidad a nivel de especie; el fragmento D2 aportó mayor evidencia por lo que se resolvieron algunas hipótesis planteadas mediante la Taxonomía clásica. La Taxonomía tradicional combinada con marcadores moleculares (Taxonomía Integrativa) resultó ser la mejor opción para el estudio de esponjas con pocos caracteres diagnósticos, facilitando la identificación de las especies.

Palabras clave: Porifera, Keratosa, marcadores moleculares, COX y D2, Taxonomía Integrativa

2. Abstract

This is a contribution to the study of the biodiversity of marine sponges from Mexican Pacific, specifically to the taxonomic knowledge of horny sponges from the Keratosa subclass using traditional Taxonomy and molecular markers. 92 specimens were analyzed, some of them were collected during this study and others belong to the collection “Esponjas del Pacífico Mexicano” from the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán. The sponges correspond to the orders Dictyoceratida and Dendroceratida, 16 identified species belong to five families (Irciniidae, Spongiidae, Thorectidae, Dysideidae y Darwinellidae) and seven different genera (*Ircinia*, *Dysidea*, *Hyrtios*, *Hyattella*, *Aplysilla*, *Darwinella* y *Chelonaplysilla*). Eight from the identified species are new to science; one from genus *Dysidea*, three from genus *Ircinia*, another three from genus *Hyattella* and one from genus *Hyrtios*. For some of the sponges a DNA fragment from the 5' of cytochrome c oxidase (COI DNAm) gene was sequenced. A “D2” fragment from 28 subunit of ribosomal DNA (DNAr) was obtained to analyze its nucleotidic variation for its use in systematic studies. Results of COX and D2 genes solve the groups according to the most recent phylogenetic hypothesis, were Dictyoceratida and Dendroceratida are proved to be monophyletic as well as some of their families (Irciniidae and Dysideidae). Though COX gene presented a low variability at species level, D2 fragment contributed with more evidence to solve some hypothesis made with traditional Taxonomy. Traditional Taxonomy along with the approach of molecular markers (Integrative Taxonomy) turned out to be the best option for the study of marine sponges with few diagnostic features making the identification process easier and more certain.

Key words: Porifera, Keratosa, molecular markers COX and D2, Integrative Taxonomy.

3. Introducción.

Los Porifera constituyen uno de los grupos de invertebrados acuáticos más diversos del planeta con más de 8500 especies conocidas, aunque se ha sugerido que la fauna podría rebasar las 18,000 especies (Appeltans *et al.*, 2012; Redmond *et al.*, 2013). Los poríferos se encuentran en casi todos los hábitats acuáticos, incluyendo los océanos del planeta y una gran variedad de ambientes dulceacuícolas, desde los trópicos hasta los polos y desde la zona intermareal hasta las profundidades abisales (Wörheide *et al.*, 2013).

Las esponjas viven fijas al sustrato, donde filtran partículas microscópicas en la columna de agua por un sistema de aberturas excurrentes e incurrentes, con espacios y canales internos que permiten que el agua se ponga en contacto con unas células flageladas especializadas llamadas coanocitos (Van Soest *et al.*, 2012). Se ha sugerido que 1 metro cuadrado de esponja puede filtrar hasta de 14 litros de agua de mar por hora (Milanese *et al.*, 2003). Ésta habilidad es de importancia en el acoplamiento bento-pelágico, y sugiere que las esponjas son capaces de aminorar la polución bacteriana asociada con la contaminación por materia fecal (Milanese *et al.*, 2003). Por funciones como ésta, son utilizadas como bioindicadores de la calidad ambiental debido a la gran sensibilidad que manifiestan ante algunos factores estresantes como la excesiva sedimentación o la contaminación (Muricy, 1991). Solo un grupo (familia Cladorhizidae) carece de este sistema y se alimenta fagocitando directamente a sus presas, se trata de las esponjas carnívoras.

Las esponjas han sido utilizadas por el hombre a través de los siglos, por ejemplo, su uso en la civilización romana fue documentada y se sabe que cada legionario del imperio recibía un suministro de esponjas para su higiene personal, para rellenar sus cascos, así como para beber de ellas (Pronzato y Manconi, 2008). En la actualidad las esponjas son comercializadas por empresas en el área de la cosmética y la farmacología (Carballo, 2002). Además, estudios filogenéticos (morfológicos y moleculares) han sugerido que las esponjas se encuentran en la base de la evolución de los metazoarios, por lo que resulta de gran importancia el entendimiento de las relaciones entre su morfología desarrollo, genética etc., para entender los inicios de la evolución animal (Nichols, 2005; Wörheide *et al.*, 2013).

A pesar del creciente interés en las esponjas y su indiscutible importancia, su estudio biológico se ha visto mermado debido a distintos problemas respecto a su clasificación. Especialmente en algunos grupos como Halichondrida, Haplosclerida, la mayoría de las Calcárea y las esponjas córneas (Dictyoceratida, Dendroceratida y Verongida), donde los caracteres morfológicos son altamente homoplásicos, por lo que es necesario buscar caracteres estables adicionales para su correcta clasificación (Wörheide y Erpenbeck, 2007).

Antiguamente las esponjas córneas se encontraban englobadas en la clase Keratosa creada por Grant (1861) para referirse a las esponjas carentes de esqueleto mineral (silíceo o calcáreo) y que en su lugar solo poseen uno de fibras de espongina. Posteriormente, fue propuesto como parte de la subclase Ceratellida dentro de Demospongiae (Topsent, 1928). La idea de formar parte de una subclase fue pronto abandonada dando a Keratosa la categoría de orden (De Laubenfels, 1936). Bergquist y Hartman (1969) analizaron los aminoácidos de éstas esponjas y dividieron el grupo en dos órdenes diferentes, Dictyoceratida y Dendroceratida. Posteriormente, Dendroceratida fue fragmentado por Bergquist dando lugar a tres órdenes, incluyendo Verongida en 1978 y Halisarcida en 1996 (Erpenbeck *et al.*, 2012). Borchiellini *et al.* (2004) basados en un análisis filogenético de los fragmentos 28S rADN (D2) y 18s (C1, D1), sugirió que Dictyoceratida y Dendroceratida forman un grupo monofilético separado de Verongida y Halisarcida. Posteriormente Erpenbeck *et al.* (2012) plantearon que el grupo Keratosa debería ser reestablecido a nivel de subclase, pero excluyendo a Verongida y Halisarcida. En nuestros días y luego de una revisión exhaustiva de los resultados de análisis moleculares aplicados a la filogenia de Porifera en los últimos años se ha propuesto, entre otros cambios importantes en la sistemática del grupo, restablecer a Keratosa como una subclase de Demospongiae (Cardenas y Morrow, 2015).

La diversidad morfo-espicular de las esponjas es sin duda la base actual para su clasificación taxonómica. Sin embargo, un esqueleto córneo provee menos complejidad morfológica, lo que hace del grupo un reto incluso hasta para los taxónomos más expertos (Pöppe *et al.*, 2010). Pese a la dificultad a la hora de su identificación, las esponjas córneas poseen un importante valor económico, por ejemplo especies del género *Spongia* como “esponjas de baño”, el esqueleto de espongina es suave, durable y elástico. Además,

especies de este grupo han sido objeto de numerosos estudios en las ciencias biomédicas. Por ejemplo, las esponjas del orden Dictyoceratida son estudiadas por poseer compuestos con actividad antitumoral y antibacterial, que pueden aplicarse al tratamiento de enfermedades humanas como la tuberculosis (Sladić y Gasić, 2006). Esponjas del orden Dendroceratida como p. ej. *Aplysilla sulfurea*, contiene el diperteno aplysulfurina que es un potente anticancerígeno útil en el tratamiento del cáncer de esófago (Whibley *et al.*, 2005).

El uso de marcadores moleculares ha resultado ser eficiente para detectar especies crípticas y formular hipótesis filogenéticas, lo que ha revolucionado la sistemática y la taxonomía en los últimos 30 años. Desde estudios tempranos de aloenzimas, hasta estudios recientes de secuencias de ADN, la sistemática molecular ha complementado la taxonomía clásica (Solé-Cava y Wörheide, 2007). Entre los principales avances de las últimas décadas, se ha propuesto un sistema de identificación de especies basado en la comparación de secuencias de ADN, conocido como Código de barras de ADN (Hebert *et al.*, 2013). Este sistema es presentado como un medio para resolver impedimentos taxonómicos rápidamente, mediante un esfuerzo organizado y altamente estructurado, usando la misma parte de la subunidad uno del gen que sintetiza el Citocromo Oxidasa c, para identificar a todas las especies del planeta (Hebert *et al.*, 2003). La idea es que las secuencias de ADN deberán ser utilizadas como caracteres adicionales para características morfológicas descritas (Wörheide *et al.*, 2007).

Este trabajo constituye la primera revisión taxonómica de las esponjas córneas del Pacífico mexicano. Además, dada la problemática en la clasificación basada en morfología, este estudio cuenta con el uso de marcadores moleculares como una característica adicional en los casos que fue posible. Específicamente fueron amplificadas secuencias del ADN mitocondrial (COI) que es comúnmente utilizadas en la campaña de código de barras de la vida (*DNA Barcoding*). Además también fue secuenciado un fragmento de la subunidad 28 del ADN nuclear (28S, D-2) con la finalidad probar su variabilidad en la discriminación entre especies.

4. Antecedentes y justificación.

2.1. Antecedentes de esponjas córneas en el Pacífico este.

A pesar de la importancia que han adquirido los poríferos en las últimas décadas, aún son escasos los estudios sobre esponjas córneas del Pacífico este. Los primeros registros datan de finales del siglo XIX de la expedición del H.M.S “Alert”, que realizó en aguas del sudeste de Chile donde se reporta a *Ircinia hispida*, ahora aceptada como *Spongia (Spongia) hispida* Lamarck, 1814. Más tarde, De Laubenfels (1929) documentó dos especies del orden Dendroceratida, *Aplysilla glacialis*, Merckjowsky, 1878 y *A. polyrafis*, De Laubenfels, 1930 en California, E.U.A. (De Laubenfels, 1930). Posteriormente, el mismo autor registró de nuevo a *A. glacialis*, en el mar de Bering (De Laubenfels, 1953).

Luego de dos décadas, Ruth Desqueyroux (1972) reportó especies de los géneros *Ircinia* (*I. variabilis* [Schmidt, 1862] e *I. clavata* [Thiele, 1905]) y *Spongia* (*S. cerebralis*, Thiele 1905 y *S. magellanica*, Thiele 1905) así como las especies *Dysidea chilensis* Thiele, 1905 y *Euryspongia repens* (Thiele, 1905) en diversas localidades del litoral chileno (Desqueyroux, 1972). Desde entonces y hasta la fecha, las esponjas córneas del Pacífico este e islas cercanas han sido registradas por algunos autores en diversas costas del continente americano como California, E.U.A. (Chung-Ja y Bakus, 1986).

Específicamente el conocimiento sobre esponjas córneas en el Pacífico mexicano data de los trabajos de Dickinson (1945) y algunos otros de diversos autores durante la década de los 80's y 90's (Tabla 1).

Tabla 1. Especies reportadas de esponjas córneas para el Pacífico mexicano (Cruz -Barraza, 2008).

Orden	Familia	Subfamilia	Género	Especie	Localidad	Referencia
Dictyoceratida, Minchin,1900	Ircineaiie Gray,1867		<i>Ircinia</i> Gray,1867	<i>Ircinia fusca</i> (Carter, 1880)	Pacífico mexicano: Isla San Francisco, golfo de California	Dickinson, 1945
	Familia Spongiidae Gray, 1867		<i>Hyattella</i> Lendenfeld, 1888	<i>Hyattella hancocki</i> (Dickinson, 1945)	Pacífico mexicano: Nayarit	Dickinson, 1945
				<i>Hyattella intestinalis</i> (Lamark, 1814)	Pacífico mexicano: Baja California sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit, Jalisco, Guerrero y Oaxaca.	Green y Gómez, 1986; Salcedo <i>et</i> <i>al.</i> , 1988
	Dysideidae Gray, 1867		<i>Euryspongia</i> Row, 1911	<i>Euryspongia rosea</i> De Laubenfels, 1936	Pacífico mexicano: Baja California (costa oeste).	Austin, 1996
			<i>Dysidea</i> Johnston, 1842	<i>Dysidea ambli</i> De Laubenfels, 1930	Pacífico mexicano: Sonora	Dickinson, 1945
				<i>Dysidea cachui</i> , Carballo <i>et al.</i> , 2006	Pacífico mexicano: Sinaloa	Carballo <i>et</i> <i>al.</i> , 2006
				<i>Dysidea reformensis</i> Carballo <i>et al.</i> , 2006	Pacífico mexicano: Sinaloa	Carballo <i>et</i> <i>al.</i> , 2006
				<i>Dysidea uriae</i> , Carballo <i>et al.</i> , 2006	Pacífico mexicano: Sinaloa	Carballo <i>et</i> <i>al.</i> , 2006
	Thorectidae Bergquist, 1978	Thorectinae Bergquist, 1978	<i>Smenospongia</i> Wiedenmayer, 1977	<i>Smenospongia aurea</i> (Hyatt, 1878)	Pacífico mexicano: Sonora y Baja California Sur (costa este)	Hofknecht, 1978; Brusca y Thompson, 1975
			<i>Chelonaplysilla</i>	<i>Chelonaplysilla violacea</i> Lendenfeld, 1883	Pacífico mexicano: Sonora, Sinaloa y Nayarit	Gómez <i>et</i> <i>al.</i> , 2001

Durante la última década se ha logrado un importante avance en el conocimiento de las esponjas córneas en esta área (ver Carballo *et al.*, 2014, para una revisión). No obstante, existen pocos trabajos taxonómicos detallados que aportan información al conocimiento de la biodiversidad de las esponjas córneas (Dickinson 1945; Carballo *et al.*, 2006; Cruz-Barraza *et al.*, 2012), y algunos de ellos corresponden a tesis de las cuales no todos los resultados han sido publicados (Cruz-Barraza, 2004; 2008; Vega, 2012) por lo que hoy en día no se cuenta con un conocimiento a fondo sobre la diversidad de este grupo tan importante, así como de sus características, propiedades y su posible aprovechamiento biotecnológico.

Por ejemplo, en el Pacífico mexicano recientemente fueron descritas tres especies del género *Dysidea* (Carballo *et al.*, 2006), este grupo ha recibido especial atención en países europeos, en donde se han realizado estudios detallados de *Dysidea avara* y han confirmado la producción de un compuesto bioactivo llamado avarol de actividad antitumoral, antibacterial, antiviral y anti-inflamatoria. Debido a los resultados clínicos, se proyecta un mercado en expansión para éstos productos marinos (Mendola *et al.*, 2008).

2.2. Sistemática de Porifera: esponjas córneas.

La sistemática de Porifera está basada en características morfológicas, principalmente en el tamaño y forma las estructuras esqueléticas (espículas). Sin embargo, la gran diversidad de formas en que se presentan y el poco conocimiento que se tiene de su formación (espiculogénesis) y función dificulta su uso en estudios sistemáticos y filogenéticos, debido a que resultan en hipótesis que cambian con el correr de pocos años (Erpenbeck y Wörheide, 2007).

Durante la década de los setentas, autores como Patricia Bergquist (1978), analizaron diferentes compuestos bioquímicos, con el objetivo de proveer una alternativa más que pudiera facilitar la clasificación de las esponjas córneas, los resultados mostraron cierta resolución en la identificación de taxones. Sin embargo, la realización de éste tipo de estudios ha disminuido considerablemente debido a la dificultad que se tiene de detectar al verdadero productor del compuesto (simbionte o esponja) y algunas dificultades en los experimentos (Erpenbeck, 2007). También, se han realizado investigaciones basadas en

características citológicas y mientras éstas han sido exitosas a niveles taxonómicos altos, siguen siendo insuficientes para discriminar entre géneros y especies (Erpenbeck, 2007).

Durante las últimas tres décadas el desarrollo de la biología molecular, se ha acompañado de técnicas que han permitido analizar distintos aspectos relacionados con la estructura, función y composición de las moléculas de ADN. Estos avances han facilitado el desarrollo de la “Sistemática Molecular”, la cual estudia el origen y diversificación de la vida a partir de información evolutiva obtenida de la molécula de ADN (Avise, 1994). Debido a que la sistemática de los Porifera basada en caracteres morfológicos no ha sido suficiente para esclarecer sus relaciones filogenéticas, se ha optado reforzarla utilizando marcadores moleculares (Cárdenas *et al.*, 2013).

El primer trabajo sobre Porifera que incluyó análisis genéticos fue el de Connes *et al.* (1974) quienes implementaron electroforesis de isoenzimas para analizar poblaciones de *Suberites massa* de la laguna de Thau (NE-Mediterráneo, costa francesa). El primero en usar secuencias de ADN para formular hipótesis filogenéticas fueron Dams *et al.* (1982), quienes usaron secuencias de 5S rRNA para colocar a Porifera en Metazoa. Más adelante Kelly-Borges *et al.* (1991) usaron secuencias de 18S para formular hipótesis filogenéticas para el orden de Hadromerida (Boury-Esnault y Solé-Cava, 2004). Después se publicaron los estudios de Borchiellini *et al.* (2004) con fragmentos del 18S rADN y 28S rADN; y Erpenbeck *et al.* (2012) con COX1 mtADN y 28S rADN; en donde se sugirió que Keratosa es grupo hermano de Vergóngida y se propuso dar a Keratosa el rango de subclase, respectivamente. Posteriormente en 2015, Christine Morrow y Paco Cárdenas hicieron una revisión a fondo de la clasificación de la clase Demospongiae, en donde se propuso dar el estatus de subclase a Keratosa.

2.3. Códigos de barras

Avances recientes en la tecnología molecular han llevado al desarrollo de un sistema de identificación taxonómica basado en una secuencia de ADN, llamado código de barras de ADN (DNA *barcoding*). Éste sistema se basa en el análisis y comparación de un fragmento de la subunidad uno del Citocromo Oxidasa del ADN mitocondrial (COI_{mt}) de las especies para su identificación. Aunque aún existen controversias en el uso de

secuencias de ADN para taxonomía, el objetivo es que funcione como una herramienta complementaria en la clasificación.

El fragmento estándar que es utilizado para casi todas las iniciativas de código de barras (COI) ha mostrado suficiente variabilidad para discriminar entre muchas especies (Wörheide *et al.*, 2007). Los fragmentos mitocondriales proveen una resolución mejor para corroborar eventos de evolución recientes (Voigt *et al.*, 2011), ofrecen marcadores con pocos o ningún intron, poca recombinación y altas tasas evolutivas (Worheide *et al.*, 2012). Sin embargo, la region 5' del gen COI que es utilizada en los códigos de barras y estudios filogenéticos en Porifera sigue evaluándose debido a que la mitocondria en esponjas tiene una tasa de evolución baja (Huang *et al.*, 2008) que puede disminuir la resolución a nivel especie o género (Pope *et al.*, 2010). Por otro lado, en Keratosa se muestra una aceleración en la velocidad de sustitución (Wang y Lavrov, 2008), no obstante no está claro si esta aceleración es un proceso que está ocurriendo actualmente o es algo restringido a un cierto periodo en la historia de Keratosa, debido a que se reflejan pequeñas diferencias en esponjas con grandes diferencias morfológicas (Worheide *et al.*, 2012). Por tal motivo es de suma importancia realizar un esfuerzo en la evaluación de otros fragmentos de ADN.

En el caso de las esponjas córneas los marcadores nucleares como rDNA poseen tanto sitios conservados como regiones hipervariables (loop), que proveen resolución para diferentes niveles de inferencias filogenéticas (Voigt *et al.*, 2008). Su amplificación se facilita por presentarse un alto número de copias en el genoma y existe un buen número de cebadores disponibles para una gran variedad de taxones (Belinky *et al.*, 2012). El fragmento más conservado (18S rADN) ha sido utilizado en estudios de taxa altos (Borchiellini *et al.*, 2001), mientras que el fragmento que presenta más variaciones (28S rADN) ha sido utilizado para niveles taxonómicos más bajos (Erpenbeck *et al.*, 2004), y los altamente variables espaciadores internos transcritos (ITS) se utilizan para los niveles más bajos (ej., variaciones intra-específicas, Wörheide *et al.*, 2002). Existen desventajas también para estos marcadores, debido a que las copias del fragmento 18S no han mostrado ser homogéneas (Belinky *et al.*, 2012). Particularmente, en esponjas se ha mostrado que las variaciones intragenómicas afectan inferencias filogenéticas basadas en ITS (espaciador transcribible interno). (Woerhide *et al.*, 2004); no obstante esto no ocurre con los fragmentos de 18S o 28S rADN (Belinky *et al.*, 2012).

2.4. Taxonomía integrativa

Se ha sugerido que la taxonomía debe volverse integrativa, y ésta integración se vislumbra como un verdadero reto para el futuro de ésta disciplina. Tanto los acercamientos moleculares como morfológicos tienen ventajas y desventajas. Ambos enfoques siguen desempeñando un papel crucial en casi todos los grupos de organismos y hasta nuestros días las especies se describen y se identifican con base en ambas clases de datos (Rentería, 2000).

La Taxonomía integrativa busca sintetizar la lenta y larga rutina de abordar un mismo problema taxonómico repetidamente, en un procedimiento que incorpore los hallazgos de distintas disciplinas (Schlick-Steiner *et al.*, 2010). Para obtener esta meta, el método debe de ser compatible con las características utilizadas como delimitadores de especies, como lo es la morfología; así como proveer una delimitación de las especies mucho más acertada, y apoyada en más evidencia (Yeates *et al.*, 2011). Es por esto que es ahora considerada la manera más confiable y eficiente de evaluar el estatus de una especie (Cárdenas *et al.*, 2013).

Los datos morfológicos deben ser sometidos al filtro de otras aproximaciones y tipos de datos diferentes, entre ellos, la información a nivel molecular (Muñoz *et al.*, 2011). Las diferentes disciplinas deben mostrar cierto grado de congruencia para considerar una población o grupo de poblaciones como especies separadas. Padiál *et al.* (2010) ven dos tendencias diferentes entre los taxonomistas: (1) integración por congruencia: una combinación congruente de caracteres específicos es necesaria (por ejemplo congruencia entre caracteres moleculares y morfológicos, congruencia entre caracteres moleculares y ecológicos) (2) integración por acumulación: cualquier carácter, aunque sea único (por ejemplo un solo gen de mtADN, o un tipo adicional de espícula), es suficiente para nombrar una nueva especie, la congruencia es conveniente pero no necesaria (Cárdenas *et al.*, 2013).

5. Objetivos.

3.1. Objetivo general.

Contribuir al conocimiento taxonómico de las esponjas córneas (Porifera: Dictyoceratida y Dendroceratida) del Pacífico mexicano, mediante el uso de la taxonomía tradicional y de marcadores moleculares (secuencias de ADN).

3.2. Objetivos particulares.

- 1) Realizar el análisis taxonómico y una descripción morfológica de las especies de los órdenes Dictyoceratida y Dendroceratida encontradas durante el presente estudio, así como de las especies incluidas en la colección de referencia “Esponjas del Pacífico Mexicano” (Clave OAX-MAM-135-10-02) depositada en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán.
- 2) Generar códigos de barras de ADN (Barcoding) de las especies que sea posible, con la finalidad de facilitar e impulsar el conocimiento de la biodiversidad de esponjas córneas (órdenes Dictyoceratida y Dendroceratida).
- 3) Analizar la variabilidad nucleotídica del fragmento D2 del 28S ADNr para su aplicación en análisis taxonómicos y filogenéticos en las esponjas córneas.
- 4) Analizar mediante una aproximación integrativa el estatus taxonómico de algunas especies, a partir de los datos morfológicos y los loci obtenidos.

6. Área de estudio.

4.1 Pacífico mexicano.

La parte correspondiente a la zona económica exclusiva de México abarca más de 2.3 millones de km² de extensión marina. Específicamente la costa mexicana del Pacífico comprende 7,146 km de longitud y desde éste punto se miden las 200 millas náuticas de soberanía, incluyendo la Isla Guadalupe, frente a la zona noroeste de Baja California y el Archipiélago de Revillagigedo, frente al estado de Colima.

El Pacífico mexicano cuenta con una batimetría muy variable, la máxima profundidad registrada se encuentra en la fosa de Tehuantepec (frente a las costas de Chiapas y Oaxaca) con más de 6,000 m. En esta área de estudio más del 80% del fondo marino sobrepasa los 2,000 m de profundidad, 6% mide entre los 1,000 y 2,000 m, otro 6% entre 200 y 500 m, y sólo 6.5% se encuentra en los 200 m. Las subplacas más importantes (mencionadas de norte a sur) de la placa Pacífico Oriental son Borderland, Guadalupe, Arrugado y la porción sur de Baja California, donde se localizan las fracturas de Molokai, la depresión de Liches, el sistema de fallas de Agua Blanca, San Andrés, Santo Tomás, Tosca, Alijos, Ulloa Calafia y Abanico de Magdalena. En el Golfo de California, que forma parte de la placa del Pacífico Oriental, se localizan las fallas transformantes de las cuencas de Guaymas, Carmen, Farallón y Pescadero que conectan a esta placa con la región del Rift y a esta última con la placa de Cocos (Espinosa, 2004; Zavala *et al.*, 2006).

La zona norte del Pacífico mexicano comprende las costas de los estados de Baja California, Baja California sur, Sonora, Sinaloa, Nayarit y Jalisco. Dentro de esta región se encuentra el Golfo de California (INE, 2000). Este sistema posee características oceanográficas propias, especialmente en el área de las grandes islas, Tiburón, Ángel de la Guarda, San Lorenzo, Patos entre otras. Aquí existe una compleja topografía con valles y cañones submarinos de más de 2,000 m de profundidad, lugares de ventilas hidrotermales y zonas de surgencia en la costa occidental (durante el verano) y en la costa oriental (durante el invierno) (INE 2000).

El Golfo de California, también llamado mar de Cortés, conocido por sus elevados niveles de biodiversidad y gran productividad primaria, resultantes de la combinación de su topografía, latitud meridional y sistemas de surgencia. Es un mar largo y estrecho

(aproximadamente 1,000 kilómetros de longitud y 150 kilómetros de ancho), parcialmente cerrado, que se ubica a lo largo de más de nueve grados de latitud. Colinda con las costas de Sonora, Sinaloa y Nayarit al este, la península de Baja California al oeste y el delta del río Colorado entre Sonora y Baja California al norte. Se rige por una circulación de tres capas, la dirección de la capa superficial cambia estacionalmente con los vientos a gran escala; corrientes de marea y afloramiento por convección durante el invierno en la parte norte del golfo. La entrada del golfo presenta una estructura termohalina complicada regida por frentes, remolinos e intrusiones que pueden estar vinculados a la confluencia de tres corrientes distintas. El régimen de mareas es mixto y, en general, semidiurno en la boca del golfo, diurno en su sección media y semidiurno en el Alto golfo, las mareas varían entre uno y siete metros (Wilkinson *et al.*, 2009).

La costa sur del Pacífico mexicano, está conformada por las costas de los estados de Colima, Michoacán, Guerrero, Oaxaca y Chiapas. Es una región compleja con una plataforma submarina estrecha que presenta grandes profundidades oceánicas cerca de la costa. Está cortada por varios cañones y por la trinchera mesoamericana, fosa que se sumerge a profundidades de entre 4,000 y 5,000 m. Ésta región se define por la influencia invernal del extremo sur de la corriente de California. Su límite norte coincide en donde ésta corriente gira hacia el oeste en verano, dejando a la región bajo la influencia de la corriente costera de Costa Rica (Wilkinson *et al.*, 2009).

7. Material y métodos.

5.1. Procedencia del material examinado.

Los ejemplares examinados proceden de muestreos realizados previamente y durante el desarrollo de este proyecto de investigación. Dichos ejemplares han sido incorporados a la colección de referencia “Esponjas del Pacífico Mexicano” registrada ante la SEMARNAT con clave OAX-MAM-135-10-02, depositada en el Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Unidad Académica Mazatlán, de la Universidad Nacional Autónoma de México. En la actualidad, esta es una de las colecciones de esponjas con más ejemplares y especies de todo el Pacífico este.

5.2. Muestreos.

Los muestreos se realizaron por recolección directa en la zona intermareal, mediante inmersiones a pulmón (en localidades poco profundas) y por buceo autónomo hasta una profundidad máxima de 30 m. En cada localidad se anotaron algunas características del hábitat con la finalidad de relacionarlos con cada una de las especies descritas.

Los ejemplares se recolectaron y fueron analizados *in situ* a simple vista para registrar una breve descripción de su morfología externa tomando en cuenta forma, color, superficie, consistencia, etc.; y no perder esta información a causa de la fijación en formol. Después del etiquetado, fueron introducidos en bolsas de plástico y transferidos individualmente a frascos de cristal para su fijación. Para cada ejemplar se anotaron algunas características referentes al área de estudio, como el tipo y la orientación del sustrato, la profundidad, la fecha y la estrategia de recolección.

En el Pacífico norte se muestreó una localidad; 13 en el Golfo de California y 4 en el Pacífico sur (Figura 1, Tabla 1).

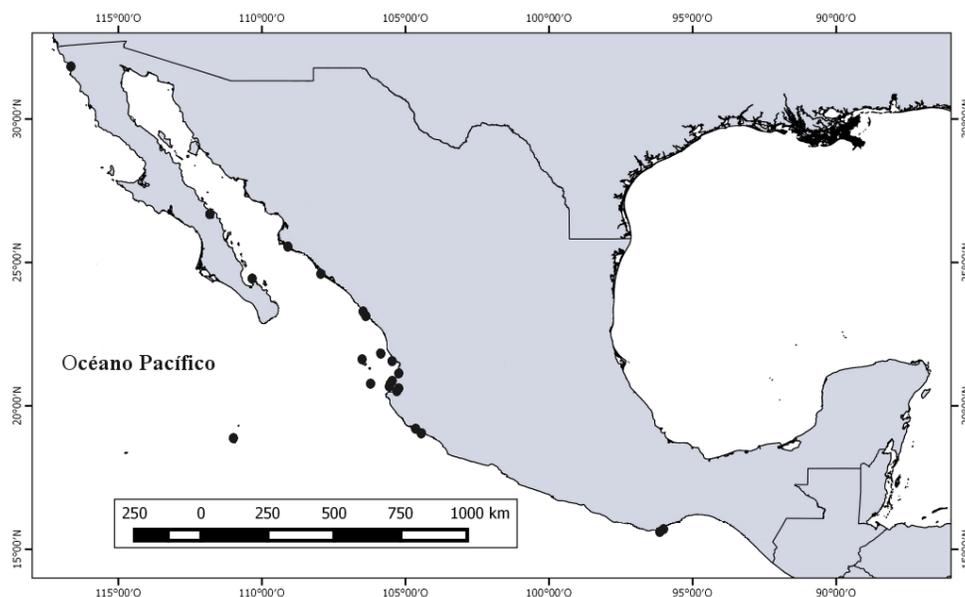


Figura 1. Mapa del océano Pacífico mexicano. Los puntos señalan la ubicación de las distintas áreas de estudio de este trabajo, el nombre de la localidad y su localización geográfica se indican en la Tabla 2.

Tabla 2. Nombre y ubicación geográfica de la procedencia de las muestras y localidades de muestreo.

Localidad	Lat N	Lon W	Localidad	Lat N	Lon W
UABC, Ensenada	31°51'04"	116°40'04"	Cerro Pelón, Isla Isabel	21°51'21"	105°53'33"
El Requesón, Bahía Concepción	26°38'38"	111°49'53"	Las Monas, Isla Isabel	21°50'58"	105°25'46"
Estero Zacate, Los Mochis	25°36'25"	109°04'33"	Punta Bobo, Isla Isabel	21°50'35"	105°52'44"
Puente Maviri, Los Mochis	25°34'55"	109°06'52"	Cerro de la Cruz, Isla Isabel	21°37'0"	106°32'0"
La Palma, Altata	24°37'0"	107°55'0"	Isla Maria Madre	21°34'45"	105°29'45"
Bahía San Gabriel, Isla Espíruru	24°25'59"	110°21'42"	Piedra del Asadero, San Blas	21°09'57"	105°13'38"
Cerritos 1, Mazatlán	23°18'27"	106°29'25"	Chacala	20°52'29"	105°26'72"
Isla pájaros 2 Mazatlán	23°15'13"	106°28'52"	Playa de los muertos, Sayulita	20°47'13"	105°71'13"
Isla Lobos 1, Mazatlan	23°13'49"	106°27'43"	Careyeros, Punta de Mita	20°46'20"	105°32'49"
Punta Tiburón, Mazatlán	23°12'50"	106°24'50"	Antiguo corral del Risco, Punta de Mita	20°42'04"	105°33'89"
Punta Chile, Mazatlán	23°12'29"	106°25'40"	Isla Redonda, Islas Marietas	20°35'16"	105°14'42"
Antiguo muelle de atraque, Mazatlán	23°11'57"	106°25'15"	Playa Conchas Chinas, Vallarta	20°32'0"	105°18'47"
Isla Hermano Sur, Mazatlán	23°11'16"	106°25'37"	Los Arcos, Vallarta	20°31'56"	105°17'42"
Isla Cardones, Mazatlán	23°11'05"	106°24'07"	Mismaloya, Jalisco	19°11'46"	104°40'01"
Isla el Crestón, Mazatlán	23°11'02"	106°25'37"	Barra de Navidad, Jalisco	19°05'41"	104°25'22"
Isla Venados, Mazatlán	23°10'75"	106°26'42"	Roca Partida, Isla socorro	18°50'51"	110°59'53"
Isla Hermano Norte, Mazatlán	23°10'59"	106°26'24"	La Entrega, Huatulco	15°42'50"	96°05'20"
Isla Chivos, Mazatlán	23°10'40"	106°24'48"	San Agustín, Huatulco	15°41'09"	96°13'46"
			Isla Cacaluta, Huatulco	15°38'23"	96°29'01"

5.3. Tratamiento de las muestras en el laboratorio.

En el laboratorio, se extrajo una pequeña muestra de la esponja para su posterior extracción de ADN (ver apartado 5.5), y los ejemplares fueron fijados con formaldehído al 4% durante 48 horas aproximadamente y después transferidos a alcohol al 70% para su conservación definitiva de acuerdo con los procedimientos estándares.

5.4. Análisis morfológico.

5.4.1. Técnica para la preparación de las fibras de esponjina.

Se introdujo una porción de la esponja en una solución de 1/3 de agua destilada, 1/3 de agua oxigenada (H₂O₂) de 110 volúmenes y 1/3 de amoníaco. Diariamente se agitó, y cada 24 horas se lavó y se cambiaron los reactivos hasta que las fibras quedaron libres de materia orgánica (Olivella, 1977). Con unas pinzas de punta fina, se tomó un pequeño trozo de esponja en el sentido que se iba a realizar el corte, ya sea longitudinal o transversal, o bien con un bisturí se cortaron secciones finas del ejemplar. Se depositó el corte en un portaobjeto se calentó en una estufa a 60–70°C o bajo una luz caliente, hasta que se disuelve el tejido que rodea a la fibra. Sobre el corte se depositaron algunas gotas de medio de montaje (Entellan) para que preserve las fibras de la muestra.

5.4.2. Descripción de las especies.

Se presenta una breve diagnosis de los órdenes, familias y géneros de los grupos de esponjas córneas consideradas en este trabajo con base en el Systema Porifera (Hooper y van Soest, 2002) y actualizaciones recientes específicas de algunos grupos (Cook, 2007). Para cada especie se incluye los siguientes apartados.

5.4.3 Estructura de las descripciones.

1. Sinonimia: Con el nombre del autor y el año.

2. Material examinado: Se menciona el nombre con el registro, en este caso en cada muestra se colocó un número y se antecede la sigla LEB que significa Laboratorio de Ecología de Bentos, ICMYL, UNAM, Mazatlán, lugar donde se encuentra resguardada la colección de esponjas de este estudio. También se anota la localidad, se incluye el estado o

área donde se encuentra la localidad así como la geoposición, la profundidad a la que se encontró y la fecha de recolección.

3. Descripción: Se hace una descripción general sobre los aspectos y características morfológicas de los ejemplares estudiados.

4. Esqueleto: Se hace una descripción de las fibras de espongina, así como de la disposición de los elementos primarios y secundarios. También, en caso de haberlas, se describen las características y disposición de espículas (córneas).

5. Material adicional: Se incluye en casos de que se presente la descripción general de un solo individuo. En este apartado, se hacen anotaciones adicionales de variaciones que se presentaron entre ejemplares.

6. Distribución y hábitat: Se menciona la distribución en el Pacífico este, las localidades mexicanas donde se encontraron los ejemplares, así como aspectos ecológicos de los organismos.

7. Comentarios taxonómicos: Se hacen comentarios que surgieron de la clasificación y comparaciones con especies cercanas.

8. Lámina: Se presenta una fotografía macroscópica del ejemplar completo para observar características externas así como fotografías microscópicas que muestra los caracteres esqueléticos y detalles mencionados en la descripción.

9. Mapa: Se muestra un mapa con las localidades en donde se recolectaron los ejemplares.

10. Tabla: Se incluye una tabla que contiene las medidas y algunas características externas para cada ejemplar estudiado. Las medidas que aparecen son la mínima–máxima en μm o mm según sea el caso.

5.5 Análisis molecular.

5.5.1 Extracción de ADN.

La extracción y purificación de ADN se llevó a cabo mediante los protocolos de extracción de Cloruro de Litio (LiCl) (Aljanabi SM y Martinez, 1997) CTAB (Doyle y Doyle, 1987). Se tomó un fragmento del ejemplar y se puso en el buffer de extracción para

proceder con la purificación de ADN. Posteriormente se verificó la presencia de ADN en geles de agarosa (1.5%) que fue teñido con Bromuro de etidio (0.5 µg/ml) durante 7 min y visto bajo luz UV. Para corroborar el tamaño se incluyó en el gel una escalera de alto y bajo peso molecular. El ADN extraído se mantuvo en congelación (-20°) para evitar su degradación.

5.5.2 Amplificación.

La amplificación de loci mitocondrial (COI) y nuclear (28S) se llevó a cabo por medio de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En el laboratorio, se optimizaron los protocolos de PCR para obtener los mejores resultados.

Para el fragmento COI se utilizaron primers degenerados del fragmento universal (Vrijenhoek *et al.*, 1994) para el código de barras de la vida: dgLCO1490 (GGT CAA CAA ATC ATAAAG AYA TYG G), y dgHCO2198 (TAA ACT TCAG GGTGAC CAA ARA AYC A) (Meyer *et al.*, 2005), mientras que la región C2D2 se amplificó con los primers universales C2 forward primer (5'- GAA AAGAAC TTT GRA RAG AGA GT -3') y D2 reverse primer (5'- TCC GTG TTT CAA GAC GGG -3') (Chombard *et al.*, 1998).

La reacción de PCR fue de 15 µl para cada especie, y se preparó de la siguiente manera: 7.13 µl de dH₂O (HPLC o Sterile MiliQ), 2.50 µl de 10x PCR buffer (20mM MgCl₂), 0.90 µl de MgCl₂ 2.5mM, 0.75 µl de dNTPs (0.5 mM c/u), 0.80 µl de F primer (10 mM), 0.80 µl de R primer (10 mM), 1.00 µl de BSA**, 0.1 µl de taq DNA pol (5 u/µl). Para el fragmento COI, el perfil de termociclado se realizó con una temperatura inicial del 95°C por 5 minutos, y 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 54°C por 45 segundos y 72°C por 1 min; esto seguido de 1 ciclo de 72°C por 7 minutos y un hold de 4°C. Para el fragmento D2, el perfil de termociclado se realizó con una temperatura inicial del 95°C por 3 minutos, y 40 ciclos de 94°C por 1 minuto, 48.8°C por 1 minuto y 72°C por 1 min; esto seguido de 1 ciclo de 72°C por 5 minutos y un hold de 4°C.

**Se utilizó BSA solamente en la amplificación del fragmento COI; para compensar los µl añadidos, se le restó la cantidad equivalente de BSA al agua de PCR.

La calidad y cantidad de los productos de PCR fueron separados verificados mediante electroforesis con geles de agarosa (1.5%).

5.5.3 Purificación de ADN y secuenciación.

Los productos de PCR se limpiaron enzimáticamente para su secuenciación siguiendo el protocolo de PEG Precipitado de los productos de PCR de Travis Glenn. Una vez limpio el producto de PCR fue enviado a la empresa Macrogen, en Seúl Corea para su secuenciación. Las reacciones que se prepararon fueron de 25 μ l de producto de PCR a una concentración de 50Ng/ μ l, y 20 μ l de primers por muestra a una concentración de 10 pmole/ μ l =60 ng/ μ l.

5.5.4 Edición de las secuencias.

Para llevar a cabo éste proceso se verificó la calidad de las secuencias y se corrigieron posibles errores de lectura o fallas creadas durante la secuenciación. Para la edición se utilizó el programa Geneious, versión 6.1.6, y/o Codon Code aligner 10.5.8. El proceso consistió en corregir las inconsistencias entre las dos hebras de ADN de un mismo organismo y la existencia de indels o bases faltantes entre las secuencias de organismos distintos.

Para corroborar la confiabilidad de las secuencias, se sometieron a una comparación con la herramienta bioinformática BLAST en Genbank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) (Benson *et al.*, 2008), con la que se compararon las secuencias obtenidas con las disponibles en la base de datos de nucleótidos. Una vez confirmada el origen de las secuencias, se procedió a realizar los análisis moleculares.

Las secuencias fueron alineadas en el programa Mega 5.1 (Tamura *et al.*, 2011) utilizando los parámetros iniciales del programa. Para la reconstrucción del árbol se utilizaron secuencias obtenidas de este trabajo y secuencias de GenBank, para mayor referencia véase el capítulo de Resultados moleculares. Dada la naturaleza de este estudio, los análisis de taxonomía molecular se realizaron en este mismo programa mediante la reconstrucción de un árbol taxonómico por el método del vecino más cercano o Neighbor-joining (NJ) bajo un modelo P-distance. Los valores bootstrap no paramétricos, que son un indicativo de la robustez de las ramas, se calcularon con 1,000 pseudoréplicas.

8. Resultados

6.1. Taxonomía y distribución de las esponjas córneas en el Pacífico mexicano.

6.1.1. Listado taxonómico de las especies.

Phylum Porifera Grant, 1836

Clase Demospongiae Bowerbank, 1866

Subclase Keratosa Grant, 1861

Orden: Dictyoceratida Minchin, 1900

Familia: Dysideidae Gray, 1867

Género: *Dysidea* Johnston, 1842

Especies: *Dysidea uriae* Carballo *et al.*, 2006,

Dysidea cachui Carballo *et al.*, 2006,

Dysidea reformensis Carballo *et al.*, 2006,

Dysidea sp. 1.

Familia: Irciniidae Gray, 1867

Género: *Ircinia* Nardo, 1883

Especies: *Ircinia* sp. 1

Ircinia sp. 2

Ircinia sp. 3

Familia: Spongiidae Gray, 1867

Género: *Hyattella* Lendefeld, 1888

Especies: *Hyattella* aff. *intestinalis* (Lamarck, 1814)

Hyattella sp. 1

Hyattella sp. 2

Hyattella sp. 3

Familia: Thorectidae Bergquist, 1978

Subfamilia: Thorectinae Bergquist, 1978

Género: *Hyrtios* Duchassaing & Michelotti, 1864

Especie: *Hyrtios* sp.1

Orden Dendroceratida Minchin, 1900

Familia Darwinellidae Merejkowsky, 1879

Género: *Aplysilla* Schulze, 1878

Especies: *Aplysilla* aff. *glacialis* (Merejkowski, 1878)

Aplysilla aff. *sulfurea* Schulze, 1878

Género: *Chelonaplysilla* de De Laubenfels 1948

Especie: *Chelonaplysilla* aff. *violacea* (Lendenfeld, 1883)

Género: *Darwinella* Müller, 1865

Especie: *Darwinella* aff. *rosacea* Hetchel, 1945

6.1.2 Descripción de las especies.

Phylum Porifera Grant, 1836

Clase Demospongiae, Bowerbank, 1866

Orden Dictyoceratida Minchin, 1900

Diagnosis.

Esponjas con una consistencia relativamente dura cuando el ectosoma forma una corteza reforzada de material foráneo, o cuando es muy denso. Son flexibles cuando el esqueleto no es muy denso y está reducido en relación al coanosoma. La superficie es típicamente conulosa. Las fibras se encuentran anastomosadas, y tienen un orden jerárquico en cuanto al diámetro y orientación en el esqueleto. Presentan fibras primarias, secundarias y algunas veces terciarias (Cook y Bergquist, 2002).

Familia Dysideidae Gray, 1867.

Diagnosis.

Dictyoceratidas caracterizadas por la presencia de cámaras de coanocitos de tipo eurífilo. También presentan fibras esqueléticas laminarmente concéntricas con una médula en el centro. Algunos géneros poseen un reforzamiento de arena en la superficie. Las esponjas son histológicamente simples, con células secretoras en el mesohilo. Las esponjas son suaves y compresibles o flexibles, a menos que se vuelvan quebradizas debido al detritus intersticial. La superficie es siempre conulosa, aunque el tamaño, forma y arreglo de los cónulos varía desde pequeños hasta grandes irregulares o tubérculos (Cook y Bergquist, 2002).

Género *Dysidea* Johnston, 1842.

Diagnosis.

Esponjas incrustantes, masivas o ramificadas, usualmente con una superficie muy conulosa y una superficie con un patrón de red, interconectándose entre los cónulos. Las especies con demasiado detritus en el mesohilo no son conulosas. El esqueleto consiste en una estructura simple, comúnmente rectangular de fibras concéntricamente laminadas y

fibras secundarias, en donde las fibras primarias se encuentran orientadas perpendicularmente hacia la superficie de la esponja. Todas las fibras presentan inclusión de material foráneo total o axial. Las fibras primarias presentan médula aunque ésta característica se ve opacada por el relleno. Las esponjas son suaves y compresibles, aunque a veces pueden tornarse frágiles debido al detritus (Cook y Bergquist, 2002).

***Dysidea cachui* Carballo et al., 2006.**

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-666, Cerro San Carlos, Topolobampo, Sinaloa, 25°35'33''N, 109°02'39''W, 12/11/02, profundidad 4 m. LEB-ICML-UNAM-668, Muelle del contenedor, Topolobampo, Sinaloa, 25°34'55''N, 109°03'32'' W, 12/11/02, profundidad 7 m. LEB-ICML-UNAM-683, Isla Verde, Topolobampo, Sinaloa, 23°31'47''N, 109°05'27''W, 13/11/03, profundidad 2 m. LEB-ICML-UNAM-716, Estero El Zacate, Los Mochis, Sinaloa, 25°34'25''N, 109°06'02''W, 14/11/02, profundidad 2 m. LEB-ICML-UNAM- 2135, El Bichi, Topolobampo, Sinaloa, 25°32'11''N, 109°04'37''W, 19/09/12.

Descripción.

Esponja que varía en su morfología de masiva a incrustante, con lóbulos redondeados provistos de un ósculo central. El color varía de pardo claro hasta beige casi blanco en vida, preservadas se tornan marrón claro a oscuro. Se encuentran cubriendo áreas de 7 cm a 12 cm de diámetro. Los ejemplares tienen una apariencia característicamente lobulada, con lóbulos simples, aunque en ocasiones dos o más lóbulos se pueden fusionar. Los lóbulos varían de 0.5 cm a 2 cm de diámetro, y pueden medir hasta 1 cm de alto. La superficie es uniformemente conulosa. Los cónulos son redondeados, lo que le da una apariencia granular a la superficie. Miden desde 400 µm hasta 1.0 mm de alto y de 0.55 milímetros a 1.5 mm de ancho, con separaciones de 0.79 mm. Los ósculos son circulares de hasta 0.72 mm de diámetro, ubicados sobre la punta de los lóbulos. El ectosoma no incluye material foráneo. La consistencia es suave y la esponja puede romperse fácilmente (Lámina 1).

Esqueleto.

El esqueleto presenta una disposición rectangular característica del género *Dysidea*.

Las fibras primarias son simples; varían de 100 μm a 260 μm de diámetro y están completamente rellenas de arena. Las fibras secundarias miden de 50 μm a 110 μm de diámetro, también incorporan material foráneo, la espongina puede ser visible alrededor del material foráneo (Lámina 1).

Distribución y hábitat.

Los ejemplares de *Dysidea cachui* se encontraron en el puerto de Topolobampo, Los Mochis, Sinaloa, así como en Cerro San Carlos, Isla Verde y Estero El Zacate en la misma localidad. Las esponjas viven sobre sustrato artificial, arenoso y rocoso profundidades de hasta 7 m (Figura 2).

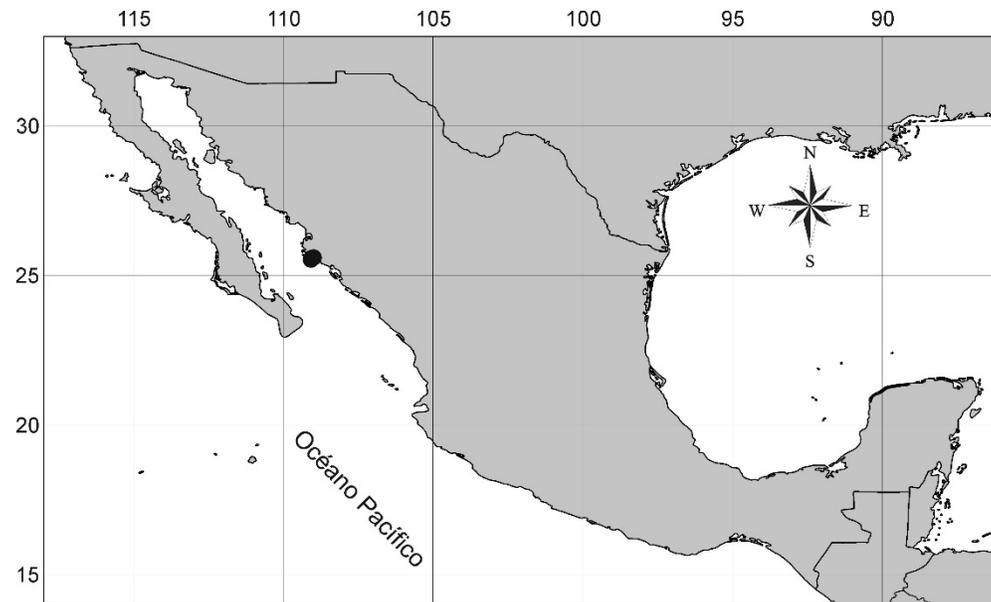


Figura 2. Distribución de *Dysidea cachui* en el Pacífico mexicano, el punto señala las localidad donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Dysidea uriae Carballo et al., 2006

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-180, Isla Lobos, Mazatlán, Sinaloa, 23°13'49''N, 106°27'43''W, 05/02/2000, profundidad 2 m. LEB-ICML-UNAM-451, Antiguo Muelle de Atraque, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'57''N, 106°25'15''W, 23/03/2002, profundidad 3 m. LEB-ICML-UNAM-898, Isla El Crestón, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'02''N, 106°25'37''W, 09/12/2003, profundidad 7 m. LEB-ICML-UNAM-2213, Antiguo Muelle de Atraque,

Mazatlán, Sinaloa, 23°11'57''N, 106°25'15''W, 08/08/2012, profundidad 5 m. LEB-ICML-UNAM-2214, Antiguo Muelle de Atraque, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'57''N, 106°25'15''W, 08/08/2012, profundidad 5 m. LEB-ICML-UNAM-2215, Antiguo Muelle de Atraque, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'57''N, 106°25'15''W, 08/08/2012, profundidad 5 m. LEB-ICML-UNAM-2220, Antiguo Muelle de Atraque, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'57''N, 106°25'15''W, 08/08/2012, profundidad 5 m.

Descripción.

Esponja en forma de cojincillo a masiva, de hasta 3 cm de grosor, cubriendo una superficie de 14 cm de diámetro aproximadamente. El color en vida varía de pardo claro a negro cuando se encuentra en exposición directa a la luz, y de gris a blanquecino cuando se encuentra en lugares sombreados. Preservada, su color es beige a pardo claro. La superficie es conulosa, aunque en algunas zonas puede ser lisa. Los cónulos se elevan hasta 1.9 mm aproximadamente de la superficie y se separan uno del otro de 5.6 mm a 7.5 mm. Los ósculos son de forma circular y se encuentran ligeramente elevados por la membrana ectosómica. Miden de 1.5 mm a 5.6 mm de diámetro y se ubican al azar sobre la superficie de la esponja. La consistencia es muy compresible (Lámina 1).

Esqueleto.

Reticulación irregular, formada por fibras primarias comúnmente rellenas de material foráneo, que miden de 170 µm a 300 µm de diámetro y se separan una de otra 380 µm aproximadamente. Se observa muy poca espongina alrededor de ellas. Las fibras secundarias generalmente no presentan inclusiones. La espongina es visible en ellas y miden de 60 µm a 125 µm de diámetro (Lámina 1).

Distribución y hábitat.

Los ejemplares de *Dysidea uriae* se encontraron en las localidades de Isla Lobos, Antiguo Muelle de Atraque, Isla El Crestón, Mazatlán, Sinaloa. Las esponjas viven sobre sustrato rocoso y artificial; a profundidades de hasta 7 m (Figura 3).

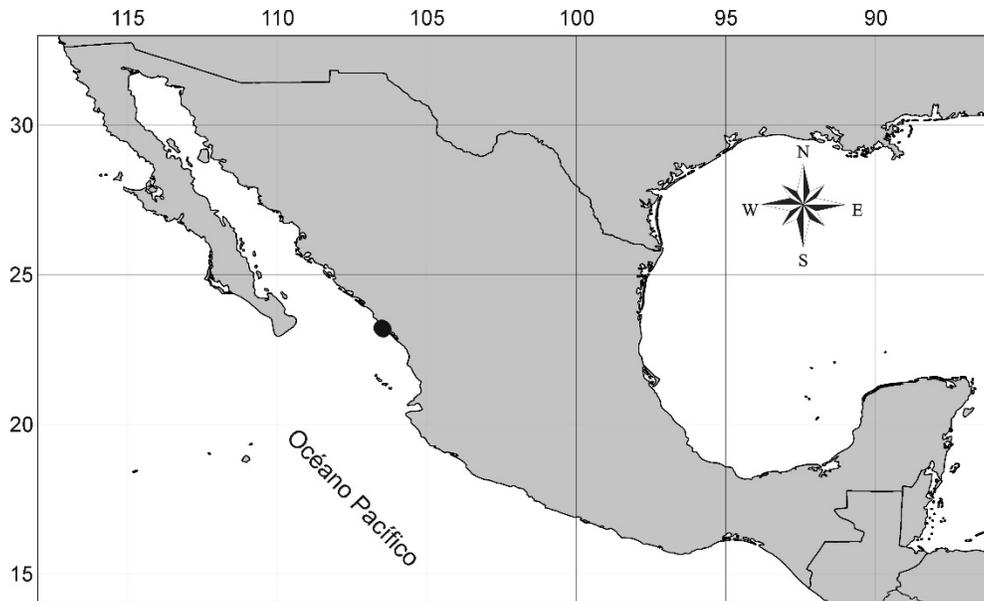


Figura 3. Distribución de *Dysidea uriae* en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Dysidea reformensis Carballo *et al.*, 2006

Material examinado.

Paratipo: LEB-ICML-UNAM-82, Isla Talchichitle, Estero El Lanchón, La Reforma, Sinaloa, México, 24°54'51''N, 108°02'33''W, 05/10/2000, profundidad 1 m.

Descripción.

Esponja con forma que varía de masiva a cojincillo con proyecciones lobuladas. Mide 9.5 cm de alto por 4 cm de ancho. El color es pardo claro. La membrana ectosómica no contiene detritus. Su textura es conulosa. Los cónulos son puntiagudos y miden de 1.5 mm a 3.8 mm de alto, por 1 mm a 1.5 mm de ancho, con separaciones de 1.6 mm a 2.9 mm. Los ósculos son ovalados y miden de 1.7 mm a 4.9 mm. De textura compresible y fácil de desgarrar.

Esqueleto.

Es una red irregular de fibras primarias y secundarias. Las fibras primarias son más evidentes que las secundarias y en general se encuentran dispuestas irregularmente, aunque en algunos puntos presentan una disposición anastomosada (Lámina 1). Miden de 70 μ m a 110 μ m de diámetro y se encuentran completamente rellenas de material foráneo. Las fibras

secundarias miden de 30 μm a 40 μm de diámetro y se encuentran interconectando a las fibras primarias. Presentan inclusión de material foráneo; sin embargo, la espongina es visible alrededor de la fibra.

Distribución y hábitat.

El ejemplar se encontró en la Isla Talchichitle, Estero El Lanchón, La Reforma, Sinaloa, sobre un sustrato rocoso, a una profundidad de 1 m (Figura 4).

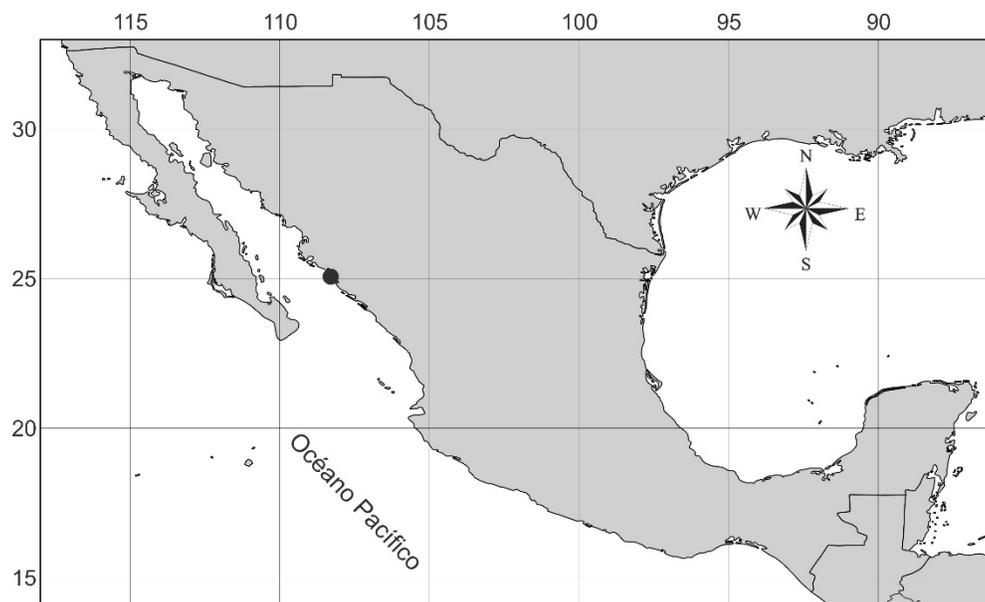


Figura 4. Distribución de *Dysidea reformensis* en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Dysidea sp. 1

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-1922, Bahía Concepción, Baja California Sur, 26°38'38''N, 11°49'53''W, 09/06/2010, profundidad 2 m.

Descripción del ejemplar.

Esponja masiva que mide 4.5 cm por 3.5 cm de diámetro y 4 cm de alto. Su coloración es pardo oscuro casi negro. La superficie es conulosa, los cónulos son agudos y miden de 0.6 mm a 0.8 mm desde la base hasta la punta, y de 0.9 a 1.2 mm de ancho y se encuentran separados uno de otro hasta 0.8 mm. Los ósculos son redondos y se distribuyen

irregularmente en la superficie de la esponja, miden de 1.8 mm a 4.5 mm de diámetro. La textura es suave y compresible (Lámina 1).

Esqueleto

Conformado por fibras de esponjina, primarias y secundarias. Las fibras primarias están totalmente rellenas de material foráneo (granos de arena, conchas de moluscos, espículas, etc.). Se encuentran siguiendo una estructura rectangular y están orientadas de forma perpendicular hacia la superficie de la esponja e interconectadas esporádicamente por fibras secundarias. Miden de 280 μm de diámetro (Lámina 1). Las fibras secundarias usualmente tienen inclusión de material foráneo; sin embargo, la esponjina alrededor es visible. Miden de 70 μm a 160 μm de diámetro.

Distribución y hábitat.

Dysidea sp. 1 se encontró en Bahía Concepción, Baja California Sur, sobre sustrato rocoso, a una profundidad de 2 m (Figura 5).

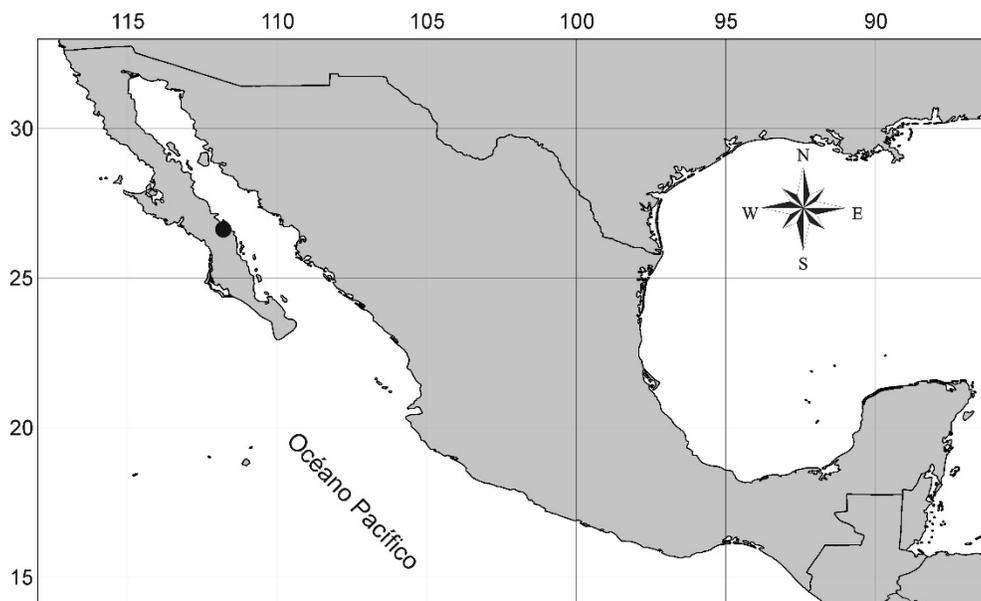


Figura 5. Distribución de *Dysidea* sp. 1 en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró el ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos.

Existen cuatro especies del género *Dysidea* reportadas para el Pacífico mexicano, *Dysidea ambli* (De Laubenfels, 1930) citada en el Mar de Cortéz por De Laubenfels y

después por Dickinson en 1945, *Dysidea cachui*, *Dysidea uriae* y *Dysidea reformensis* descritas por Carballo *et al.*, 2006.

Dysidea sp. 1 es una esponja que crece masiva, es de color muy oscuro, casi negra característica que contrasta con la esponja local *D. cachui* que es una esponja masiva pero de color muy claro, casi blanco. Además posee unos característicos lóbulos redondeados que *Dysidea* sp. 1 no presenta. De Laubenfels describe a *D. ambliia* como una esponja ramosa con proyecciones digitiformes, lo que difiere ampliamente con la forma masiva y sin proyecciones de *Dysidea* sp. 1. *D. uriae* varía de forma masiva a conjinillo y de un color que varía entre gris y negro dependiendo de la iluminación a la que se exponga la esponja, y por último *D. reformensis* es una esponja incrustante a conjinillo de color pardo a verde claro, en ambos casos la disposición esquelética es una malla irregular, siendo casi dendrítico en *D. reformensis* cuando en *Dysidea* sp. 1 el arreglo es claramente rectangular, la disposición esquelética más parecida es de *D. cachui* que presenta la misma forma rectangular. Sin embargo, tiene más fibras secundarias uniendo a las fibras primarias; mientras que en *Dysidea* sp. 1, las fibras primarias se encuentran esporádicamente unidas por fibras secundarias.

Las medidas de las fibras en *Dysidea* sp. 1 son considerablemente más gruesas que en las demás especies de esponjas, las fibras primarias miden de 280 a 770 μm de diámetro, mientras que la especie que tiene las fibras más gruesas en las especies ya reportadas es *D. uriae* y es de 180 μm a 333 μm .

Debido a las diferencias observadas al comparar la especie con las demás descritas para el Pacífico mexicano, se considera que *Dysidea* sp. 1 podría ser una nueva especie para la ciencia (Tabla 3, Tabla 1).

Tabla 3. Comparación entre las seis especies de *Dysidea* reportadas para el Pacífico y las especies del Pacífico mexicano. Las medidas de las fibras primarias FP y fibras secundarias FS se expresan en micrómetros.

Especies del género <i>Dysidea</i> del Pacífico mexicano				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Dysidea</i> sp. 1	Masiva-erecta, negro.	Compresible, fácilmente desgarrable	FP 280- 770 FS 70 – 160	Baja California Sur
<i>Dysidea uriae</i> Carballo et al., 2006.	Masiva a cojincillo. Gris a negra	Compresible, esponjosa.	FP 180 – 333 FS 50 – 100	Sinaloa
<i>Dysidea cachui</i> Carballo et al., 2006.	Masiva-incrustante. Gris claro a blanco.	Suave y fácilmente desgarrable.	FP 150 - 200 FS 40-100	Sinaloa
<i>Dysidea reformensis</i> Carballo et al., 2006.	Incrustante-cojincillo, color pardo a verde claro.	Muy compresible	FP 50 - 100 FS 20 – 40	Sinaloa
Especies del género <i>Dysidea</i> reportadas para el Pacífico Mexicano.				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Dysidea ambliia</i> (De Laubenfels, 1930)	Ramosa con proyecciones digitiformes Gris.			Pacífico
<i>Dysidea uriae</i> Carballo et al., 2006.	Masiva a cojincillo. Gris a negra.	Compresible, esponjosa.	FP 180 – 333 FS 50 – 100	Pacífico
<i>Dysidea cachui</i> Carballo et al., 2006.	Masiva incrustante, gris claro a blanco.	Suave y fácilmente desgarrable.	FP 150 - 200 FS 40-100	Pacífico
<i>Dysidea reformensis</i> Carballo et al., 2006.	Incrustante cojincillo, color pardo a verde claro.	Muy compresible	FP 50 - 100 FS 20 – 40	Pacífico

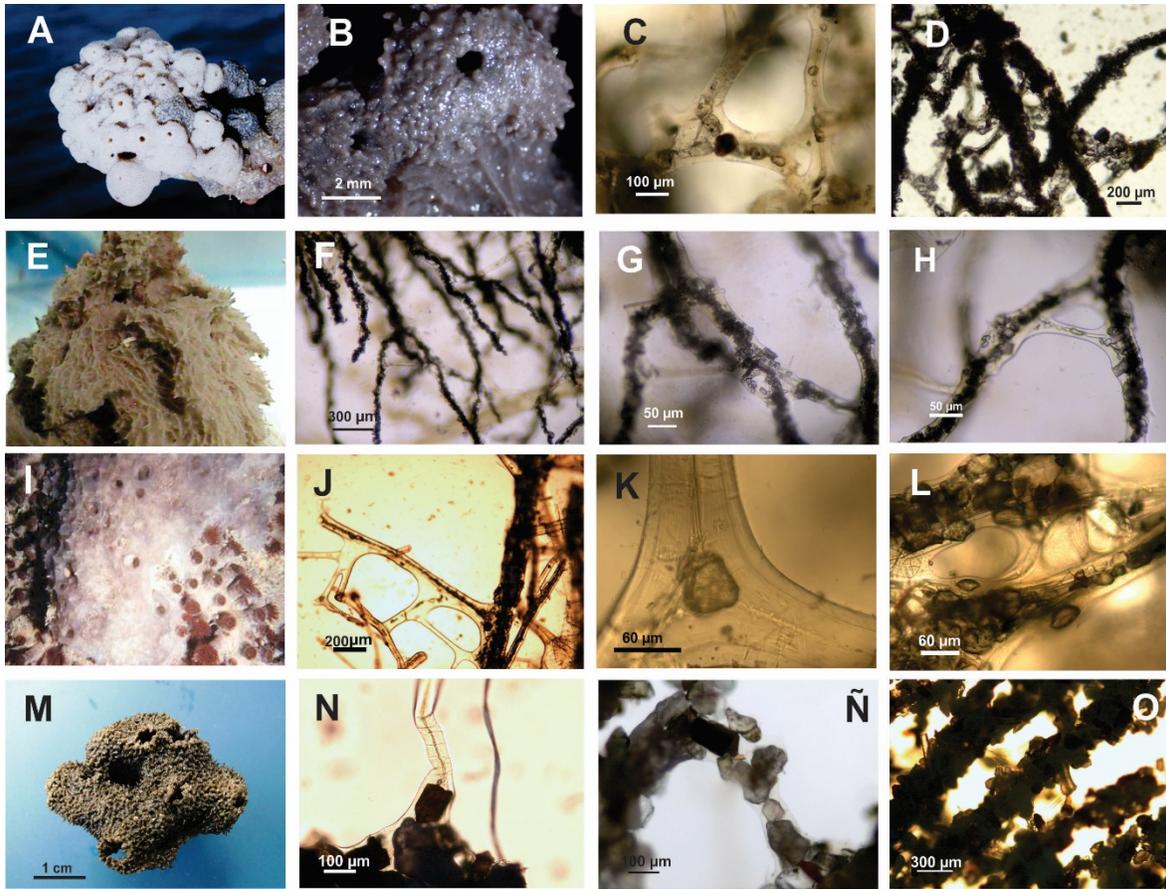


Lámina 1. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Dysidea* presentes en el Pacífico mexicano:

Dysidea cachui. A Vista macroscópica. B Fotografía de dos lóbulos provistos con un óculo central cada uno, se aprecia la textura conulosa de la esponja. C Fibras secundarias con inclusión de granos de arena, se distingue la esponjina clara alrededor del material foráneo. D Disposición de las fibras primarias, se encuentran interconectadas por algunas secundarias. Fotografías de *Dysidea uriae*. E Vista macroscópica. F Disposición irregular de fibras primarias con secundarias, se observa la esponjina alrededor del material exógeno. G y H Fibras secundarias con inclusión. Fotografías de *Dysidea reformensis*. I Macrofotografía del ejemplar. J Disposición anastomosada de fibras primarias. K y L fibras secundarias, la esponjina es visible alrededor de la fibra. Fotografías de *Dysidea* sp 1. M Vista macroscópica. N Fibra secundaria con poca inclusión. Ñ Fibra secundaria rellena de material exógeno, la esponjina es visible alrededor de la inclusión. O Disposición rectangular de las fibras primarias, se encuentran totalmente rellenas de material foráneo

Familia Irciniidae Gray, 1867

Diagnosis.

Las Irciniidae se caracterizan por la presencia de filamentos de colágeno con terminaciones en nódulos esféricos, los cuales se encuentran distribuidos en el mesohilo, complementando el esqueleto. Algunos géneros se diferencian por la presencia de una corteza armada, el grado de fasciculaciones en el esqueleto, así como el relleno de material exógeno en las fibras (Cook, 2007).

Género Ircinia Nardo, 1833

Diagnosis.

Las Ircinias presentan una gran variedad de formas, que se caracterizan por su corteza no armada, su superficie conulosa y su esqueleto compuesto por colágeno fibrilar. Las fibras primarias generalmente se encuentran rellenas de material foráneo y forman fascículos masivos, mientras que las fibras secundarias siempre se encuentran libres de inclusiones (Cook y Bergquist, 2002).

***Ircinia* sp. 1**

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-1214, La Entrega, Oaxaca, 15°42'50''N, 96°05'20''W, 05/04/2005, profundidad 4m. LEB-ICML-UNAM-1520, Los Arcos, Puerto Vallarta Jalisco, 20°31'56" N, 105°17'42" W, 21/03/2006, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-1685, Bahía Braulia, Isla Socorro, Islas Revillagigedo, 18°41'20''N, 110° 58' 23''W, 07/05/2008, profundidad 12 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-1214.

Esponja masiva con bordes redondeados. El ejemplar preservado es de color pardo claro a beige, tornándose pardo oscuro hacia la parte superior de las esponja (la coloración en vida no fue observada). Mide 9 cm de ancho por 5.8 cm de alto. La superficie es conulosa, frecuentemente con inclusiones de granos de arena en la membrana ectosómica, que son visibles a simple vista. Los cónulos se encuentran distribuidos irregularmente sobre

la superficie, pero solo cubren algunas partes, mientras que otras se observan casi completamente lisas. Los cónulos son anchos y se elevan de 0.5 mm hasta 1.2 mm desde la base. Se encuentran separados uno de otro entre 0.2 mm y 0.4 mm. El ectosoma no se encuentra armado y presenta inclusión de material foráneo que no llegan a formar una corteza gruesa. Los ósculos son evidentes a simple vista y se distribuyen irregularmente sobre la superficie de la esponja. Son de forma circular a ovalada y miden desde 1.7 hasta 7.5 mm de diámetro. En algunos de ellos es posible observar los extremos de las fibras. El coanosoma es cavernoso y de consistencia cartilaginosa, presenta canales que miden desde 0.7 mm hasta 1.7 mm de diámetro. La consistencia en general es compresible, elástica y muy resistente (Lámina 2).

Esqueleto.

Formado por fibras de espongina reticuladas, y reforzamientos de colágeno fibrilar. Las fibras son primarias y secundarias, y se encuentran interconectadas entre sí formando fasciculaciones complejas, con aperturas circulares a ovaladas que miden desde 100 μm , hasta 500 μm de diámetro (Lámina 2). Las fibras primarias se observan rellenas con material foráneo. Tienen un grosor desde 90 hasta 100 μm . Las fibras secundarias no tienen médula y están casi libres de inclusiones, miden de 50 μm a 90 μm de diámetro. Los filamentos de colágeno son abundantes y terminan en un nodo esférico, de forma oval, de 5 μm a 7 μm de diámetro (Lámina 2).

Distribución y hábitat.

Los Arcos, Puerto Vallarta, (Jalisco), Bahía Braulia, (Isla Socorro); La Entrega, Puerto Ángel, (Oaxaca). Los ejemplares se encontraron desde los 4 m hasta los 12 m de profundidad. Habita en sustratos rocosos y coralinos (Figura 6).

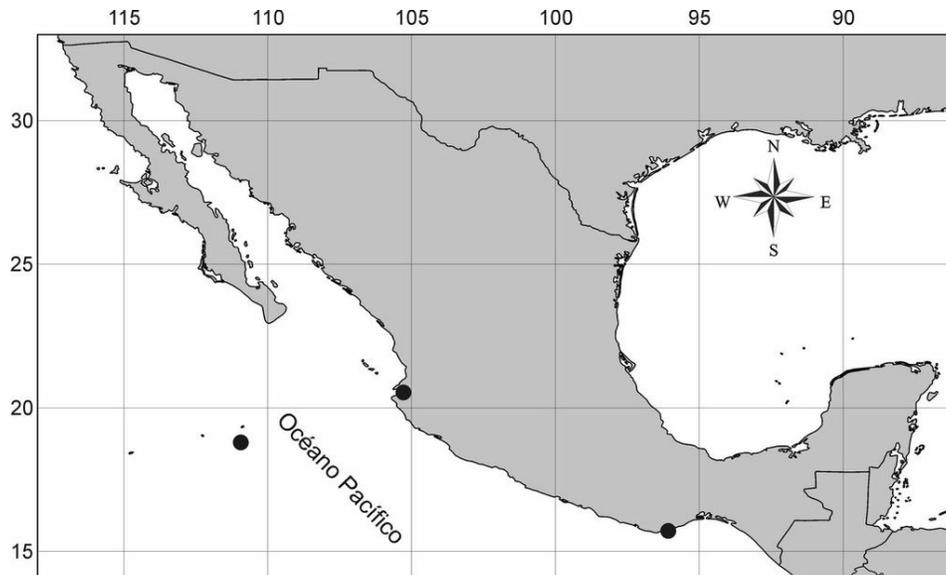


Figura 6. Distribución de *Ircinia* sp. 1 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontraron los ejemplares de esta especie.

La descripción de *Ircinia* sp. 1 se realizó a partir del primer ejemplar encontrado. Pero además de este, otros ejemplares similares fueron encontrados: LEB-ICML-UNAM-1520 y LEB-ICML-UNAM-1685 se diferencian fundamentalmente por la membrana ectosómica, ya que uno de los ejemplares, LEB-ICML-UNAM-1520, presenta un reforzamiento tipo malla formado por material foráneo que delimita espacios de 7 μm hasta 10 μm de lado, sin llegar a formar una corteza gruesa. Las medidas de los cónulos pueden variar de un ejemplar a otro de 0.7 mm a 1.8 mm, así como la disposición y densidad oscular, ya que pueden llegar a ser de numerosos a escasos, con medidas que van de 2.3 mm hasta 2.9 mm de diámetro. Respecto al esqueleto, las medidas de las fibras primarias varían en un rango de 30 μm a 250 μm de diámetro y las fibras secundarias de 15 μm a 75 μm de diámetro; así mismo la luz de malla es de 35 μm hasta 150 μm de diámetro.

Ircinia sp. 2

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-634, Playa Los Muertos, Sayulita, Nayarit, 20°47'13"N, 105°71'13"W, 08/10/2002, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM-876, Chacala, Nayarit, 20°52'29"N, 105°26'72"W, 12/06/2003, profundidad 4 m. LEB-ICML-UNAM-1395, El Requesón, Bahía Concepción, Baja California Sur, 26°38'38"N, 111°49'53"W, 29/10/2006,

profundidad 9 m. LEB-ICML-UNAM-1450, Muelle Petrolero, La Paz, Baja California Sur, 26°38'38"N, 111°49'53"W, 12/03/2007, profundidad 4 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-1395.

Esponja masiva de 3.5 cm grosor, lobulada con bordes redondeados. Crece sobre una superficie de 9.5 cm x 8 cm y tiene 2.5 cm de grosor. Su coloración luego de preservada es marrón rojizo en la base y marrón oscuro en la parte superior. La superficie es conulosa, comúnmente con inclusiones de granos de arena en el ectosoma. Los cónulos son anchos y presentan una distribución irregular sobre la superficie. Miden de 0.6 mm a 0.8 mm de alto, y de 0.8 mm a 1.2 mm de ancho y se encuentran separados uno de otro entre 0.2 mm y 1 mm de distancia. La membrana ectosómica no está armada. Sin embargo, se encuentra una organización tipo malla por inclusión de granos de arena, que no forma una corteza gruesa y con aperturas que miden de 13 μm a 30 μm . El ectosoma presenta pliegues y elevaciones osculares que le dan al ejemplar un aspecto arrugado. Los ósculos se encuentran distribuidos irregularmente sobre la superficie de la esponja y son de forma circular a ovalada y miden desde 2.3 mm hasta 7 mm, mientras que en la parte inferior de la esponja se observan menos definidos en su forma y distribución. El coanosoma es de color anaranjado y cavernoso, con grandes canales interconectados entre sí de 0.7 mm hasta 1.9 mm. La consistencia es elástica, compresible y resistente (Lámina 2).

Esqueleto.

Formado de fibras de espongina reticuladas, de color ámbar claro a oscuro rojizo y reforzamiento de colágeno fibrilar. Es posible distinguir entre fibras primarias y secundarias, las cuales no presentan abundantes fasciculaciones ni placas perforadas, presentan espacios amplios (luz de malla) de forma redonda a oval entre 200 μm y 450 μm de diámetro. Las fibras primarias presentan corteza y médula, y se encuentran dispuestas de manera ascendente hacia el ectosoma terminando en la punta de los cónulos. Miden de 100 μm hasta 130 μm de grosor y están rellenas de material foráneo. Las fibras secundarias miden entre 50 μm y 90 μm diámetro y no se distingue ni médula ni corteza. Presenta filamentos de colágeno con nodos terminales esféricos que miden hasta 5 μm de diámetro (Lámina 2).

Material Adicional.

Además del ejemplar descrito previamente para la especie *Ircinia* sp. 2, existen 3 ejemplares más: LEB-ICML-UNAM-876, LEB-ICML-UNAM-1450 y LEB-ICML-UNAM-634, que varían con respecto a la membrana ectosómica. Estas variaciones se deben a que algunos ejemplares presentan cónulos que recubren más homogéneamente a toda la superficie de la esponja, mientras que en otros presentan una distribución más irregular. Las medidas de los cónulos pueden variar de un ejemplar a otro desde 600 μm hasta 1500 μm de alto y desde 800 μm hasta 2000 μm de ancho, con separaciones desde 200 μm hasta 1000 μm . La reticulación ectosómica que presentan los ejemplares puede variar un poco en la luz de malla de 10 μm a 20 μm de diámetro. En algunos ejemplares se presentan pliegues en el ectosoma dándoles un aspecto arrugado; aunque en otros ejemplares ésta característica no se presenta. Los ósculos pueden ser numerosos o escasos, con medidas que van desde 1.8 mm hasta 7 mm de diámetro. Respecto al esqueleto, las medidas de las fibras primarias varían en un rango de 50 μm hasta 125 μm de diámetro y las fibras secundarias desde 15 μm hasta 75 μm de diámetro; así mismo la luz de malla es de 400 μm hasta 800 μm .

Distribución y hábitat.

El ejemplar descrito se encontró en El Requesón, Bahía Concepción (Baja California Sur), y los demás ejemplares en Playa Los Muertos y Chacala (Nayarit) y Muelle Petrolero, La Paz, (Baja California Sur) Los ejemplares se encontraron desde 1 m hasta los 9 m de profundidad; sobre sustrato artificial, rocoso y calcáreo (Figura 7).

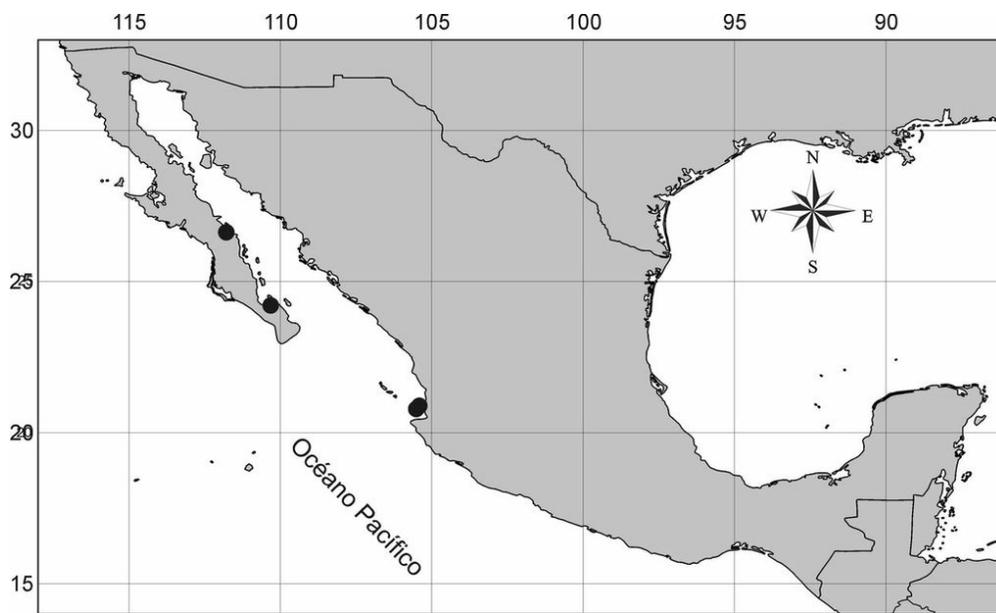


Figura 7. Distribución de *Ircinia* sp. 2 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades de registro.

Ircinia sp. 3

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-1928, Bahía Concepción, Baja California Sur, 26°38'38"N, 111°49'53"W, 09/06/2010, Profundidad 2 m. LEB-ICML-UNAM-1908, Puerto Escondido, Baja California Sur, 26°38'38"N, 111°49'53"W, 09/06/2010, profundidad 2 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-1928.

Esponja masiva de 3 cm de grosor, lobulada, con bordes redondeados que cubre superficies de 7.5 cm por 6.5 cm. El color es pardo oscuro, tornándose casi negra hacia la superficie con una coloración rojiza en la base (no se registró el color en vida). La membrana ectosómica no se encuentra armada, pero se observan granos de arena que no llegan a formar corteza. Algunas secciones del ectosoma, se observan elevadas por pliegues, dándole una apariencia arrugada al ejemplar. La textura es conulosa. Los cónulos son agudos y recubren toda la esponja, miden desde 1 mm hasta 2 mm de alto y de 1.2 mm a 1.3 mm de ancho, y se encuentran separados uno de otro entre 30 y 100 μ m. Comúnmente sobre los cónulos se observan algunas terminaciones de fibras sobresaliendo desde 0.7 mm y 1.5 mm, dando a la esponja un aspecto erizado. Se observan pocos ósculos, y casi todos se encuentran entre los pliegues interconulares. Estos son de forma circular a ovalada, y

miden de 0.5 mm a 2.5 mm de diámetro. La consistencia es suave, compresible y elástica, aunque no muy resistente al desgarre (Lámina 2).

Esqueleto.

Constituido por fibras reticuladas de espongina color ámbar oscuro y reforzamiento de colágeno fibrilar. Presenta fibras primarias y secundarias. Estas se encuentran interconectadas entre sí formando escasas fasciculaciones, con aperturas circulares a ovaladas grandes desde 200 hasta 400 μm de diámetro. Las fibras primarias miden desde 75 hasta 125 μm de diámetro, poseen una médula intermitentemente rellena de material foráneo. Las fibras secundarias miden desde 25 hasta 50 μm , y se observan casi libres de inclusiones, sin médula ni estratificaciones. Se observan abundantes filamentos de colágeno que pueden estar rellenos de material exógeno, terminando en nodos esféricos a ovalados, que miden de 4 a 7 μm de diámetro (Lámina 2).

Material adicional.

La descripción de *Ircinia* sp. 3 está basada en el ejemplar LEB-ICML-UNAM-1928. Sin embargo, existe otro ejemplar LEB-ICML-UNAM-1908 que presenta algunas diferencias con respecto al individuo aquí descrito. La coloración varía debido a que en la parte inferior se presenta un tono pardo más claro. Los ósculos varían de 2.5 hasta 8 mm de diámetro. El esqueleto presenta una luz de malla de 275 a 475 μm de diámetro. Las fibras primarias miden de 75 hasta 95 μm de diámetro y las secundarias de 40 μm a 50 μm de diámetro.

Distribución y hábitat.

Los ejemplares provienen de Bahía Concepción y Puerto Escondido, Baja California Sur (Figura 8). Se encontraron sobre un sustrato calcáreo-rocoso; a una profundidad de 2 m.

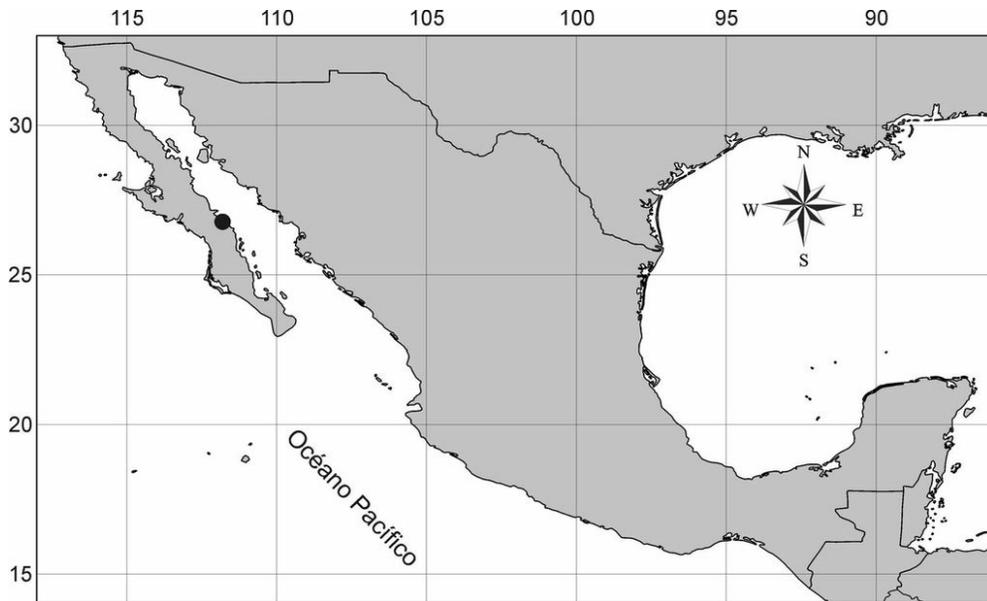


Figura 8. Distribución de *Ircinia* sp. 3 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades de registro.

Comentarios taxonómicos de especies del género *Ircinia*.

Las especies del género *Ircinia* encontradas en el Pacífico mexicano presentan ciertas diferencias entre sí con respecto a características externas, como forma y color. *Ircinia* sp. 1 es masiva - incrustante y de color pardo claro. *Ircinia* sp. 2 es masiva con bordes redondeados y color anaranjado rojizo. *Ircinia* sp. 3 es masiva, con bordes irregulares de color pardo oscuro. Además de estas diferencias también existen variaciones entre el diámetro y el grado de fasciculación de las fibras, además de la amplitud de malla de las estructuras esqueléticas. *Ircinia* sp. 1 posee las fibras primarias con fasciculaciones más complejas y menos gruesas (de 90 μm a 100 μm) que las otras dos especies (de 100 μm a 130 μm en *Ircinia* sp. 2, y de 75 μm a 125 μm en *Ircinia* sp. 3), asimismo la apertura de malla es más estrecha en la estructura esquelética de esta especie (desde 100 μm hasta 500 μm vs. desde 200 μm hasta 400 μm de *Ircinia* sp. 3 y de 200 μm hasta 800 μm de *Ircinia* sp. 2) (Lámina 2).

Ircinia sp. 2 posee las fibras primarias un poco más gruesas que *Ircinia* sp. 3 (de 100 μm a 130 μm , y de 75 μm a 125 μm , respectivamente). En cuanto a la apertura de malla poseen medidas más parecidas, de 200 μm x 450 μm en *Ircinia* sp. 2, y en *Ircinia* sp. 3 de 200 μm x 400 μm . La forma y consistencia de las esponjas varía considerablemente, ya que *Ircinia* sp. 2 es de forma masiva con bordes redondeados, su color es pardo

anaranjado y consistencia muy firme, resistente al desgarre; mientras que *Ircinia* sp. 3 es de forma masiva con bordes irregulares, color pardo oscuro a negro y puede tener una coloración rojiza en la base, la consistencia es suave y fácilmente desgarrable, ambas con abundante colágeno fibrilar.

Hasta ahora solo se han reportado tres especies de *Ircinia* para el Pacífico este: *I. fusca* (Carter, 1880) descrita en la India y posteriormente registrada por Dickinson (1945) en el Golfo de California; *I. clavata* Thiele, 1905 descrita en el mar Adriático y citada en 1972 por Desqueroux en Chile. También *I. variabilis* Schulze, 1879 que fue descrita en el Pacífico Sur, en la costa chilena, por Desqueroux-Faúndez 1972.

Ircinia variabilis sensu Desqueyroux-Faúndez 1972 tiene la característica de ser notoriamente subesférica, su coloración es verde grisácea o café clara, es áspera y rugosa y cubierta por una membrana muy rugosa. Los ejemplares examinados en este trabajo, difieren principalmente de *I. variabilis* en su coloración y membrana dérmica que es verde grisácea, los ejemplares mexicanos van desde el beige muy claro hasta el pardo oscuro casi negro. Además de mostrar diferencias claras con respecto al diámetro de las fibras primarias, ya que *I. variabilis* reporta medidas de hasta 1000 μm y los ejemplares de éste estudio presentan medidas máximas de 130 μm en las fibras primarias.

Ircinia clavata sensu Desqueyroux-Faúndez 1972, se caracteriza por estar cubierta de una gruesa costra de 3-6 mm de espesor y con una superficie con verrugas planas. Los ejemplares mexicanos, difieren de *I. clavata*, por que no presentan estas características. Las membranas ectosómicas en los ejemplares analizados son suaves, y en algunos ejemplares presentan la inclusión de granos de arena con organización tipo malla. Asimismo, difieren de *I. fusca sensu* Dickinson (1945), porque tiene forma ramosa a digitiforme y los ejemplares mexicanos son masivos.

En la región del Caribe actualmente se conocen *I. campana*, *I. dickinsoni* (de De Laubenfels, 1936) e *I. felix* (Duchassaing y Michelotti, 1864) las cuales presentan diferencias significativas al compararlos con nuestros ejemplares. *I. campana* difiere de los ejemplares del Pacífico este por su forma característica de copa, las especies de éste estudio son masivas; *I. dickinsoni* puede ser ramosa o cilíndrica e *I. felix* es una esponja pequeña y globular. Además, tomando en cuenta la distancia biogeográfica que las separa, es poco

probable que se traten de las mismas especies.

Dadas las diferencias morfológicas entre los registros citados en el área del Pacífico este y Caribe y las especies aquí descritas, es probable que estas últimas sean nuevas para la ciencia (Tabla 4).

Tabla 4. Comparación entre las especies de *Ircinia* del Pacífico mexicano y especies reportadas para el Pacífico. Las medidas de fibras primarias FP, fibras secundarias FS y luz de malla LM se expresan en micrómetros.

Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras y luz de malla	Colágeno fibrilar	Distribución	Referencia
Especies del género <i>Ircinia</i> en el Pacífico mexicano						
<i>Ircinia</i> sp. 1	Masiva-incrustante bordes redondeados, pardo clara	Resistente al desgarre	FP 90 a 100 FS 50 a 90 LM de 100 hasta 500	Moderado	Jalisco, Oaxaca e Islas Revillagigedo	Presente estudio
<i>Ircinia</i> sp. 2	Masiva con bordes redondeados, pardo anaranjado	Resistente al desgarre	FP100 a 130 FS 50 a 90 LM200 hasta 450	Abundante	Nayarit, Baja California Sur y Oaxaca	Presente estudio
<i>Ircinia</i> sp. 3	Masiva, lobulada bordes irregulares, pardo oscuro	Blanda	FP 75 a 125 FS 25 a 50 LM 200 a 400	Abundante	Baja California Sur	Presente estudio
Especies del Género <i>Ircinia</i> para el Pacífico este						
<i>I. fusca</i> (Carter 1880)	Ramosa-digitiforme, pardo	Resistente al desgarre	FP100 a 180	Abundante	Pacífico este India y Sri Lanka,	Dickinson, 1905
<i>I. variabilis</i> (Schmidt 1862)	Masiva subesférica, verde gris	Resistente al desgarre	FP 1800	Abundante	Pacífico este Mar Adriático	Desqueroux, 1972
<i>I. clavata</i> Thiele, 1905	Masiva irregular, gris oscuro	Blanda	FP 150	Abundante	Pacífico este	Desqueroux, 1972

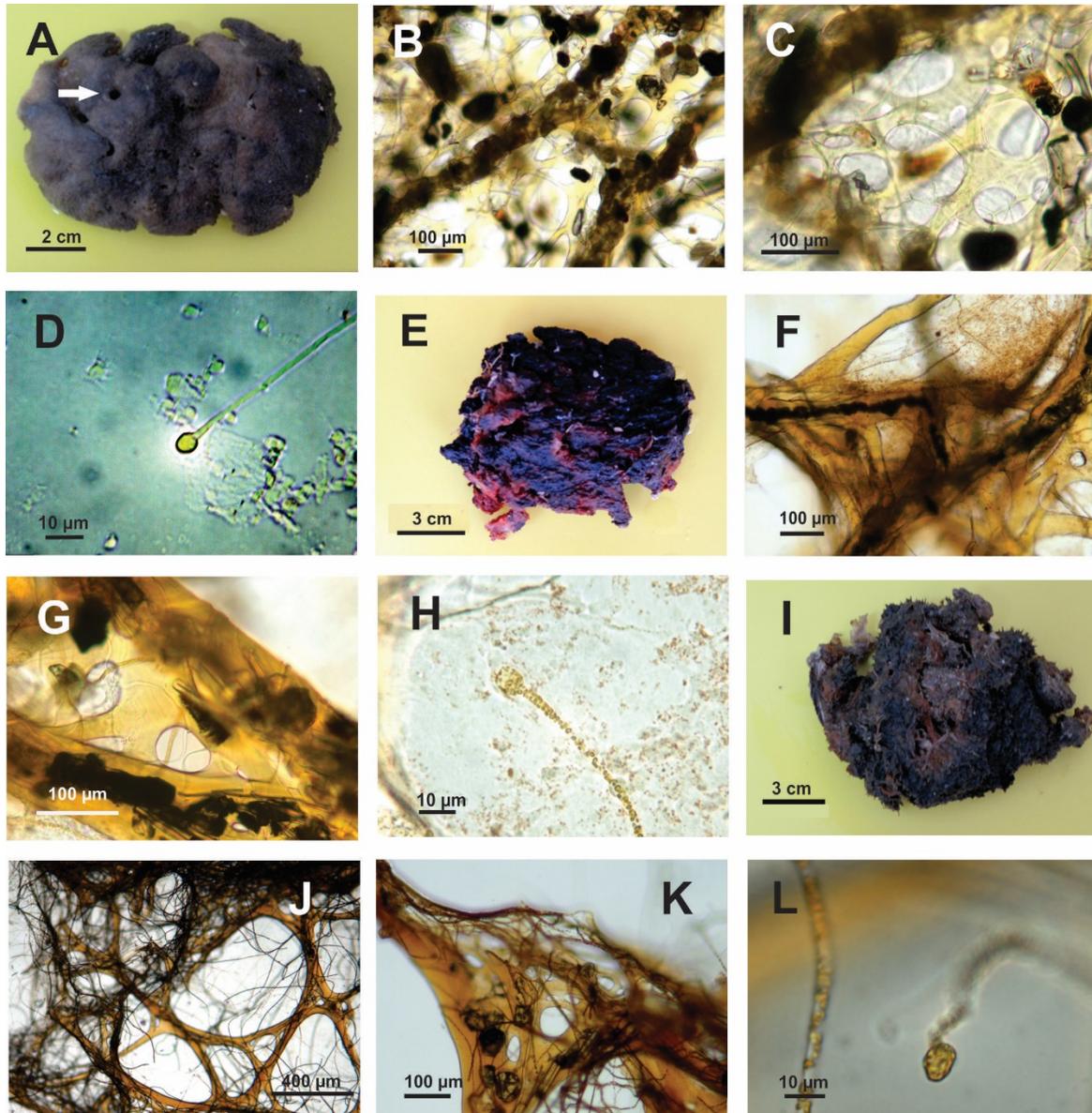


Lámina 2. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Ircinia* presentes en el Pacífico mexicano:

***Ircinia* sp. 1.** A Vista macroscópica, en esta imagen se observan los bordes redondeados de la esponja, la flecha indica un ósculo. B y C Fibras primarias rellenas, se observan fasciculaciones complejas entre las interconexiones de las fibras primarias y secundarias. D Filamento de colágeno con terminación en nodo esférico-oval. Fotografías de *Ircinia* sp. 2. E Vista macroscópica. En esta imagen observan los bordes redondeados y la superficie conulosa; así como la coloración oscura en la superficie y rojiza en la base. F Vista microscópica en la que se observan los espacios de luz de malla amplios y fasciculaciones simples. G Pequeña placa perforada formada entre dos fibras primarias. H Filamento de colágeno y nodo terminal esférico rellenos de material exógeno. Fotografías de *Ircinia* sp. 3. I Vista macroscópica en la cual se observan los bordes irregulares y superficie conulosa. J Vista microscópica. En esta imagen se observa la apertura de malla amplia, con abundantes filamentos de colágeno. K Placa perforada. L Filamentos de colágeno con nodo terminal esférico-ovalado.

Género *Hyattella* Lendelfeld, 1888

Especie tipo: *Spongia intestinalis* Lamarck, 1814: Océano Índico.

Diagnosis.

Spongiidae con un ectosoma no armado, cuerpo muy cavernoso, y un velo especial de fibras delgadas de espongina sosteniendo la dermis y recubriendo las cavernas coanosómicas (Van Soest, 1978). Las formas que desarrollan son muy variables ya que van desde tubulares, erectas, incrustantes, hasta masivas. Son esponjas elásticas y compresibles. El esqueleto presenta fibras primarias rellenas de material foráneo, regularmente espaciadas, y una red densa de fibras secundarias sin inclusiones ni médula (Cook y Bergquist, 2002).

Hyattella aff. *intestinalis* (Lamarck, 1814)

Sinonimia.

Spongia intestinalis Lamarck, 1814

Hippospongia clathrata Carter, 1881

Hippospongia anomala Poléjaeff, 1884

Hyattella murray Lendenfeld, 1889

Hyattella tubaria Lendenfeld, 1889

Stelospongia kingii Lendenfeld, 1889

Hyattella intestinalis.- Green & Gómez, 1986

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-8, Isla Lobos, Mazatlán, Sinaloa, 23°13'49''N, 106°27'43''W, 28/11/1997, profundidad 3 m. LEB-ICML-UNAM-849, Majahuita, Puerto Vallarta, Jalisco, 20°29'06''N, 105°35'03''W, 08/06/2003, profundidad 5 m. LEB-ICML-UNAM-132, Isla Lobos, Mazatlán, 23°13'49''N, 106°27'43''W, 17/02/2000, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM-458, Isla Redonda, Marietas, Nayarit, 20°42'04''N, 105°33'89''W, 05/04/2002, profundidad 10 m. LEB-ICML-UNAM-1039, Las Monas, Isla Isabel, 21°50'58''N,

105°52'46''W, 12/11/2003, profundidad 12 m. LEB-ICML-UNAM-563, Isla El Morro, Bahía de Banderas, Nayarit, 20°40'23''N, 106°40'54''W, 04/10/2002, profundidad 2 m. LEB-ICML-UNAM-177, Isla Lobos, Mazatlán, Sinaloa, 23°13'49''N, 106°27'43''W, 14/03/2005, profundidad 4 m. LEB-ICML-UNAM-1405, San Agustín, Puerto Ángel, Oaxaca, 15°41'09''N, 96°13'46''W, 09/04/2005, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-458, Isla Redonda, Marietas, Nayarit, 20°42'04''N, 105°33'89''W, 05/04/2002, profundidad 10 m. LEB-ICML-UNAM-1308, Punta Tiburón, Mazatlán, Sinaloa; 23°12'50''N, 106°24'50''W, 03/05/2005, profundidad 3 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-8.

Esponja masiva de 2.8 cm de grosor que crece sobre una superficie de 11.5 x 9 cm. El color (preservada) es pardo oscuro en la superficie hasta pardo claro hacia la base. El coanosoma es de color pardo claro a amarillo. La superficie es conulosa y muestra inclusión de espículas y granos de arena en el ectosoma, sin llegar a desarrollar una organización bien definida. Los cónulos se distribuyen irregularmente por la esponja, habiendo lugares cubiertos casi en su totalidad y secciones casi lisas. Las medidas de los cónulos van desde 300 hasta 500 µm de alto, y desde 500 hasta 800 µm de ancho, con separaciones entre ellos de hasta 500 µm. Los ósculos son de forma redondeada y miden hasta 1.8 mm de diámetro, los cuales no muestran un patrón de distribución definido, aunque se concentran mayormente sobre elevaciones que se presentan en la parte superior de la esponja. El ectosoma es translúcido, de textura suave y fácil de desgarrar. El coanosoma es muy cavernoso con diversos túneles o canales que le dan la consistencia esponjosa y suave (Lámina 3).

Esqueleto.

La estructura esquelética está formada por fibras de espongina sin médula ni corteza. Las fibras son primarias, secundarias, y forman reticulaciones poligonales que pueden llegar a interconectarse con algunas fibras pseudoterciarias. Las fibras primarias miden desde 90 hasta 102 µm de diámetro, pueden llegar a formar reticulaciones entre ellas mismas fusionándose y presentan inclusión de material foráneo sin estar rellenas en su totalidad. Las fibras secundarias miden de 80 a 90 µm y se encuentran libres de médula e inclusiones y forman una reticulación secundaria con apertura de malla desde 550 hasta 750

µm. Las fibras pseudoterciarias se encuentran interconectando a las fibras primarias con las secundarias o bien solamente entre primarias o secundarias; miden de 20 a 40 µm (Lámina 3).

Distribución y hábitat.

La especie *Hyattella intestinalis*, fue descrita originalmente en Indonesia y posteriormente citada en Australia, (Poléjaeff, 1884), Isla Chatham (Bahr, 1904), India, localidad tipo, (Lamarck, 1814), Indonesia (Lendenfeld, 1889), Sur de la India y Sri Lanka (Carter, 1881), Tanzania (Hooper y Van Soest, 2002), y Oeste del Indo-Pacífico (Lendenfeld, 1889). Para el Pacífico este fue citada en Mazatlán (Pacífico mexicano) por Green y Gómez (1986). *Hyattella* aff. *intestinalis* se encuentra en los estados de Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Oaxaca (Figura 9). La especie habita sustratos duros, principalmente rocas, aunque también se ha encontrado sobre coral muerto, conchas de bivalvos, tubos de poliquetos o estructuras artificiales, entre 2 y 12 m de profundidad.

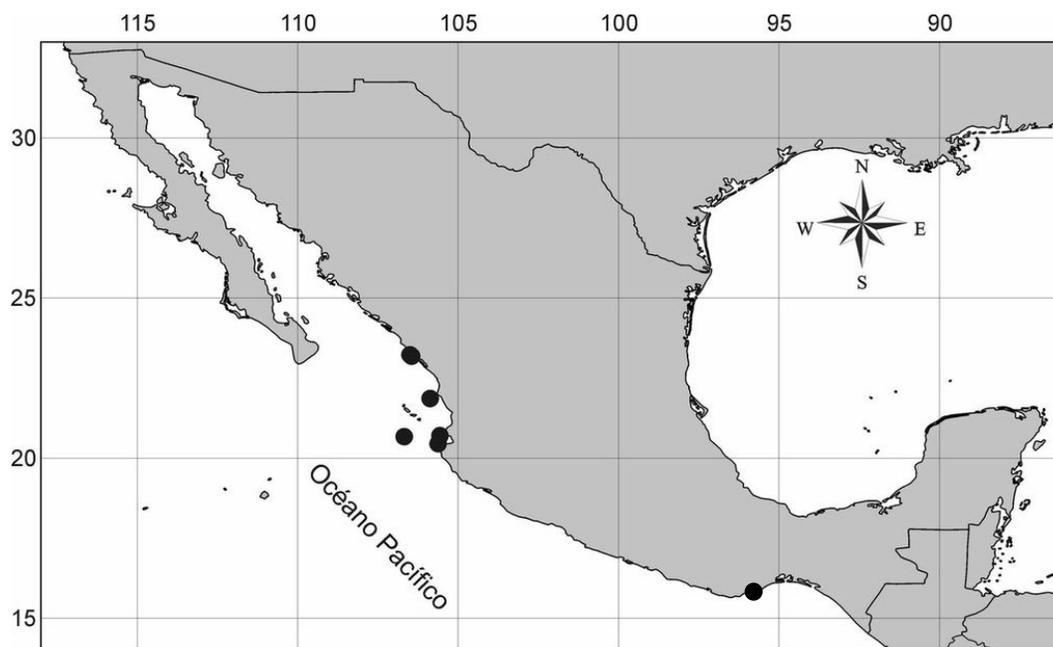


Figura 9. Distribución de *Hyattella* aff. *intestinalis* en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Hyattella sp. 1

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-516, Playa Los muertos, Nayarit, 20°52'29''N, 105°26'72''W,

09/04/2002, profundidad 4 m. LEB-ICML-UNAM- 940, Isla Hermano Norte, Mazatlán,
Sinaloa, 23°10'59''N, 106°26'54''W, 24/10/2003, profundidad 8 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-516.

Esponja masiva irregular, con proyecciones de bordes irregulares. Se extiende sobre superficies de 5.2 x 6 cm y tiene un grosor de 5.5 cm. El color es pardo claro, oscureciéndose hacia la parte superior de la esponja. El ectosoma se muestra firme aunque es quebradizo, tiene poca inclusión de arena. La superficie es regularmente conulosa. Los cónulos son agudos en la parte superior de la esponja y más anchos y redondeados en los lados. Éstos miden de 300 hasta 600 μm de ancho y de 800 hasta 1200 μm desde su base hasta la punta. Los ósculos son escasos, los cuales se disponen sobre la superficie de las elevaciones y son redondeados. Sus medidas son de 1.8 mm de diámetro. Presenta un coanosoma cavernoso y su consistencia es compresible pero firme, relativamente resistente al corte (Lámina 3).

Esqueleto.

Se encuentra formado por una red de fibras de espongina primarias y secundarias que carecen de médula y corteza. Las fibras primarias son simples, presentan una inclusión intermitente de granos de arena, miden de 80 a 100 μm de diámetro. Las fibras secundarias se encuentran interconectando a las primarias y están libres de inclusión de material foráneo y no tienen corteza ni médula. Miden de 35 a 50 μm de diámetro, y forman retículos redondeados de 175 hasta 400 μm de apertura. El esqueleto cuenta con fibras pseudoterciarias, que se encuentran esporádicamente interconectando a las fibras secundarias, éstas miden de 11 a 15 μm de diámetro. La reticulación no es regular por toda la esponja, observándose, en ocasiones, tramos de una red irregular en donde predomina el esqueleto secundario, con formas menos definidas de luz de malla (Lámina 3).

Material adicional

El ejemplar LEB-ICML-UNAM-940 presenta una membrana ectosómica muy firme y difícil de romper. Respecto al esqueleto, las medidas de las fibras primarias varían en un intervalo de 50 a 90 μm de diámetro y las fibras secundarias de 40 a 50 μm de diámetro. La luz de malla es de 240 a 400 μm de diámetro.

Distribución y hábitat.

Los ejemplares de *Hyattella* sp. 1 se recolectaron en las localidades de Playa Los

Muertos, Nayarit e Isla Hermano Norte, Mazatlán, Sinaloa, a profundidades de entre 4 y 8 m, respectivamente sobre sustratos artificial y rocoso (Figura 10).

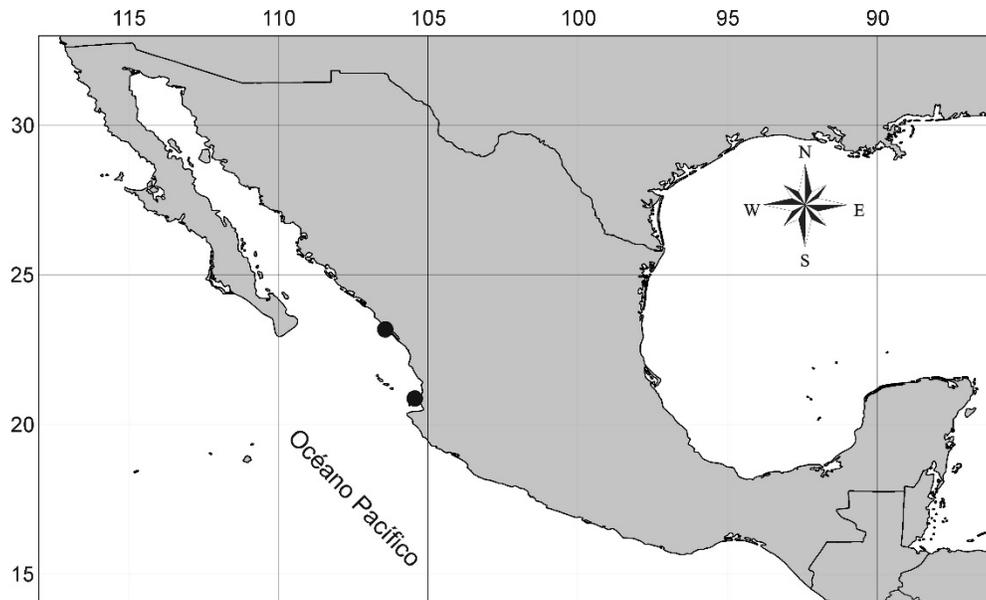


Figura 10. Distribución de *Hyattella* sp. 1 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Hyattella sp. 2

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-887, Isla El Crestón, Mazatlán, Sinaloa, 23°11'02''N, 106°25'39, 10/09/2003, profundidad 7 m. LEB-ICML-UNAM-1259, Roca Partida, A. de Revillagigedo, 18°50'51''N, 110°59'53''W, 14/03/2005, profundidad 4 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-887.

Esponja masiva cojincillo de 2.4 cm de alto, con bordes redondeados. El ejemplar se extiende sobre una superficie de 3.8 x 2.1 cm. El ectosoma se observa firme y resistente al desgarre. El color va desde el gris oscuro en la parte superior aclarándose hacia la parte inferior de la esponja. La superficie es regularmente conulosa. Los cónulos se observan anchos y redondeados de la punta, los cuales miden desde 500 hasta 600 μm de ancho, y desde 400 hasta 700 μm de alto; con separaciones de 450 y 500 μm . Los ósculos siguen un patrón de acomodo más o menos lineal en la superficie del ejemplar, son redondos y alcanzan tamaños de 1 hasta 1.7 mm de diámetro. El coanosoma es lacunoso, compresible

pero firme y resistente al desgarre (Lámina 3).

Esqueleto.

Está formado por una red de fibras de espongina. Las fibras primarias se encuentran rellenas de arena; son continuas y comúnmente forman retículos. Miden de 100 hasta 140 μm de diámetro. Las fibras secundarias se encuentran interconectando a las fibras primarias, miden de 50 a 70 μm y forman retículos poligonales que miden de 230 a 300 μm de diámetro. Las fibras secundarias no muestran una corteza bien definida. Sin embargo, en los puntos de convergencia de dos fibras se puede observar una corteza más clara. El esqueleto cuenta con fibras pseudoterciarias que en ocasiones interconectan a las fibras secundarias y primarias. Son muy delgadas, claras y homogéneas. Miden de 20 a 40 μm (Lámina 3).

Material adicional.

La descripción de la especie *Hyattella* sp. 2 se realizó a partir del ejemplar LEB-ICML-UNAM-887. El ejemplar LEB-ICML-UNAM-1259 es masivo irregular. La consistencia es lacunosa y no muy resistente al desgarre. Las fibras primarias varían en un intervalo de 80 a 100 μm de diámetro y las fibras secundarias de 40 a 60 μm de diámetro; la luz de malla es de 200 a 320 μm de diámetro.

Distribución y hábitat.

Los ejemplares se recolectaron en las localidades de Roca Partida, Archipiélago de

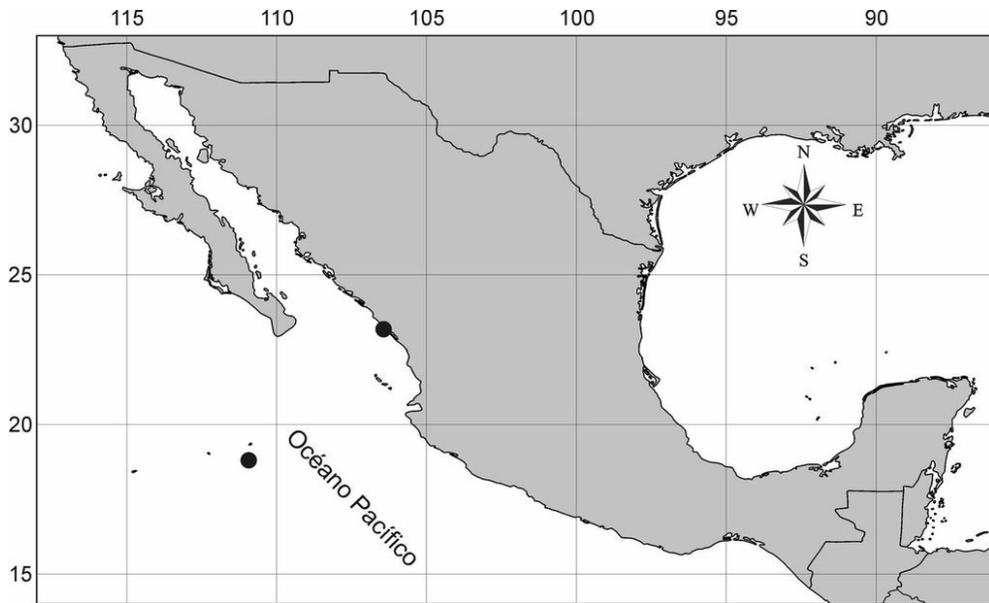


Figura 11. Distribución de *Hyattella* sp. 2 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde de registro.

Revillagigedo, e Isla El Crestón, Mazatlán, Sinaloa, a una profundidad de 4 y 7 m, respectivamente. Se encontraron en sustratos rocoso-coralino y rocoso-arenoso (Figura 11).

Hyattella sp. 3

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-805, Isla Redonda, Marietas, Nayarit, 20°42'04''N, 105°33'89''W, 10/06/2003, profundidad 12 m. LEB-ICML-UNAM-2186, Los Arcos, Puerto Vallarta, Jalisco, 20°42'04''N, 105°33'89''W, 28/03/2012. Profundidad 12 m.

Descripción del ejemplar LEB-ICML-UNAM-805.

Esponja de forma masiva con proyecciones digitadas que puede presentar reticulaciones en algunas secciones. Mide 4.7 cm de alto por 3.2 cm de ancho, y de 2.4 cm de grosor. El ecotosoma es firme, resistente al desgarre y con poca inclusión de arena y de color beige claro. La superficie es conulosa, con cónulos finos que miden de 400 a 500 μ m desde la base hasta la punta, y de 300 a 400 μ m de ancho; separados uno de otro entre 300 y 500 μ m cubriendo la esponja casi en su totalidad. Los ósculos son muy escasos, y se encuentran comúnmente situados en el extremo superior de las proyecciones. Tienen forma circular u oval de hasta 1 mm de diámetro. La consistencia es firme, poco compresible y

resistente al desgarre (Lámina 3).

Esqueleto.

Conformado por fibras primarias que son simples, no forman retículos y presentan una fina corteza en los puntos de unión. Las fibras primarias miden de 120 a 123 μm de diámetro y están rellenas con material foráneo. Se encuentran interconectadas por fibras secundarias, que van desde 70 a 100 μm de diámetro; son simples y sin inclusiones, y forman aperturas de malla de 332 hasta 400 μm .

En la zona subectosómica, las reticulaciones son casi rectangulares, las fibras primarias se bifurcan y tienden a anastomosarse; mientras que en el coanosoma profundo, forma una reticulación más irregular. Presenta un esqueleto pseudoterciario que puede encontrarse interconectando fibras primarias con secundarias o formando redes complejas entre ellas mismas. Miden 25 μm de diámetro (Lámina 3).

Material adicional.

El ejemplar LEB-ICML-UNAM-2186 es incrustante. La consistencia no se apreció bien debido a que el ejemplar es pequeño. Sin embargo no es muy resistente al desgarre. Las fibras primarias varían en un intervalo de 123 a 145 μm de diámetro y las fibras secundarias de 34 a 104 μm de diámetro. La luz de malla es de 371 a 577 μm de diámetro.

Distribución y hábitat.

Hyattella sp. 3 se encontró en las localidades de Isla Redonda, Marietas, Nayarit y los Arcos, Puerto Vallarta, Jalisco, a una profundidad de 12 m, sobre una superficie rocosa (Figura 12).

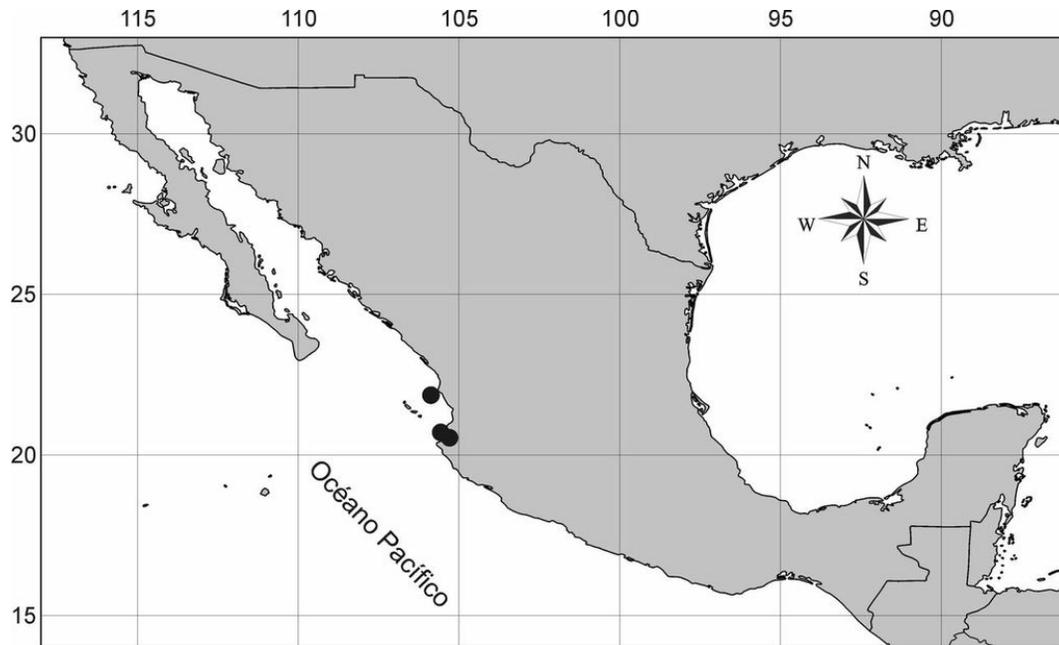


Figura 12. Distribución de *Hyattella* sp. 3 en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos

Las cuatro especies de *Hyattella* se diferencian entre ellas por su forma externa y la organización de su esqueleto. *Hyattella* aff. *intestinalis* es una esponja muy cavernosa con forma masiva y que tiene proyecciones osculares muy evidentes, mientras que *Hyattella* sp. 1 y *Hyattella* sp.2 no presentan dicha característica. *Hyattella* sp. 3 presenta color claro y abundantes fibras pseudoterciarias y no presenta las aperturas circulares que forma la malla en *Hyattella* sp. 2.

Hyattella intestinalis (Lamarck, 1814) es una especie originalmente descrita en el Indo Pacífico. Los ejemplares mexicanos coinciden con la descripción original de Lamark (1814) en cuanto a la morfología externa y caracteres esqueléticos. La especie presenta una estructura esquelética muy densa, con fibras primarias con poca inclusión, característica también observada en nuestros individuos. Además, las dimensiones de las fibras (FP 100, FS 42, LM 200-100) se ubican dentro del intervalo descrito en éste trabajo (FP 60-120, FS 20-60, LM 200 x 230). Dada la similitud de los ejemplares mexicanos con la descripción del holotipo, resulta difícil la separación de nuestros individuos en lo que respecta a su morfología. Sin embargo, la distancia geográfica que las separa sugiere que pueden tratarse de especies distintas.

Las especies *Hyattella* sp. 1, *Hyattella* sp. 2 y *Hyattella* sp. 3 presentan un ectosoma no armado, las fibras primarias son simples y poseen una compleja red de fibras secundarias que las ubican dentro del género. Sin embargo, al compararlas con los ejemplares reportados en la literatura, existen marcadas diferencias.

La especie más cercana es *H. hancocki*, Dickinson, 1945, encontrada en la Isla Isabel Nayarit, la cual se caracteriza por una forma de panal de abeja; con un esqueleto formado por una red de fibras primarias con mucho detritus y fibras secundarias largas. En las especies analizadas en este estudio, las fibras secundarias son de una longitud relativamente corta con respecto a las fibras primarias, que son más o menos continuas. *Hyattella* sp. 1 presenta además una especialización en el coanosoma periférico, donde las fibras primarias se vuelven coalescentes y la malla forma aperturas circulares grandes.

Otra especie cercana a los ejemplares del Pacífico mexicano es *Hyattella cavernosa* Pallas, 1876, descrita en el Caribe, la cual posee la forma y tamaño de puño. La especie posee un ectosoma que se caracteriza por la presencia de cónulos con forma alargada, y un color negro, difiriendo de las tres especies de *Hyatella* presentadas aquí, y que se caracterizan por la presencia de cónulos pequeños y agudos (*Hyatella* sp. 1), anchos redondeados de la punta (*Hyatella* sp. 2), y finos (*Hyatella* sp. 3), Además ninguno de los ejemplares presenta una coloración oscura.

Hyattella cribiformis (Hyatt (1877)) es otra especie cercana descrita en el Caribe; tiene un ectosoma muy característico que presenta “penachos” de fibras sobresalientes de cada cónulo. Ningún ejemplar aquí descrito presenta la misma característica.

Debido a las diferencias encontradas con respecto a otras especies reportadas anteriormente cercanas al área de estudio, las especies *Hyattella* sp. 1, *Hyattella* sp. 2 y *Hyattella* sp. 3 del Pacífico mexicano, se consideran nuevas especies (Tabla 5).

Tabla 5. Comparación entre *Hyattella* reportadas para el Pacífico y las especies del Pacífico mexicano. Las medidas de fibras primarias FP, fibras secundarias FS, fibras pseudoterciarias FT y luz de malla LM se expresan en micrómetros.

Especies del género <i>Hyattella</i> del Pacífico mexicano				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras y luz de malla	Distribución
<i>Hyattella intestinalis</i> (Lamarck 1814) aff.	Masiva incrustante, cojincillo, con proyecciones irregulares. Color pardo claro a amarillo.	Elástica, compresible, muy lacunosa	FP 60-120 FS 20-60 LM 200 hasta 700 FT	Sinaloa, Nayarit, Jalisco y Oaxaca
<i>Hyattella</i> sp. 1	Esponja masiva irregular. Color pardo claro a oscuro.	Compresible pero firme, resistente al desgarre	FP 50 – 100 FS 35-50 LM 175 hasta 400	Sinaloa y Nayarit
<i>Hyattella</i> sp. 2	Esponja masiva incrustante, o cojincillo	Compresible pero firme, resistente al desgarre.	FP 80-140 FS 50-70 FT 20-35 LM 300 hasta 400	Islas Revillagigedo y Sinaloa
<i>Hyattella</i> sp. 3	Esponja masiva con proyecciones digitiformes. Color beige muy claro.	Compresible, firme, resistente al desgarre.	FP 120-123 FS 70-100 FT 20-25 LM 332 hasta 400	Nayarit y Jalisco
Especies del género <i>Hyattella</i> reportadas para el Pacífico y Caribe				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras y luz de malla	Distribución
<i>Hyattella intestinalis</i> (Lamarck 1814)	Masiva incrustante con ramificaciones irregulares. Color pardo a gris	Consistencia esponjosa. Lacunosa	FP 100 FS 42 LM 200-100	Indopacífico
<i>Hyattella cavernosa</i> (Pallas 1766)	Del tamaño de un puño, interior color amarillo.	Consistencia dura		Caribe
<i>Hyattella cribiformis</i> (Hyatt 1877)	Ectosoma con cúmulos de fibras sobresaliendo de los cónulos.			Caribe
<i>Hyattella hanconki</i> (Dickinson, 1945)	Delgada, incrustante, muy carnosa, apariencia de panal de abeja.	Muy firme al tacto	FP 120–165 FS 70–175	Pacífico

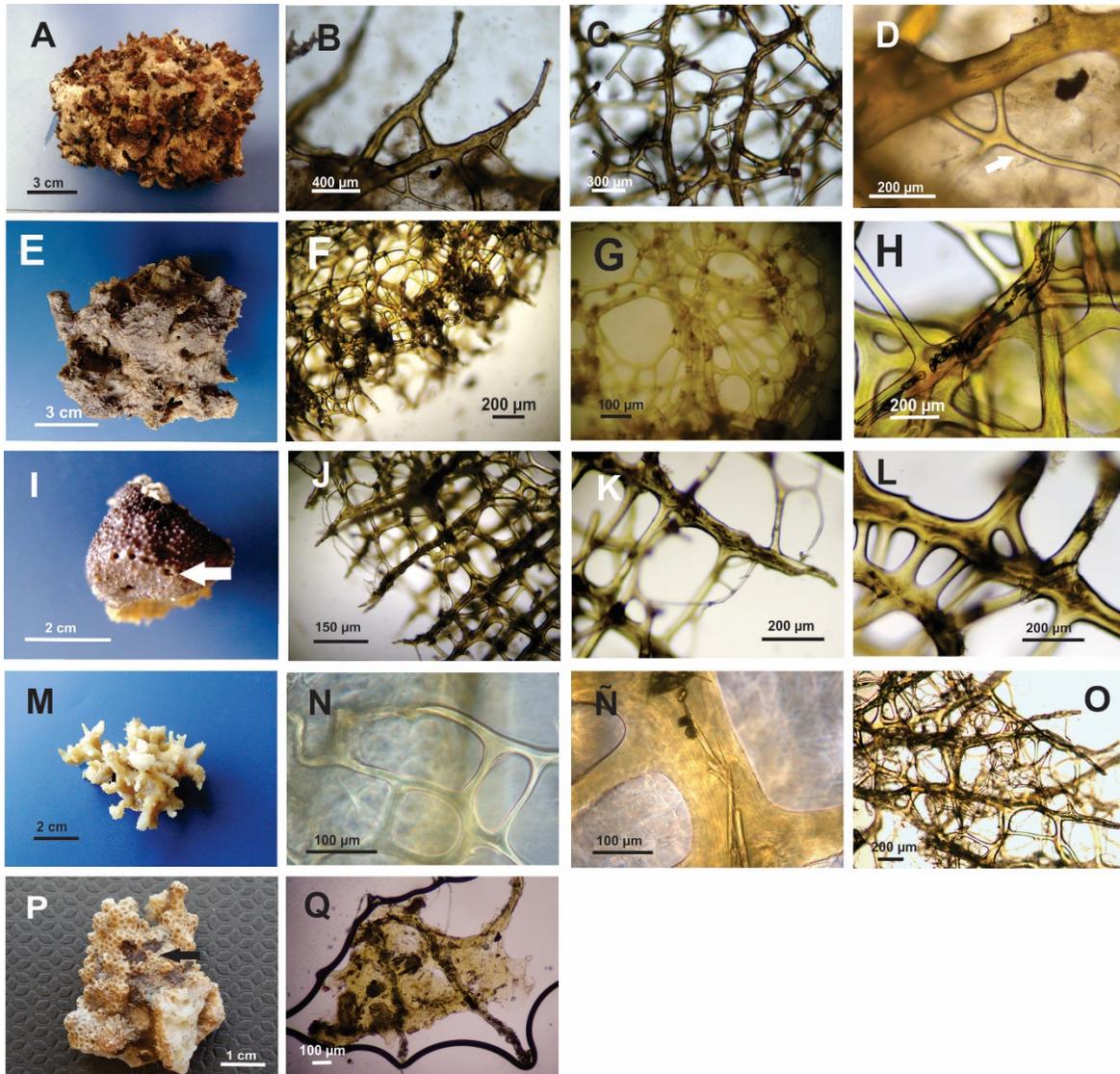


Lámina 3. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies del género *Hyattella* y el género *Hyrtios* presentes en el Pacífico mexicano:

Hyattella aff. *intestinalis*. A Vista macroscópica. B Corte cercano al ectosoma, se aprecian las fibras que desembocan en los cónulos. C Detalle de la disposición de las fibras primarias. D La flecha indica una fibra pseudoterciaria conectándose con una primaria. Fotografías de *Hyattella* sp. 1. E Vista macroscópica. F Disposición de las fibras cercanas al ectosoma, se observan las fibras que desembocan en los cónulos. G Malla en forma circular. H Detalle de fibras secundarias conectándose a una primaria, la cual se observa con inclusión de material foráneo. Fotografías de *Hyattella* sp. 2. I Vista macroscópica, la flecha indica la disposición lineal de los ósculos. J Corte cercano al ectosoma. K Fibras primarias con pseudoterciarias en la punta. L Fibras primarias rellenas con secundarias interconectándose. Fotografías de *Hyattella* sp. 3. M Vista macroscópica. N Reticulaciones complejas conformadas entre fibras pseudoterciarias. Ñ Aspecto de fibra primaria con secundarias en los lados, se puede observar la fina corteza que rodea a la fibra primaria. O Fibras primarias cercanas al ectosoma, se observan anastomosadas, entre ellas el esqueleto pseudoterciario abundante. P. Macrofotografía perteneciente a *Hyrtios* sp.1. La flecha indica el lugar donde se encuentra la esponja. Q. Trozo de fibras primarias y secundarias. Las fibras primarias y secundarias se encuentran rellenas de material foráneo

Familia Thorectidae Bergquist, 1978

Esponjas de forma incrustante, masiva o tubular. La superficie puede ser conulosa y armada con arena y escombros; o conulosa y no armada. El esqueleto coanosómico consiste en fibras reticuladas de espongina, usualmente con mallas de formas perfectamente regulares. Las fibras están laminadas en secciones transversales, con zonas claras de disyunción entre capas sucesivas y con una médula difusa en las fibras primarias y rellenas de material foráneo. El mesohilo es a menudo más colagenoso que en Spongiidae, y macroscópicamente parece más carnososo. Las cámaras de coanocitos son esféricas y diplodales (Bergquist, 1980).

Subfamilia Thorectinae Bergquist, 1978

Género *Hyrtios* Duchassaing & Michelotti, 1864

Esponjas de compresibles a muy firmes. Superficie conulosa con fibras primarias con terminaciones en los cónulos, fibras con inclusiones que le dan una apariencia blanquecina en comparación con la superficie oscura. Mesohilo colagenoso con escombros foráneos. Fibras primarias y secundarias con material exógeno, oscureciendo la apariencia clara de la fibra de colágeno. El esqueleto primario muestra fasciculaciones cerca de la superficie (Bergquist, 1980).

***Hyrtios* sp. 1**

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-2219, Isla Isabel, Nayarit. 21°50'58''N, 105°52'46''W, profundidad 20 m.

Descripción.

Esponja incrustante que crece sobre un fragmento de coral. Preservada es de color pardo oscuro (la coloración en vida no fue observada). Cubre dos pequeñas áreas de 1x 0.4 cm y 2 x 0.8 cm. La superficie es suave y lisa; no se observan cónulos, ósculos ni ostiolos. La consistencia es gelatinosa, fácil de desgarrar.

Esqueleto.

Formado por fibras de espongina primarias y secundarias (Lámina 3). Las fibras primarias no presentan médula y se encuentran completamente rellenas de material foráneo; miden alrededor de 125 μm de espesor. Las fibras secundarias se encuentran interconectando a las primarias en una disposición tipo escalera. Presentan material exógeno en su interior con espongina visible en ellas. Miden entre 12.5 y 50 μm de espesor.

Distribución y hábitat.

Hyrtios sp. se encontró sobre un sustrato coralino en la localidad de Cerro Pelón en Isla Isabel, Nayarit (Figura 13).

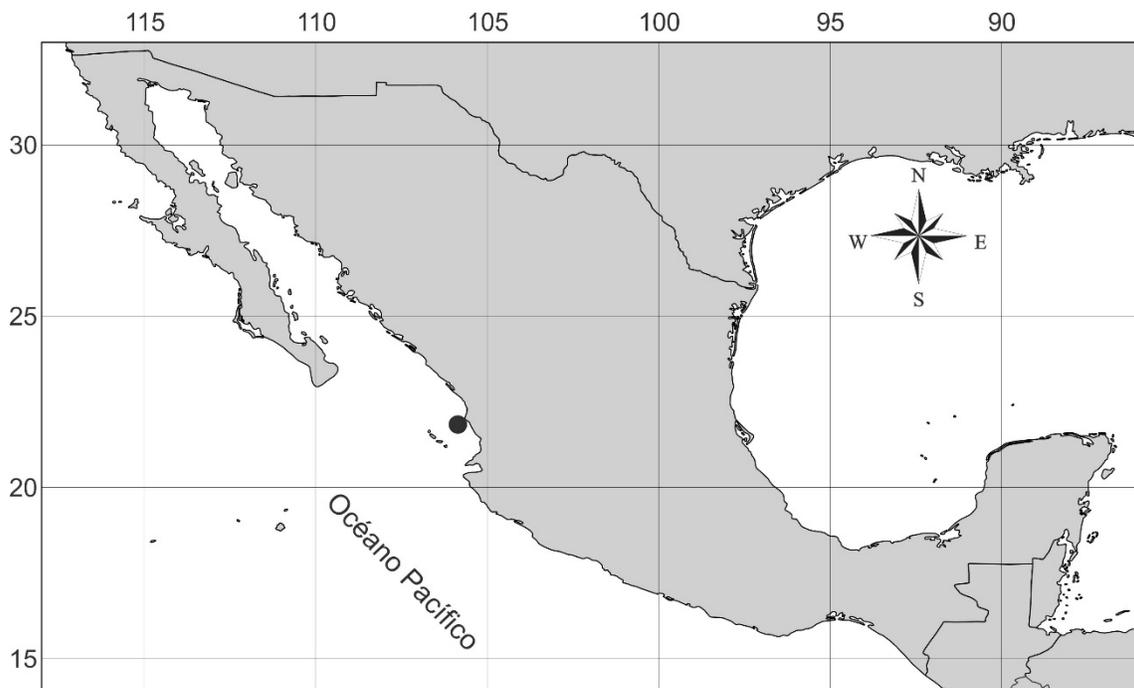


Figura 13. Distribución de *Hyrtios* sp. 1 en el Pacífico mexicano, el punto señala la localidad donde se encontró el ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos.

El presente es el primer registro del género *Hyrtios* en el Pacífico mexicano. Solamente se tienen registros anteriores para el Pacífico este en Chile *Hyrtios arenosus* (Thiele, 1905), *Hyrtios sororia* (Thiele, 1905), *Hyrtios vinciguerrae* (Sarà, 1978). La esponja permaneció en la colección “Esponjas del Pacífico Mexicano” como difícil de identificar, debido a su tamaño y poca evidencia de su disposición esquelética en las fibras.

Sin embargo, se obtuvo la secuencia de los marcadores COX y C2D2 y se pudo comprobar su cercanía con las esponjas registradas del género *Hyrtios* en la base de datos de Genbank. Utilizando la herramienta Blast con la secuencia obtenida del gen C2D2, la esponja mostró una similitud del 97% con la esponja *Hyrtios proteus*.

Orden Dendroceratida Minchin, 1900

Diagnosis.

Demospongiae con un esqueleto formado por fibras que se elevan desde placas basales separadas entre sí, en una disposición dendrítica o anastomosada. En la forma anastomosada, no hay una clara distinción entre el tamaño de las fibras primarias y secundarias. Las fibras siempre contienen una médula laminada muy gruesa. Algunos géneros incorporan elementos celulares en la corteza, y en menor grado en la médula. El esqueleto principal puede estar complementado por espículas córneas. Las cámaras de coanocitos son de tipo eurífilo. Las células del mesohilo a menudo incluyen células secretoras, aunque su presencia no ha sido verificada en todos los géneros. La matriz endosómica sólo está infiltrada débilmente por colágeno. Esto, junto con el tipo de esqueleto, hace que las esponjas sean suaves y frágiles. La médula y la corteza de las fibras son muy parecidas al orden Verongida. Es común encontrar pigmentos oscuros dentro de las fibras, los cuales contrastan con la pigmentación de la matriz. Bioquímicamente, los miembros de este grupo se caracterizan por un contenido moderado de esteroides, junto con dipertenos (Bergquist y Cook, 2002).

Familia Darwinellidae Merejkowsky, 1879

Diagnosis.

Dendroceratidas con un esqueleto de fibras dendríticas; en un género está complementado por espículas de espongina que se encuentran libres del esqueleto primario. Las especies son incrustantes, principalmente, pero pueden crecer masivas o erectas; en las cuales el esqueleto siempre se eleva desde placas basales adheridas al sustrato. Las fibras siempre tienen una corteza gruesa que rodea a la médula (Cook y Bergquist, 2002).

Género *Aplysilla* Schulze, 1878

Diagnosis.

Darwinellidae cuyo cuerpo es siempre incrustante y el esqueleto consiste de fibras siempre libres de inclusión y típicamente sin divisiones (Cook y Bergquist, 2002).

Aplysilla aff. *glacialis* (Merejkowsky, 1878)

Sinonimia.

Simpllicella glacialis Merejkowsky, 1878: 259.

Aplysilla glacialis Thiele, 1905:489; De Laubenfels, 1932: 125.

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-93, Bahía Tiburones, Isla Isabel, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 20/11/1999, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM-942, Isla Hermano Sur, Sinaloa, 23°11'16''N, 106° 25'11'' W, 24/10/2003, profundidad 8 m. LEB-ICML-UNAM-988, Isla Cardones, Sinaloa, 23°11'16''N, 26/11/2003, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-288, Isla Hermano Sur, Sinaloa, 23°11'16''N, 106° 25'11'' W, 24/10/2003, profundidad 8 m.

Descripción.

Esponja incrustante de 2 mm de grosor que se encuentra recubriendo áreas desde 0.5 x 1.5 mm hasta 3.1 x 1.2 mm. Su color, cuando está viva es rosa, preservada se torna amarillo pálido o beige muy claro. El ectosoma es una membrana traslúcida. En algunos ejemplares el coanosoma incluye granos de arena y espículas. La superficie es conulosa; cada cónulo se eleva de 0.05 a 1.8 mm desde la superficie hasta la punta, y se encuentran separados uno de otro por una distancia de 0.03 a 0.25 mm. En los ejemplares preservados no se observan ósculos ni ostiolas. La consistencia es suave, y gelatinosa, fácil de desgarrar (Lámina 4).

Esqueleto.

Conformado por fibras dendríticas de espongina simples de color claro, no presentan ramificaciones y están provistas de una placa basal de 100 a 300 µm de diámetro

con la que se adhieren al sustrato. Están dispuestas de forma ascendente, se caracterizan por una médula bien marcada y estriaciones a lo largo de la fibra. Dentro de la médula presenta estratificaciones convexas hacia la parte apical (Lámina 4). Las fibras son más gruesas cerca de la base, 175 μm de diámetro, adelgazándose hacia la punta 37.5 μm . Tienen una longitud de 500 hasta 700 μm .

Distribución y hábitat.

Aplysilla glacialis, fue descrita originalmente en Rusia (Merejkowsky, 1878), y se ha reportado también en los mares europeos (Van Soest, 2001), Belice, Caribe, Colombia, Panamá y Venezuela (Miloslavich *et al.*, 2010), golfo sudaustraliano (Hooper, 1994). En México, los ejemplares se recolectaron en Bahía Tiburones, Isla Isabel, Nayarit; Isla Cardones, Sinaloa; Isla Hermano Sur, Sinaloa (Figura 14). La especie vive sobre sustratos rocosos y ambientes coralinos.

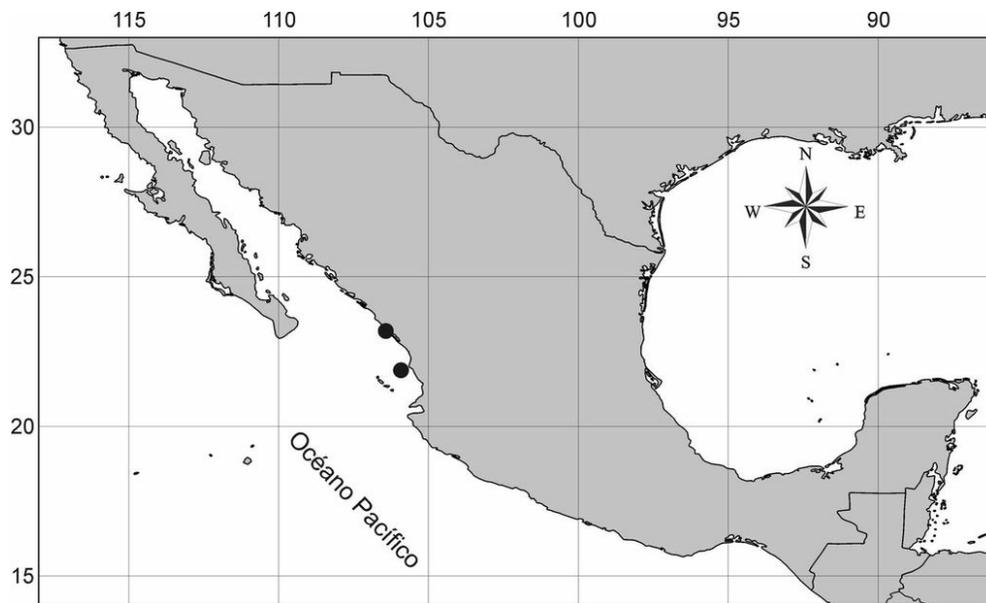


Figura 14. Distribución de *Aplysilla glacialis* en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Aplysilla aff. sulfurea Schulze, 1878

Sinonimia.

Aplysilla sulphurea Schulze, 1878.

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-531, Isla Lobos, Mazatlán, Sinaloa, 23°13'49'' N, 106°27'43'' W, 05/02/2002, profundidad 5 m. LEB-ICML-UNAM-644 Playa Los Muertos, Sayulita, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 09/10/2002, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM-930 Isla Hermano Sur, Sinaloa 23°11'16''N, 106° 25'11'' W, 24/10/2003, profundidad 8 m. LEB-ICML-UNAM-1298, Playa Los Muertos, Sayulita, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 19/02/2005, profundidad 1 m.

Descripción.

Esponja incrustante que se extiende sobre una superficie desde 1.4 x 1 mm hasta 2.1 mm x 1.4 con 1 mm de grosor. El ectosoma se observa firme pero es fácilmente desgarrable, cuando está viva es amarilla, preservada es púrpura. La superficie es conulosa; los cónulos miden de 200 a 700 µm de alto y están separados por espacios de 600 a 1300 µm. La mayoría de los cónulos presentan algunas fibras sobresalientes de 100 a 200 µm de longitud. No se observaron ósculos ni ostiolas. La textura es suave y blanda (Lámina 4).

Esqueleto.

Constituido por fibras de espongina dendríticas, que pueden ser simples o dividirse hacia la parte apical. Las fibras presentan una placa basal con la que se adhieren al sustrato, mide entre 280 y 375 µm de diámetro. Las fibras están libres de inclusiones y provistas de una médula con una estriación convexa hacia la zona terminal de la fibra, también presentan corteza. Miden de 650 a 2100 µm de longitud, y entre 20 y 30 µm de diámetro (Lámina 4).

Distribución y hábitat.

Aplysilla sulfurea, ha sido reportada en numerosas localidades de Europa como el mar de Azores y el Mediterráneo Norte, Islas Canarias, etc. (Topsent, 1904; Bergbauer *et al.*, 2001). En México, ésta especie se encuentra en los estados de Nayarit y Sinaloa (Figura 15), sobre sustratos duros y de 1 a 8 m de profundidad.

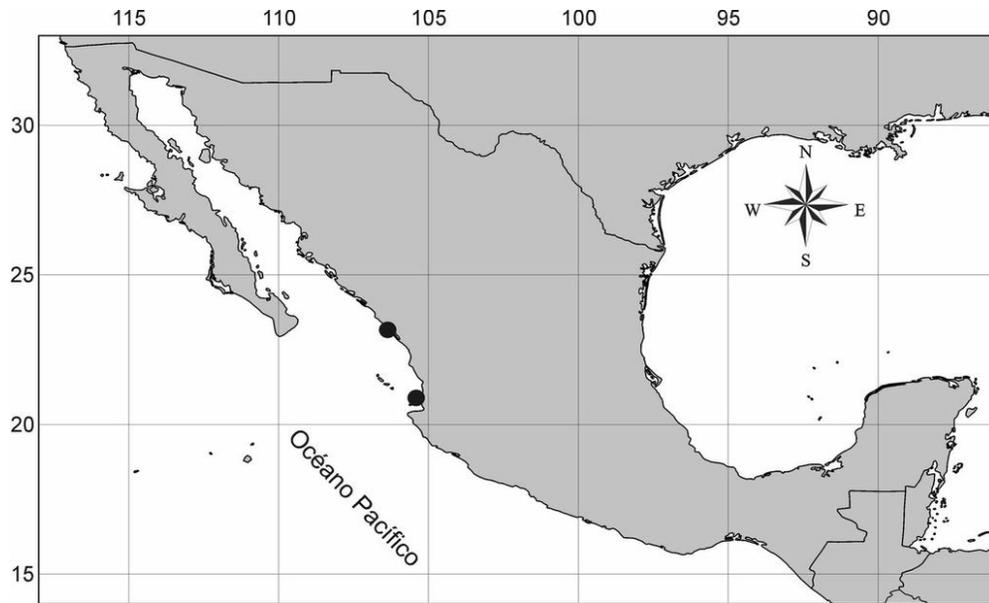


Figura 15. Distribución de *Aplysilla* aff. *sulfurea* en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos.

Aplysilla glaciallis, fue descrita originalmente en el Ártico (Merejkowsky, 1878), y se ha reportado también en los mares europeos (Van Soest, 2001). Los ejemplares mexicanos clasificados como *Aplysilla* aff. *glaciallis* muestran grandes semejanzas a la descripción original, la cual reporta una forma incrustante, color rosa vivo, de textura y consistencia carnosa y muy suave; siendo éstas características generales de los ejemplares mexicanos. El esqueleto en los ejemplares mexicanos consta de fibras dendríticas de esponjina, con médula y corteza, sin inclusiones; lo cual coincide con la descripción original. Sin embargo, las medidas de las fibras difieren, ya que en el original se reportan de 100 μm y la especie mexicana posee fibras de un diámetro ligeramente inferior de 35 a 75 μm .

Aplysilla sulfurea, ha sido reportada para numerosas localidades en Europa como el mar de Azores y el Mediterráneo Norte e Islas Canarias. (Topsent, 1904; Cruz, 2002; Humberg, 2001); por lo que se considera especie Atlántico-Europea.

Los ejemplares mexicanos clasificados como *Aplysilla* aff. *sulfurea*, se consideran afines debido a las semejanzas morfológicas presentadas con respecto a la descripción original donde se describe una esponja incrustante, de color amarillo brillante *in situ*, que se

torna púrpura después de la preservación. Ambas características coinciden con los ejemplares analizados en éste trabajo. Así mismo se describe al esqueleto conformado por fibras dendríticas, simples, cuyas medidas oscilan entre los 500 y 100 μm de longitud, los ejemplares del Pacífico mexicano presentan fibras más largas, que van desde las 650 a 2100 μm , con un diámetro que va de 20 a 30 μm (Tabla 6).

Debido a que las esponjas son organismos sésiles en su etapa adulta y presentan larvas con dispersión restringida y de rápido asentamiento (Vega *et al.*, 2012), la dispersión a largas distancias podría quedar descartada. Dada la distancia biogeográfica que separa a la especie original de las esponjas mexicanas.

Tabla 6. Comparación de las especies del género *Aplysilla* del Pacífico mexicano y algunas descritas para diferentes localidades. Diámetro D y longitud L de las fibras están expresados en micrómetros.

Especies del género <i>Aplysilla</i> del Pacífico mexicano				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Aplysilla</i> aff. <i>glaciallis</i> (Merejkowski, 1878)	Incrustante, color rosa <i>in situ</i> , y amarillo pálido preservada	Suave y gelatinosa	D 175-37.5 L 500-700	Nayarit y Sinaloa
<i>Aplysilla</i> aff. <i>sulfurea</i> Schulze, 1878	Incrustante	Suave	L 650 -2100 D 20-30	Nayarit y Sinaloa
Algunas especies del género <i>Aplysilla</i> descritas.				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Aplysilla lendelfi</i> Thiele 1905	Ectosoma como malla fina, con numerosos oscula	Tierna	D 100 L no más de 2000	Chile
<i>Aplysilla longispina</i> George & Wilson, 1919	Incrustante, color amarillo canario en vida, preservada azul índigo	Elástica y suave	D 100-15	Bermudas, costa este de EU
<i>Aplysilla sulfurea</i> Schulze 1878	Incrustante, color amarillo brillante in situ, morada preservada.	Suave carnosa	L 100-500	Mar Adriático y Mediterráneo norte.
<i>Aplysilla glacialis</i> (Merejkowski, 1878)	Incrustante, delgada, rosa viva	Carnosa, muy suave	D 100	Mares árticos

Género *Darwinella* Müller, 1865

Diagnosis.

Darwinellidae de esqueleto estrictamente dendrítico, que se encuentra complementado por espículas córneas las cuales pueden ser diactinas, triactinas o poliactinas. No hay inclusión de material foráneo en las fibras. Su cuerpo es incrustante o masiva de consistencia carnosa (Cook y Bergquist, 2002).

***Darwinella* aff. *rosacea* Hetchel, 1965**

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-327, Cerro Pelón, Isla Isabel, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 26/03/2000, profundidad 25 m. LEB-ICML-UNAM-1024, Cerro Pelón, Isla Isabel, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 26/03/2000, profundidad 25 m. LEB-ICML-UNAM-1732 Isla Lobos, Mazatlán, Sinaloa, 23°13'49'' N, 106°27'43'' W, 04/05/2005, profundidad 5m.

Descripción.

Esonja incrustante de 3.7 mm de grosor, que recubre áreas de 1.4 por 1.6 mm, hasta 3 mm por 1.6 mm. Su color, cuando está viva, es rosa, preservada se torna beige, de superficie conulosa; con cónulos agudos y pequeños que miden de 0.4 hasta 1 mm de alto; y de 0.8 mm hasta 1.8 mm de ancho; de los cuales sobresale una fibra de 0.04 hasta 0.2 mm. El ectosoma es una membrana traslúcida. No se observan ósculos ni ostiolos. Su consistencia es suave y fácil de desgarrar (Lámina 4).

Esqueleto.

Conformado por fibras dendríticas de espongina simples de color claro. Se encuentran provistas de una placa basal de 120 hasta 280 μ m diámetro con la que se adhieren al sustrato. Las fibras están dispuestas de forma ascendente, se caracterizan por una médula bien marcada y estriaciones a lo largo de la fibra, presenta estratificaciones convexas hacia la parte apical dentro de la médula y sin inclusión de material foráneo. son más gruesas de la base, 80 μ m, adelgazándose hacia la punta, 20 μ m. Tienen una longitud de 700 hasta 1800 μ m, y comúnmente se ramifican de dos a tres veces hacia el extremo superior (Lámina 4). El esqueleto está complementado por espículas córneas en su mayoría

triacinas, en algunos ejemplares se observaron actinas de hasta 5 rayos. Las espículas tienen extremos agudos, y se encuentran libres en el coanosoma, algunas lo atraviesan y se puede observar sus puntas a través del ectosoma. Las actinas miden de 300 μm hasta 700 μm desde el centro hasta la punta (Lámina 4).

Distribución y hábitat.

Darwinella rosacea fue originalmente descrita en las Antillas Mayores, se encuentra en el Mar Caribe, Jamaica, Cuba, Venezuela (Miloslavich *et al.*, 2001) y Belice (Rützler, 1986). En el Pacífico mexicano se encontró en las localidades de Nayarit y Sinaloa (Figura 16), sobre sustratos calcáreos y rocosos, a profundidades que van desde los 6 a los 25 m.

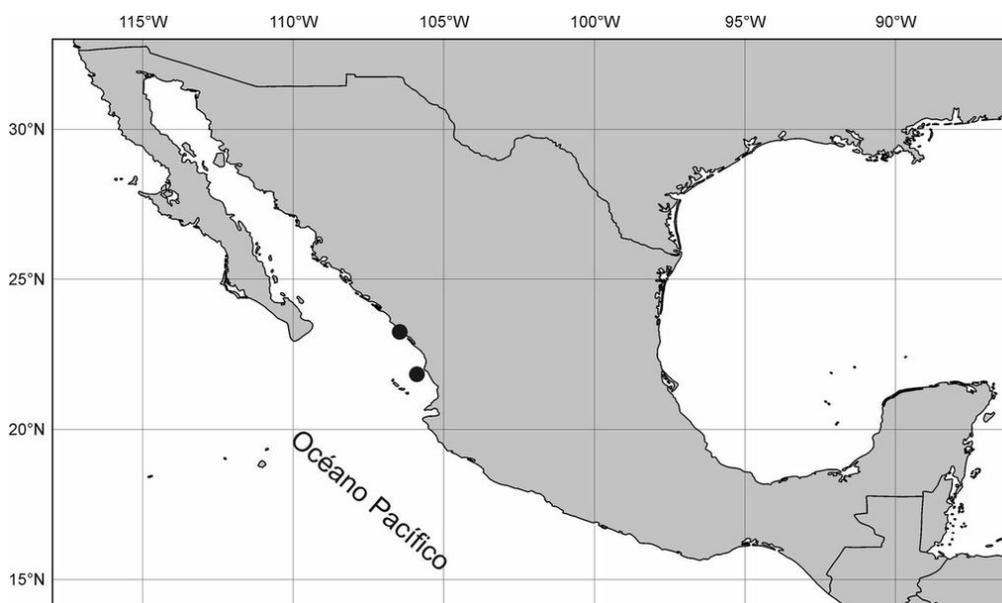


Figura 16. Distribución de *Darwinella* aff. *rosacea* en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos.

Hasta el momento solo se han descrito 13 especies del género *Darwinella* en el mundo. *Darwinella rosacea* (Hetchel, 1965), es una especie descrita originalmente en las Antillas Mayores. La especie mexicana concuerda con las características reportadas originalmente para *D. rosacea* ya que Hetchel la describe como una esponja incrustante, rosa en vida, que se vuelve beige después de preservada lo que coincide con los ejemplares mexicanos. Su esqueleto es dendrítico, con fibras de espongina sin inclusiones, con médula y corteza marcadas. Sin embargo, la descripción original reporta a *D. rosacea* con fibras

poco divididas, mientras que en la especie mexicana en algunas ocasiones se dividen repetidamente hasta tres veces. Las espículas de la especie del Caribe son triactinas, de rayos agudos que se encuentran libremente por el coanosoma; lo que concuerda con la especie mexicana. Sin embargo, en un ejemplar del Pacífico, se encontraron poliactinas de hasta 5 rayos. Las medidas de los rayos de las espículas en la especie Antillana difiere con las esponjas del Pacífico mexicano, ya que las de la descripción de Hetchel miden de 176 hasta 260 μm , mientras que las medidas de la especie mexicana son significativamente más largas, de 300 hasta 700 μm .

Debido a las características en común que tienen la especie del Pacífico mexicano y la del Caribe, se ha clasificado a los ejemplares mexicanos como *Darwinella* aff. *rosacea* (Tabla 7).

Tabla 7. Comparación entre *Darwinella* aff. *rosacea* del Pacífico mexicano y de algunas especies del género *Darwinella* del mundo. Las medidas de Longitud (L) se dan en micrómetros.

<i>Darwinella</i> aff. <i>rosacea</i> del Pacífico mexicano				
Especie	Forma y color	Consistencia	Esqueleto	Distribución
<i>Darwinella</i> aff. <i>rosacea</i> Hetchel, 1965	Incrustante; rosa en vida, beige preservada.	Suave	Fibras dendríticas ramificadas; triactinas o actinas de hasta 5 rayos, D 55.5-90	Nayarit y Sinaloa
Algunas especies del género <i>Darwinella</i> del Mundo				
Especie	Forma y color	Consistencia	Esqueleto	Distribución
<i>Darwinella australiensis</i> Carter, 1885	Lobulada masiva y enlongada. Viva, rojo anaranjado; preservada, gris oscuro.	Suave, elástica	Fibras muy reticuladas; Actinas, de 3 a 4 rayos.	Australia
<i>Darwinella gardineri</i> Topsent, 1905	Incrustante; Rosa, viva y preservada.	Elástica, suave	Fibras espongina, dendríticas; oxeotas, L 1400-2000	Maldivas y Nueva Zelanda
<i>Darwinella oxeata</i> Bergquist, 1961	Incrustante con ramas erectas; amarillo sulfuro.	Suave, carnosa	Fibras dendríticas, escasamente bifurcadas; diactinas.	Nueva Zelanda
<i>Darwinella simplex</i> Topsent, 1892	Rojo carmín		Fibras córneas dendríticas poco ramificadas; actinas, de 3 o 4 rayos, L 110-125	Mediterráneo, Francia
<i>Darwinella corneostellata</i> (Carter, 1872)	Masiva Rosa-violeta		Fibras córneas; actinas de 5-6 rayos; L 43.8	Mares europeos
<i>Darwinella rosacea</i> Hetchel, 1965	Incrustante; rosa in situ, beige preservada.	Suave	Fibras de espongina rara vez divididas; Triactinas, L 130-276	Mar Caribe

Género *Chelonaplysilla* De Laubenfels, 1948

Diagnosis.

Darwinellidae que tiene una corteza estructurada y separable, reforzada por un

retículo de granos de arena; suplementada por haces de colágeno. La estructura de las fibras es como las de *Aplysilla* pero en los ejemplares que crecen erectos, lamelares o ramosos, el esqueleto se vuelve ramificado (Cook y Bergquist, 2002).

***Chelonaplysilla* aff. *violacea* (Lendenfeld, 1883)**

Sinonimia.

Aplysilla violacea Lendelfeld, 1883.

Material examinado.

LEB-ICML-UNAM-98, Las Monas, Isla Isabel, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 21/11/1999, profundidad 20 m. LEB-ICML-UNAM-438, Isla Hermano Norte, Mazatlán, 23°14'29''N, 106°24'3'' W, 24/10/2003, profundidad, 8 m. LEB-ICML-UNAM-530, Isla El Morro, Bahía Banderas, Nayarit, 20°38'58''N, 105°22'5''W, 04/10/2002, profundidad 10 m. LEB-ICML-UNAM-569, Isla El Morro, Bahía Banderas, Nayarit, 20°38'58'' 105°22'5''W, 04/10/2002, profundidad 10 m. LEB-ICML-UNAM-801, Isla Redonda, Marietas, Nayarit, 20°43'0''N, 105°34'5''W, 10/06/2003, profundidad 12 m. LEB-ICML-UNAM-932, Isla Hermano Sur, Mazatlán, Sinaloa, 23°14'29''N, 106°24'3''W, 22/10/2003, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-951, Isla Hermano Norte, Mazatlán, 23°14'29''N, 106°24'3''W, 24/10/2003, profundidad, 8 m. LEB-ICML-UNAM-989, Isla Cardones, Mazatlán, Sinaloa, 23°18'33''N, 106°41'7''W, 26/11/2003, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-1006, Cerro Pelón, Isabel, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 10/12/2003, profundidad 21 m. LEB-ICML-UNAM-1045, Punta Bobo, Isla Isabel, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 12/09/2003, profundidad 12 m. LEB-ICML-UNAM-1058, Las Monas, Isla Isabel, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 12/10/2003, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-1159, Playa Iguanas, Isla Isabel, Nayarit, 21°52'30''N, 105°54'54''W, 02/08/2005, profundidad 6 m. LEB-ICML-UNAM-1191, El Arrocito, Puerto Ángel, Oaxaca, 16°07'76''N, 96°66'14''W, 04/11/2005, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM -1306, Cacaluta, Oaxaca, 15°72'56''N, 96°16'89''W, 04/04/2005, profundidad 4 m. LEB-ICML-UNAM-1657, Playa Blanca, Isla Socorro, 18°48''N, 110°59'0''W, 05/05/2008, profundidad 1 m. LEB-ICML-UNAM-1681, Punta Tosca, Isla Socorro, Islas Revillagigedo, 18°48''N, 110°59'0''W, 06/05/2008, profundidad 10 m.

LEB-ICML-UNAM-1691, 18°48'N'', 110°59'0''W, Playa Braulia, Isla Socorro, Islas Revillagigedo, 07/05/2008, profundidad 12 m. LEB-ICML-UNAM-1775, Playa Blanca, Isla Socorro, 18°48'N'', 110°59'0''W, 05/05/2008, profundidad 1 m., LEB-ICML-UNAM-1981, Punta Tosca, Isla Socorro, Islas Revillagigedo, 18°48'N'', 110°59'0''W, 06/05/2008, profundidad 10 m. LEB-ICML-UNAM-2000 18°48'N'', 110°59'0''W, Playa Braulia, Isla Socorro, Islas Revillagigedo, 07/05/2008, profundidad 12 m..

Descripción.

Esponja incrustante de 1.2 mm de grosor, que cubre superficies desde 0.8 mm x 0.9 mm, hasta 1.6 x 1.1 mm. Su color es púrpura y su textura conulosa. Los cónulos se elevan desde 60 μm , hasta 120 μm desde su base, con separaciones de 60 hasta 100 μm . En algunos ejemplares, algunas fibras sobresalen del cónulo desde 50 hasta 155 μm . Presenta con elevaciones o pliegues que le dan un aspecto laminado (Lámina 4). El ectosoma se observa reforzado con inclusiones de granos de arena y material foráneo de diversa índole, formando una reticulación tipo malla; debido a la preservación no se aprecian ósculos ni ostiolos. Es frágil y fácil de desgarrar.

Esqueleto.

Conformado por fibras de espongina, dendríticas, simples y bifurcadas hacia la parte apical. Las fibras muestran una médula bien definida, se encuentran estriadas a lo largo y con estratificaciones convexas hacia la punta. Tienen una placa basal con la que se adhieren al sustrato que puede medir de 12 hasta 70 μm de diámetro. Cada fibra tiene una longitud de 50 hasta 287 μm y de 15 a 25 μm de diámetro.

La superficie está cubierta por una malla rellena de granos de arena y pedazos de espículas (típica en el género) de donde solo sobresale la punta de la fibra. La apertura de malla puede ser de 20 x 25 μm hasta 27 x 32 μm (Lámina 4).

Distribución y hábitat.

Chelonaplysilla violacea ha sido registrada en los mares de Australia y Nueva Zelanda (Gordon, 2009). En el Pacífico mexicano, fue registrada en 2002 por Gómez *et al*, (1986). Los registros estudiados en este trabajo corresponden a los estados de Sinaloa, Nayarit, Colima y Oaxaca (Figura 17). Los cuales se encontraron sobre sustratos duros

como rocas, conchas de gasterópodos y corales pétreos, desde 1 hasta 20 m de profundidad.

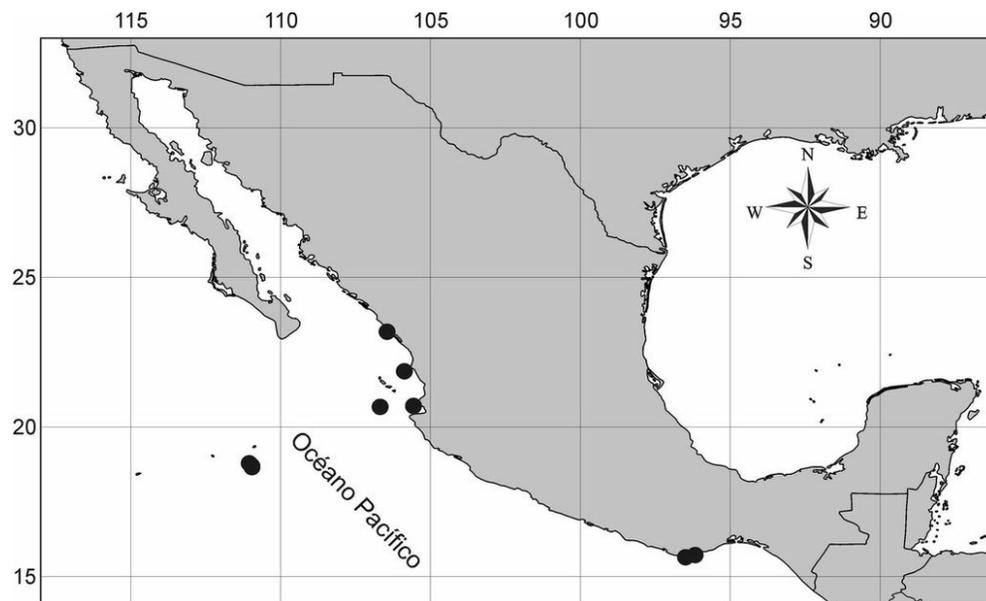


Figura 17. Distribución de *Chelonaplysilla* aff. *violacea* en el Pacífico mexicano, los puntos señalan las localidades donde se encontró al menos un ejemplar de esta especie.

Comentarios taxonómicos.

Los ejemplares del Pacífico mexicano son considerados afines a la especie *Chelonaplysilla violacea* (Lendelfeld, 1883), debido a que coinciden en las características descritas por Lendelfeld, las cuales son forma incrustante, color púrpura brillante y la reticulación ectosómica que atraviesa cada fibra del coanosoma; compuesta por granos de arena y pedazos de espículas. La característica que más difiere de la especie mexicana con respecto a la original, es en las medidas de las fibras; Lendelfeld reporta fibras dendríticas de 70 a 80 μm de diámetro, y una longitud de hasta 3 mm; mientras que las esponjas mexicanas tienen un diámetro de 37.5 a 175 μm , y una longitud menor de 500 a 700 μm (Tabla 8). Sin embargo, a pesar de presentar características similares no se puede asegurar que se trate de la especie descrita por Lendelfeld debido a la gran barrera biogeográfica que separa a los ejemplares mexicanos de los originalmente descritos. Es por esta razón que los ejemplares mexicanos son considerados como especie afín.

Tabla 8. Comparación entre las especies del género *Chelonaplysilla* del Pacífico mexicano y algunas descritas para diferentes localidades. Diámetro (D) y longitud (L) de las fibras están expresados en micrómetros.

<i>Chelonaplysilla</i> aff <i>violacea</i> del Pacífico mexicano				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Chelonaplysilla</i> aff <i>violacea</i> (Lendefeld, 1883)	Incrustante, color rosa in situ, y amarillo pálido preservada	Suave y gelatinosa	D 175-37.5 L 500-700	Nayarit, Sinaloa, Sonora y Oaxaca
Especies del género <i>Chelonaplysilla</i> del Caribe y Nueva Zelanda				
Especie	Forma y color	Consistencia	Medidas fibras	Distribución
<i>Chelonaplysilla violacea</i> (Lendefeld, 1883)	Incrustante, color violeta a púrpura brillante		L. 3000 D. 70-80	Australia y Nueva Zelanda
<i>Chelonaplysilla betinensis</i> Zea & van Soest, 1986	Incrustante, color verde gris	Carnosa, muy suave	L 1300 - 6000 D 90- 120	Colombia

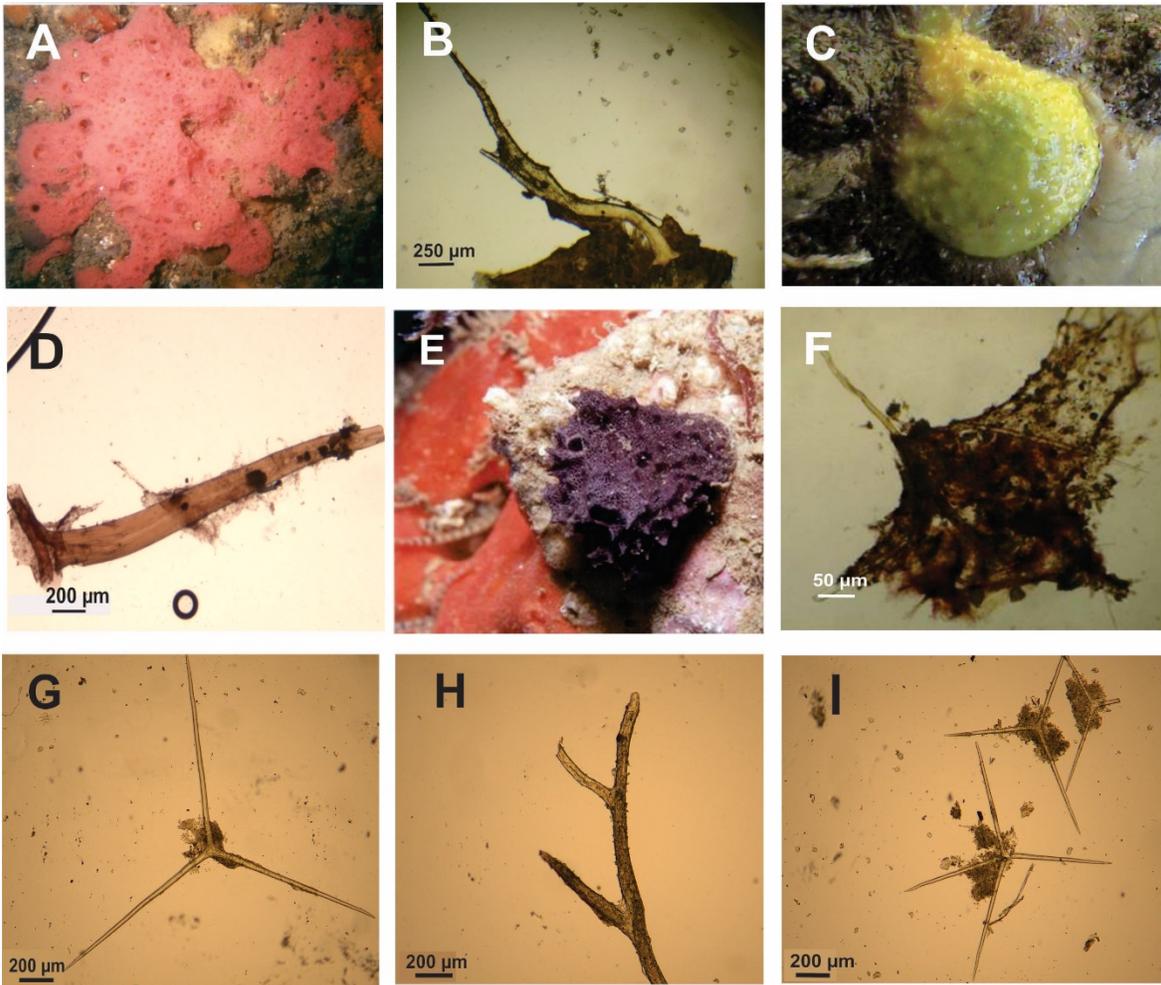


Lámina 4. Fotografías macroscópicas y microscópicas de las especies de los géneros *Aplysilla*, *Chellonaplysilla* y *Darwinella* presentes en el Pacífico mexicano:

A *Aplysilla* aff. *glaciallis* macrofotografía *in situ*. B fibra dendrítica, se aprecia una ramificación simple y el pedúnculo basal. C *Aplysilla sulfurea*, morfología externa *in situ*. D vista de una fibra simple con placa basal a la izquierda de la imagen. E *Chellonaplysilla* aff. *violacea* aspecto de la esponja *in situ*. F Fibra atravesando la malla de material foráneo en el ectosoma. G *Darwinella* aff. *rosacea*; triactina. H Fibra bifurcada, dividida tres veces en la parte apical. I poliactinas córneas de 4 y 3 rayos.

6.2. Resultados del análisis de ADN

6.2.1. Extracciones de ADN y Amplificación de los loci seleccionados.

Para el análisis de los marcadores moleculares se analizaron 92 ejemplares y se obtuvieron 43 muestras, de las que en su mayoría se obtuvo, al menos, una extracción de ADN exitosa. Sin embargo, la calidad y cantidad del ADN obtenido varió entre los individuos (Figura 18) siendo mejores el de los ejemplares de reciente recolecta. En los casos necesarios se realizaron y probaron distintas diluciones con la finalidad de llegar a una concentración adecuada para proceder con las amplificaciones. Esto debido a que es imposible separar y determinar la cantidad de ADN de la esponja con respecto a la de sus micro-simbiontes de cada extracción (véase discusión).

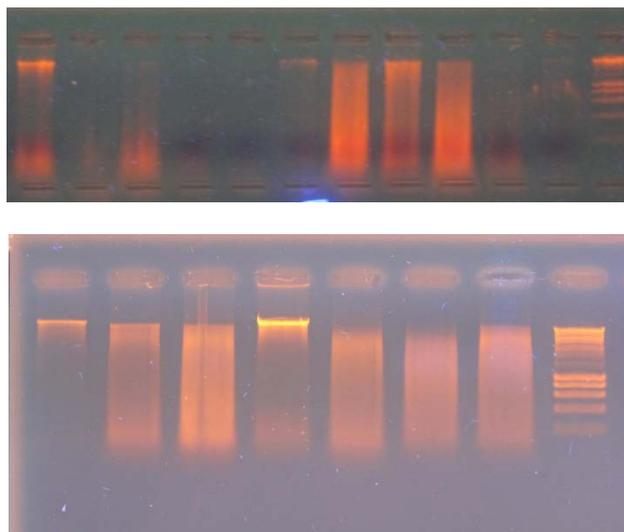


Figura 18. Geles de agarosa con diferentes extracciones. La figura muestra la variación en la cantidad y calidad del ADN obtenido.

Durante el desarrollo de este trabajo se llevó a cabo un importante número de experimentos de amplificación con la finalidad de obtener los loci considerados (COI ADNmt y D2-28S). Luego de superar diversos obstáculos relacionados con el perfil del termociclado y las concentraciones tanto de reactivos como del ADN template se logró amplificar al menos un loci para cada individuo representante de cada especie de las familias de estudio Ircinidae y Dysideidae (véase objetivos y Tabla 9), también uno para *Darwinella* aff. *rosacea* y *Hyattella* aff. *intestinallis* y ambos para *Hyrtios* sp. 1.

Para amplificar el fragmento 5' del gen COX1 inicialmente se utilizaron los cebadores universales para invertebrados diseñados por Folmer *et al.* (1994), los cuales han sido previamente utilizados en especies de esponjas córneas (Vargas *et al.*, 2012). Al no obtener resultados positivos se intentó con los cebadores degenerados (una mezcla de cebadores de composición básica similar, pero cuya secuencia nucleotídica varía en ciertas posiciones) de Folmer propuestos por Meyer *et al.* (2005) de los que se obtuvieron algunos resultados positivos. Con base en estos resultados y con secuencias de Genbank se diseñaron cebadores específicos para ambos grupos (IrciCox F y R; DysiCox F y R). Luego de estas modificaciones y los ajustes en los protocolos de amplificación se obtuvieron amplificaciones exitosas de distintas especies (Tabla 9).

Para el fragmento D2 del gen 28S, en general se obtuvieron buenas amplificaciones con los cebadores seleccionados (Tabla 10). No obstante, algunos individuos fueron de difícil amplificación por lo que se utilizaron otros juegos de cebadores y finalmente se hicieron algunas modificaciones a nivel nucleotídico de los cebadores propuestos.

Tabla 9. Especies de las cuales se realizó al menos una extracción de ADN. Se especifica el número de ejemplar, el protocolo de extracción y el marcador amplificado de cada una. Los símbolos (+) (-) y (~) significan positivo, negativo y regular, respectivamente.

ESPECIE	CÓDIGO	EXTRACCIÓN	COX	D2
<i>Ircinia</i> sp. 1	510	Ctab (+)	X	X
	1214	NaCl(-),LiCl(-),Ctab(+)	X	
	1520	Ctab(+)		
	1685	NaCl(+),LiCl(-)		
	2228	Ctab(+)		X
<i>Ircinia</i> sp. 2	1395	Ctab(+)		
	1450			
	2439		X	
<i>Ircinia</i> sp. 3	1908	LiCl(~)	X	
	1928	NaCl(+)		
	2153	Ctab (+)	X	X
<i>Hyattella</i> aff <i>intestinalis</i>	1992	NaCl(+)		
	3118	NaCl(-), LiCl(-)Ctab(+)		
	2213			X
	2216	Ctab(+)		X
<i>Hyattella</i> sp. 3	1978	NaCl(+), LiCl(-)		X
	2186	Ctab (+)		
<i>Hyrtilos</i> sp.	2219	NaCl(+)	X	X
<i>Dysidea</i> sp. 1	1922	LiCl(~), Ctab(+)		
<i>Dysidea cachui</i>	2135	Ctab (+)		
<i>Dysidea uriae</i>	2214			
	2215			X
	2220	Ctab(+)	X	X
	2366		X	
	2367		X	
<i>Dysidea reformensis</i>	2365			
	2366			
	2367			
	2368		X	
<i>Aplysilla glacialis</i>	2212	Ctab(+)		
	288	NaCl (+)		
	3119	LiCl(-) NaCl(+)		
<i>Aplysilla sulphurea</i>	3120	Ctab(+)		
	1298	LiCl(-), NaCl(-), Ctab(-)		
<i>Darwinella rosacea</i>	1732	NaCl (-)		
	3121	LiCl(~) NaCl (-), LiCl(-)		
	2217	NaCl (+), LiCl(-)		X
<i>Chelonaplysilla violacea</i>	3122			
	3123	LiCl(~), Ctab(+)		
	1981			
	3124	LiCl(-), Ctab(+)		
	1657	LiCl(-), Ctab(-)		
	1681	LiCl(-), Ctab(-)		

Tabla 10. Listado de cebadores y los perfiles de termociclado utilizados en estudio.

Gen/ cebadores	Fase	Temperatura	Tiempo	Ciclos
COX1 (Folmer <i>et al.</i>, 1994) LCO1490(GGTCAACAAATCA TAAAGATATTGG) HCO21908(TAAACTTCAGGG TGACCAAAAAATCA)	Desnaturalización Inicial	94°	3 min	1
	Desnaturalización	94°	60 seg	40
	Anillamiento	50°	60 seg	40
	Extensión	72°	60 seg	40
	Extensión final	72°	4 min	1
COX1 Degenerados (Meyer <i>et al.</i>, 2005) dgLCO1490 (GGTCAACAAATC ATAAAGAYATYGG) dgHCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAA ARAYCA)	Desnaturalización Inicial	94°	3 min	1
	Desnaturalización	94°	60 seg	40
	Anillamiento	50°	60 seg	40
	Extensión	72°	60 seg	40
	Extensión final	72°	4 min	1
COX1 Aplysina (Cruz-Barraza <i>et al.</i>, 2012) COX1_AplysinaF(TTGCTGGT ATGATAGGAACAGC) COX1_AplysinaR (TGATATAAAAATTGGGTCCC)	Desnaturalización Inicial	94°	4 min	1
	Desnaturalización	94°	30 seg	35
	Anillamiento	50°	30 seg	35
	Extensión	72°	1 min	35
	Extensión final	72°	4 min	1
C2 D2 (Chombard <i>et al.</i>, 1998) C2 (5'- GAAAAGAACTTTGRARAGA GAGT-3') D2 (5'- TCCGTGTTTCAAGACGGG - 3')	Desnaturalización Inicial	94°	5 min	1
	Desnaturalización	94°	60 seg	40
	Anillamiento	45°	60 seg	40
	Extensión	72°	1 min	40
	Extensión final	72°	5 min	1
Region nuclear 28S D2 (Whitting <i>et al.</i>, 1997) 5- (AAGGTGAAAAGTACTTTGA AAAGA-3) 5- (TCCGTGTTTCAAGACGGGT C-3)	Desnaturalización Inicial	94°	30 seg	1
	Desnaturalización	94°	30seg	30
	Anillamiento	52°	30 seg	30
	Extensión	72°	60 seg	30
	Extensión final	72°	60 seg	1

6.2.2. Análisis y edición de las secuencias.

Aunque a lo largo del trabajo fueron secuenciados varios productos de PCR (66 aproximadamente), el número de secuencias amplificadas positivamente fue bajo 31.81%, de los cuales el 13.66% fueron de D2, 18.18% para COX1. En general de todos los individuos se obtuvo alguna secuencia de buena calidad para al menos uno de los genes (COX1 y D2), lo que facilitó el proceso de edición. Los sitios con algunas ambigüedades se presentaron en los extremos de algunas secuencias por lo que fueron editados corregidos tomando como base la secuencia de mejor calidad.

Luego de la edición con el programa Codon Code Aligner, las secuencias fueron sometidas a una búsqueda con la herramienta Blast en la base de datos de GenBank disponible en la página de NCBI (The National Center for Biotechnology Information), con la finalidad de corroborar su origen. El resultado para ambos loci mostró una alta similitud (más del 90%) a especies afines (del mismo género) publicadas en esta base de datos.

6.2.3. Alineamiento y filogenia del Gen COX1.

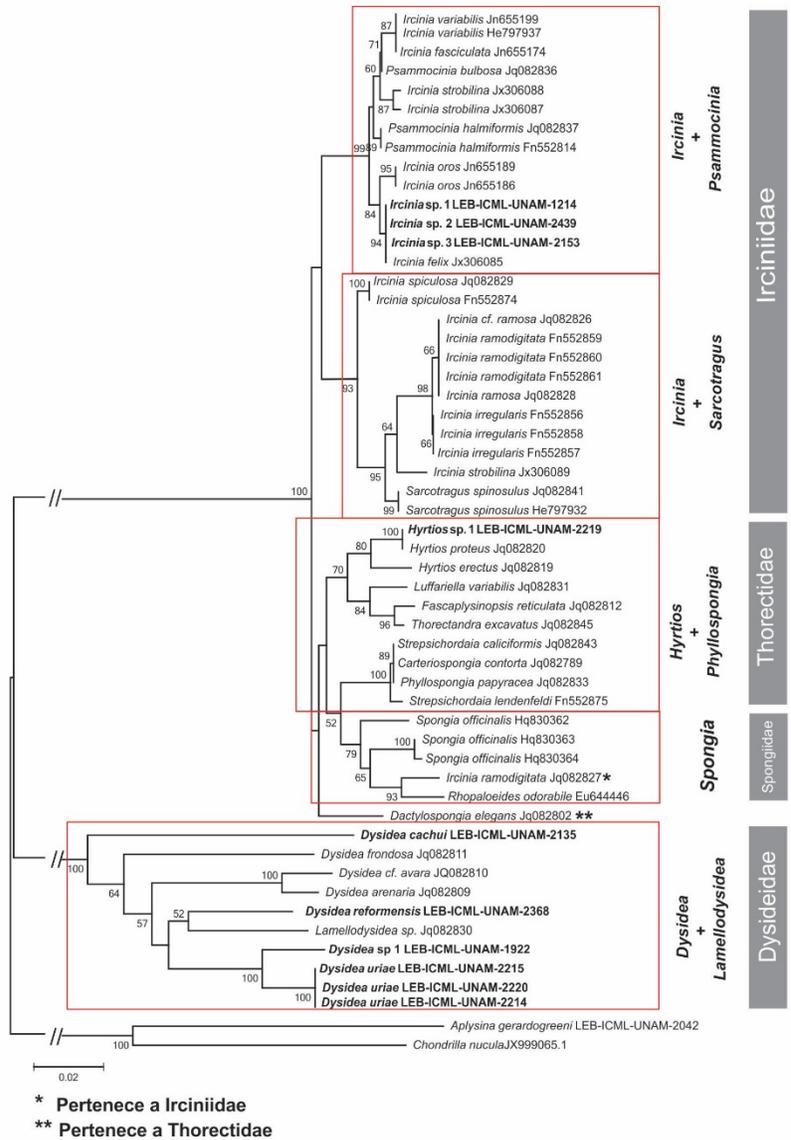
Para el alineamiento se utilizaron las secuencias obtenidas en este trabajo y secuencias de especies de esponjas córneas (grupo Keratosa) disponibles en GenBank. Además se incluyó una secuencia del *A. gerardogreeeni* como grupo externo (grupo Verongimorpha). No se detectaron inserciones o deleciones de nucleótidos. Debido al uso de diferentes juegos de cebadores, las secuencias mostraron distintas longitudes (pb) por lo que durante el alineamiento con las secuencias de genbank los extremos fueron truncados para alinear a la longitud común más corta. El resultado final contempló un total de 497 pb, de las cuales 271 fueron sitios conservados, 226 fueron sitios variables y 196 fueron sitios parsimoniosamente informativos. La topografía de la reconstrucción filogenética es presentada en un árbol neighbor joining (NJ). Los números en cada nodo representan los diferentes valores bootstrap que soportan cada grupo, los valores inferiores a 50 fueron eliminados del árbol (Figura 19).

El árbol de este locus muestra una clara distinción entre las Keratosa y las Verongimorpha (grupo externo) mostrando así que las especies de este trabajo se encuentran ubicadas en Keratosa. Este último grupo presenta dos subagrupaciones importantes correspondientes al orden Dictyoceratida (dada la ausencia de secuencias del

orden Dendroceratida), una formada por las familias Irciniidae, Thorectidae y Spongiidae, y otra a la familia Dysideidae. En el grupo correspondiente a la familia Irciniidae, el género *Ircinia* no fue resuelto como monofilético y especies de este género formaron parte de dos subgrupos uno de ellos compartido con el género *Sarcotragus* (*Ircinia* + *Sarcotragus*) y otro con el género *Psamocinia* (*Ircinia* + *Psamocinia*). En esta última agrupación es donde se incluyeron nuestras secuencias de *Ircinia*, mostrando una mayor cercanía genética con las especies *I. felix* e *I. oros* (Figura 19).

Las familias Thorectidae y Spongiidae fueron agrupadas como un clado hermano de Irciniidae. Dentro de la familia Thorectidae se incluyó uno de nuestros ejemplares, el cual originalmente no había sido determinado a nivel especie por sus caracteres morfológicos, pero su secuencia mostró una clara afinidad con especies del género *Hyrtios* (Figura 19).

En el grupo correspondiente a la familia Dysideidae se muestran distintas agrupaciones (con valores Bootstrap que van de 52 hasta 100) que incluyen especies de los géneros *Dysidea* y *Lamellodysidea*. La especie *D. cachui* se mostró como la más divergente dentro del clado mientras que *D. reformensis* mostro una mayor afinidad con una especie identificada como *Lamellodysidea* sp. formando un grupo hermano del grupo constituido por *Dysidea* sp. 1 y *Dysidea uriae*. Pese a la afinidad de estas dos últimas especies, estas mostraron una distancia genética significativa con valores altos de bootstrap (Figura 19).



Dictyoceratida

Figura 19. Árbol taxonómico correspondiente al fragmento mitocondrial COX 1. En negritas se indican las especies trabajadas del Pacífico mexicano que se encuentran en la colección LEB-ICML-UNAM.

6.2.4. Alineamiento y filogenia del fragmento D2-28S.

El alineamiento incluyó las secuencias resultado de este trabajo, así como secuencias del orden Dictyoceratida disponibles en GenBank y otra del orden Dendroceratida (grupo Keratosa) obtenida en el presente estudio. Además se incluyó una secuencia de *Aplysina archeri* y otra de *Chondrilla caribensis* como grupo externo (orden Verongimorpha). El alineamiento final contempló un total de 463 pb., de las cuales 113 fueron sitios conservados, 347 fueron sitios variables, 259 fueron sitios parsimoniosamente informativos. El árbol generado se construyó con el modelo Neighbor-Joining y los números en cada nodo representan los valores bootstrap (Figura 20).

El fragmento nuclear mostró una topología similar a la del fragmento mitocondrial en relación a los grupos Keratosa y Verongimorpha. Asimismo, las Keratosa quedan separadas en sus dos grandes órdenes (Dictyoceratida y Dendroceratida) (Figura 20).

También es evidente la división de dos grupos bien consolidados que incluyen las familias Ircinidae, Spongiidae y Thorectidae y otro correspondiente a la familia Dysideidae. El grupo de las *Ircinia*, solo contó con representantes de este género, donde las esponjas mexicanas (*Ircinia* sp. 1 e *Ircinia* sp. 2. *Ircinia* sp. 3) aparecen cercanamente relacionadas entre ellas, y más parecidas a la esponja caribeña *Ircinia campana* (Figura 20).

Al igual que en el locus COI, las familias Thorectidae y Spongiidae fueron agrupadas como un clado hermano de las Irciniidae. Las Thorectidae se dividen en dos subgrupos que conforman el género *Hyrtios* y la subfamilia Phylospongiinae. Particularmente la esponja mexicana identificada como *Hyrtios* sp.1 inicialmente en base a su código de barras de ADN (COI) fue corroborada con el locus C2 al ser incluida de nuevo en un subgrupo correspondiente al género *Hyrtios* (Figura 20).

La familia Dysideidae, forma un grupo bien consolidado con valor bootstrap de 87, sin embargo el género *Dysidea* no pudo ser reconstruido como monofilético. La esponja mexicana *Dysidea uriae* se encuentra más cercana a la esponja *Dysidea* sp.n. (Figura 20).

Por último se observa a la especie mexicana *Darwinella* aff. *rosacea* separada del orden de las Dictyoceratidas en lo que corresponde al orden Dendroceratida (grupo Darwinella) (Figura 20).

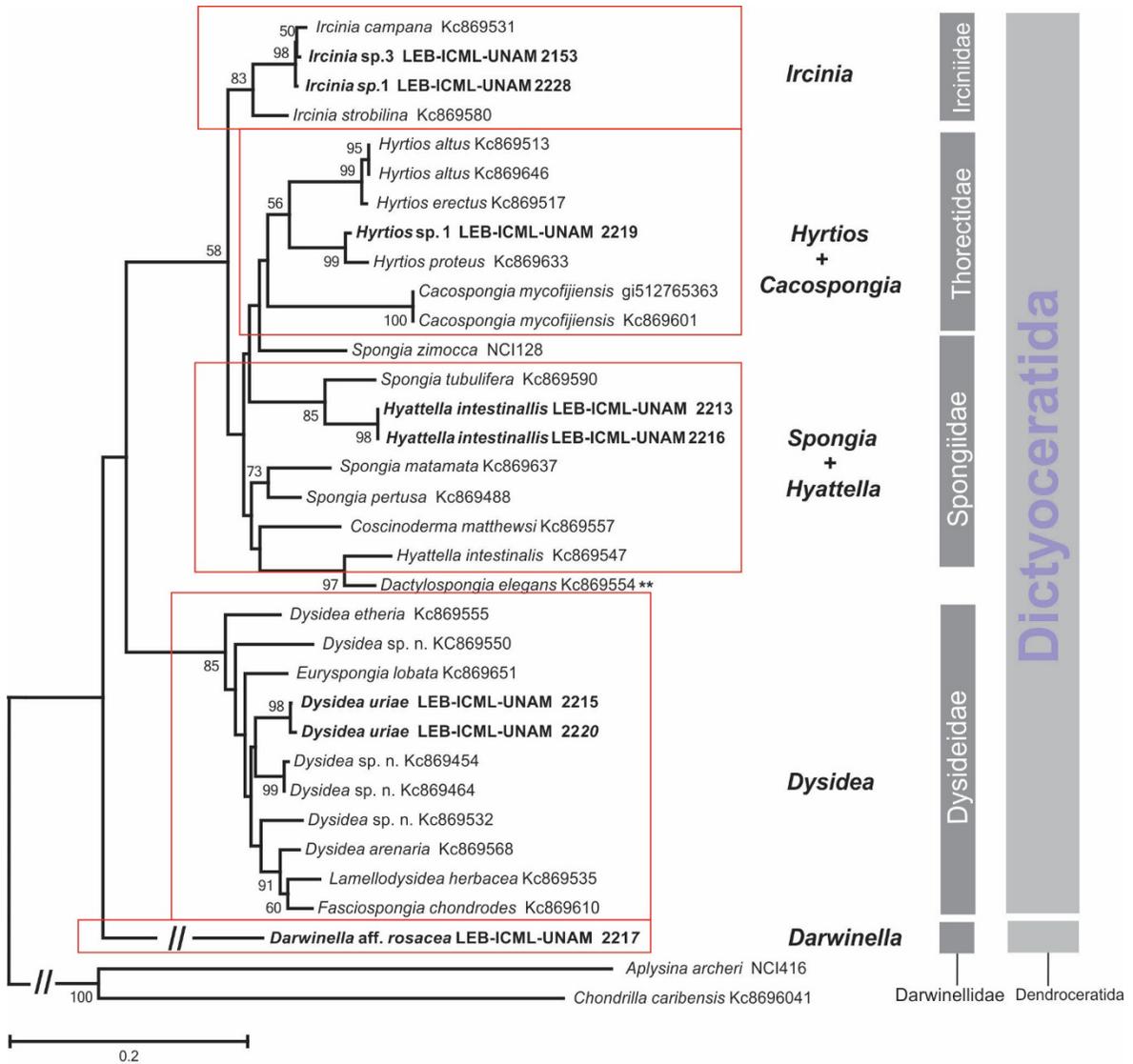


Figura 20. Árbol correspondiente al loci nuclear 28sD2. El nombre del grupo indica la familia que incluye: Irciniidae, Thorectidae, Spongiidae, Dysideidae y Darwinellidae. Las etiquetas del lado derecho color gris oscuro indican familias y gris claro indica el orden. Las especies mexicanas se encuentran representadas en negritas.

9. Discusión.

7.1. Diversidad y distribución de las esponjas córneas en el Pacífico este.

Con solo 13 especies reportadas, el Pacífico este, es una de las áreas geográficas donde el conocimiento de la fauna de esponjas córneas ha sido poco desarrollada (véase antecedentes). Con esta contribución, el número incrementa sustancialmente a 21 de las cuales ocho especies son potencialmente nuevas para la ciencia. Pese a que el número de especies aun es bajo si lo comparamos con la fauna de esponjas córneas de otras áreas geográficas como el Mediterráneo (58 spp.), el Indico (38 spp.), el área de Australia (34 spp.) o el Caribe (29 spp.) (Van Soest *et al.*, 2015), sin duda el avance es significativo.

La existencia de una baja diversidad de esponjas en general en la región del Pacífico este ha sido considerada por distintos autores y al respecto se han sugerido distintas aproximaciones. Por ejemplo, se ha discutido que el Pacífico mexicano tiene características particulares como altos niveles de energía, lo que podría tener un importante efecto en el anclaje al sustrato por parte de las esponjas, lo que influye considerablemente en su composición faunística y ecología. Probablemente el hecho de vivir en un ambiente hostil, con altos niveles de energía y perturbación, el crecimiento de esponjas se ve afectado de manera importante (Bell y Carballo, 2008). Por ejemplo, las esponjas de baño (género *Spongia*), no han sido reportadas en los mares del Pacífico mexicano. Por lo general las especies de este grupo son habitantes comunes de los mares Mediterráneo, Indo-Pacífico y Caribe, donde comúnmente viven en aguas claras y tranquilas por lo que probablemente los ambientes marinos el Pacífico este no proveen la estabilidad suficiente para su desarrollo.

Otra hipótesis sobre la baja diversidad de esponjas en el Pacífico este está relacionada con la depredación. Wulff (1997) estudió la depredación de esponjas por un género de pez (*Arothron*) del Pacífico este, el cual muestra una predilección por los poríferos en sus hábitos alimenticios. Al experimentar con esponjas del Caribe y el Pacífico se pudo demostrar una predilección de los peces por las esponjas del Pacífico, sugiriendo que estas no han podido desarrollar las mismas armas bioquímicas que las esponjas caribeñas.

Además de las hipótesis antes mencionadas, hay que tomar en cuenta que el Pacífico este hasta hace tiempo era considerado entre las áreas menos estudiadas en

relación a su fauna de esponjas (Van Soest, 2007). A pesar del gran avance de las últimas dos décadas, aún hace falta realizar esfuerzos para completar el censo faunístico de las esponjas en nuestras aguas, además de continuar con la exploración de áreas importantes para la diversidad que no han sido del todo exploradas. En lo que a esponjas córneas se refiere, el inventario faunístico del Pacífico mexicano ha sido recientemente actualizado principalmente con la descripción de nuevas especies (Carballo *et al.*, 2006) y nuevos registros de especies y géneros reportados en trabajos de tesis (Cruz-Barraza, 2008; Vega 2012). De la información obtenida de la literatura y los resultados del presente estudio, los grupos más numerosos fueron los géneros *Hyattella* y *Dysidea*, cada uno con cuatro especies, mientras que el segundo más numeroso fue *Ircinia*, con tres especies potencialmente nuevas para la ciencia. El resto de los registros, son en su mayoría nunca antes reportadas para el Pacífico mexicano a excepción de *Aplysilla sulfurea* y *Chelonaplysilla violacea*.

Es interesante mencionar que el número de especies potencialmente nuevas en este estudio representa más del 50% de las especies registradas anteriormente, lo que deja en evidencia la falta de estudios sobre la biodiversidad de las córneas en el Pacífico mexicano. Esto también es coherente con los resultados de estudios ecológicos que sugieren la baja capacidad de dispersión de las esponjas lo que provoca que sean muy susceptibles a los procesos de especiación. Pese a estas nuevas premisas, la presencia de especies de amplia distribución en Porifera, es un tema presente en nuestros días. En la literatura especializada antigua, es común encontrar especies registradas mundialmente a pesar de las grandes barreras biogeográficas que las separan. Sin embargo, estudios recientes a nivel molecular sugieren que es posible de que estas especies supuestamente cosmopolitas correspondan a especies distintas (Klautau *et al.*, 1999; Xavier *et al.*, 2010). La Taxonomía clásica por sí sola en muchos casos no puede determinar algunas diferencias entre especies. Ésta situación evidencia que muy probablemente la distribución mundial de algunas esponjas, incluso de otros invertebrados marinos, puede ser el resultado de una sistemática altamente conservadora (Klautau *et al.*, 1999). Para este estudio solo cinco especies presentaron una amplia distribución (más allá del Pacífico oriental; Figura 21), *Hyattella* aff. *intestinallis*, *Aplysilla* aff. *glaciallis*, *A.* aff. *sulfurea*, *Darwinella* aff. *rosacea* (anfiamericana) y *Chelonaplysilla* aff. *violaciaea* (anfipacífica). Las cuales considerando lo anteriormente

expuesto nosotros preferimos mantenerlas con un estatus de especies afines (aff.) mientras pueda surgir alguna diferencia (morfológica, ecológica genética etc.) que nos pueda ayudar definir las.



Figura 21. Mapa de las localidades tipo de las especies *Hyattella intestinalis*, *Darwinella rosacea*, *Chelonaplysilla violacea*, *Aplysilla glacialis* y *Aplysilla sulfúrea*.

7.2. Sistemática molecular de esponjas Córneas

Aunque la clase Keratosa fue establecida por Grant (1861) para incluir a las esponjas que poseían un esqueleto córneo, por mucho tiempo este nombre fue abandonado y sus representantes sufrieron distintas reestructuraciones sistemáticas (véase antecedentes). Sin embargo, Keratosa fue recientemente restituido con la categoría de subclase, quedando formada por los órdenes Dictyoceratida y Dendroceratida (véase Cárdenas y Morrow, 2015). Esto basado en estudios moleculares previos realizados para el grupo (véase Erpenbeck *et al.*, 2012). En nuestro análisis, las relaciones dentro Keratosa son congruentes con las hipótesis previas, tanto para el locus COI como para el 28S (Figura 19 y Figura 20). En ambos casos se presenta un grupo monofilético que contiene a los órdenes Dictyoceratida (Figura 19 y Figura 20) y Dendroceratida (Figura 20) como un clado hermano del subclase Verongimorpha (Erpenbeck *et al.*, 2012).

En el caso de las Dendroceratida existen muy pocas secuencias disponibles, sin embargo, a partir de datos no publicados (COI y 28S) se ha sugerido que existe un respaldo a la monofilia del grupo, pero no en relación a las dos familias tradicionalmente reconocidas (véase Wörheide *et al.*, 2012). Nuestros resultados en el 28S concuerdan con esta hipótesis al colocar a nuestra especie *Darwinella* aff. *rosacea* como un grupo hermano de las Dictyoceratida.

Para el orden Dictyoceratida, filogenias moleculares previas basadas en COI, 18 y 28S son consistentes en la monofilia del grupo (véase Wörheide *et al.*, 2012; Erpenbeck *et al.*, 2012; Thacker *et al.*, 2013) el cual, tradicionalmente se encuentra formado por cuatro familias Irciniidae, Spongiidae, Thorectidae y Dysideidae. Basados en los loci previamente mencionados, las Dysideidae forman un grupo hermano del resto de las familias (Figs.19 y 20). La familia Irciniidae se muestra como un grupo monofilético, mientras que su clado hermano muestra una combinación de especies correspondientes a las Thorectidae y Spongiidae (Wörheide *et al.*, 2012). La combinación de estas dos últimas familias ha sido atribuido en parte a la baja resolución de los marcadores empleados (Erpenbeck *et al.*, 2012). Sin embargo, también podría estar relacionada con la falta de secuencias de otras especies, o bien, a potenciales errores en la identificación taxonómica a nivel morfológico. Esto último debido a la dificultad en la interpretación de este tipo de caracteres. En ambos genes utilizados en este estudio son congruentes entre sí y con las hipótesis moleculares previas para el grupo, mostrando dos agrupaciones claras, con la familia Dysideidae como un clado hermano del resto de las Dictyoceratida, la monofilia de Irciniidae y la cercana relación que existe entre las Spongiidae y Thorectidae (Figura 19 y Figura 20).

7.2.1 Familia Dysideidae.

Las Dysideidae tradicionalmente incluyen cinco géneros válidos *Lamellodysidea*, *Euryspongia*, *Dysidea*, *Pleraplysilla*, *Citronia*, que están diferenciados por la organización y estructura del esqueleto (Cook y Bergquist, 2002). De estos géneros solo los tres primeros tienen alguna secuencia representante en Genbank y fueron incluidas en nuestro estudio. Análisis previos de esta familia basados en ADNr (ITS) muestran una clara diferencia entre los géneros *Dysidea* y *Lamellodysidea*. Sin embargo, estudios basados en 28S muestran la no monofilia de *Dysidea* al incluir además de *Lamellodysidea*, otros géneros como

Psamoclema (Poecilosclerida) y *Fasciospongia* (Thorectidae) (Thacker *et al.*, 2013). De nuestro análisis COI solo están representados los géneros *Dysidea* y *Lamellodysidea*, esta última se encuentra estrechamente relacionada con *Dysidea reformensis*. En el análisis 28S *Dysidea* tampoco pudo ser reconstruido como monofilético, al englobar especies de los géneros *Lamellodysidea*, *Eurispongia* además de una especie de la familia Thorectidae (fig. 38). Las relaciones entre algunas Thorectidae y Dysideidae han sido evidenciadas en distintos análisis (incluyendo el nuestro) por lo que algunos autores han sugerido que algunas especies de Thorectidae deberían ser reasignadas a Dysideidae (Erpenbeck *et al.*, 2012; Redmond *et al.*, 2013; Thacker *et al.*, 2013).

7.2.2 Familia Irciniidae.

La familia Irciniidae es caracterizada por la presencia de filamentos de colágeno lo que es único entre los Porifera (Van Soest *et al.*, 2012). Hasta ahora la mayoría de las filogenias publicadas sugieren la monofilia de esta familia (Wörheide *et al.*, 2012; Erpenbeck *et al.*, 2012; Hill *et al.*, 2013; Thacker *et al.*, 2013). Sin embargo, las relaciones internas del grupo no han sido del todo esclarecidas. Recientemente Pöpper *et al.* (2010) analizaron las relaciones entre las Irciniidae basados en ejemplares recolectados en la costa Australiana. Sus resultados mostraron una clara diferenciación entre los géneros *Ircinia* y *Psammocinia*, que difieren morfológicamente por la presencia de una corteza gruesa en el ectodermo de *Psammocinia* y que está ausente en *Ircinia*. Sin embargo, la baja variabilidad del fragmento COI no permitió la discriminación entre algunas de las especies de cada género. En nuestro análisis, al incluir especies de *Ircinia* y *Sarcotragus* del Caribe, estos géneros no fueron reconstruidos como monofiléticos, mostrando dos clados principales representados por *Ircinia* + *Psammocinia* e *Ircinia* + *Sarcotragus*. Aunque en el primer grupo las especies no mostraron una clara separación entre géneros, en el segundo grupo *Sarcotragus* mostró cierta diferenciación en relación al resto de las *Ircinia*, sugiriendo que si bien COI no funciona como un marcador para discriminar entre especies puede ayudar a diferenciar entre los géneros de esta familia, considerando que la distinción morfológica es muy ambigua y difícil de establecer.

7.2.3 Thorectidae + Spongiidae.

La familia Thorectidae y Spongiidae difieren entre ellas por la presencia de fibras laminadas y fibras homogéneas con predominancia de fibras secundarias, respectivamente. (Cook, 2007). Sin embargo, en la mayoría de las filogenias moleculares publicadas (18S, 28S, COI) por lo general las especies se encuentran entremezcladas, aunque en algunos casos parece haber ciertas agrupaciones congruentes (Erpenbeck *et al.*, 2012; Redmond *et al.*, 2013; Thacker *et al.*, 2013). Esta situación también fue evidente en nuestros resultados, en particular COI muestra que en el clado que representa estas familias, se puede observar un subclado que corresponde a las Thorectidae, subfamilia Thorectinidae, como un grupo hermano del subclado compuesto por una agrupación de Thorectidae, subfamilia Phyllosponginiae y otra que corresponde a la familia Spongiidae (Figura 19). Este resultado pone de manifiesto la hipótesis de que los caracteres morfológicos utilizados al menos a nivel de familia (o subfamilia) son adecuados para diferenciar las especies dentro de ellas. Sin embargo, es necesario reevaluar las hipótesis filogenéticas tradicionales y considerar la no monofilia de Thorectidae. Por su parte el análisis del 28S mostró un resultado similar separando a las Thorectidae de las Spongiidae con la excepción de *Dactilospongia elegans* una Thorectidae cercanamente relacionada con *Hyatella intestinalis* (Figura 20). Es probable que la mezcla entre especies distintas se deba a la problemática que se genera en la identificación morfológica, pero también a la falta de secuencias representantes de otros géneros y especies, los cuales al ser considerados podrían reflejar una topología más cercana a las hipótesis tradicionales basadas en morfología.

7.3 Taxonomía molecular e integrativa.

Como se ha mencionado previamente, uno de los principales problemas en el estudio taxonómico de las esponjas córneas es la falta de un esqueleto mineral (espículas), el cual provee de diversidad morfológica y que permite establecer una clasificación en los Porifera. En el caso de esponjas córneas, la diversidad morfológica de las fibras es muy simple y en muchos casos ambigua, lo que dificulta su clasificación y el entendimiento de sus relaciones evolutivas (Erpenbeck, 2012). Durante los últimos años el uso de marcadores moleculares ha facilitado el estudio taxonómico de muchas especies, utilizando las variaciones a nivel nucleotídico, para la interpretación de las especies (Hebert *et al.*, 2003).

En el caso de las esponjas córneas, los marcadores moleculares han contribuido significativamente al conocimiento de las relaciones evolutivas de los niveles taxonómicos más altos (véase capítulo anterior). Sin embargo, hasta ahora no se han podido establecer marcadores específicos para la discriminación entre las especies (Erpenbeck *et al.*, 2012).

Específicamente el gen COI (marcador estándar en la campaña de código de barras), aunque muestra resolución al separar niveles taxonómicos altos, no han dado suficiente resolución para discriminar entre especies previamente establecidas con base en su morfología (ej. Pöppe *et al.*, 2010; Cruz-Barraza *et al.*, 2012). En el caso de las especies mexicanas encontramos situaciones similares, en donde los marcadores moleculares presentaron bajos niveles de variación (o nulo) entre las especies, incluso aunque los ejemplares reúnan los atributos morfológicos suficientes para separar entre especies. En el caso de las esponjas del género *Ircinia* el locus mitocondrial agrupó a nuestros ejemplares con la especie *Ircinia felix* de las Bahamas (Caribe) (Figura 19). Un análisis más minucioso a nivel nucleotídico de las secuencias de las especies mexicanas evidencia la existencia de un solo sitio polimórfico que se muestra diagnóstico para la especie *Ircinia* sp. 2 (LEB-ICML-UNAM-2439), en contra de las otras dos especies. La presencia de un solo sitio polimórfico en el gen COI, ha sido considerado en la literatura; y como en nuestro caso, se ha encontrado que es congruente y apoya a las diferencias morfológicas encontradas. Tal es el caso de las especies de *Apylisna* del Mediterráneo *A. cavernicola* y *A. aerophoba* (Heim *et al.*, 2006) y del Pacífico *A. revillagigedi* vs. *A. clathrata* y *A. gerardogreeni* (Cruz-Barraza, 2012). Además de otras especies de esponjas como *Pachymatisma johnstonia* y *P. normani* (Cárdenas *et al.*, 2007). Sin embargo, mientras en algunos casos como los mencionados anteriormente la tasa de variación es baja o nula, en otros grupos es suficiente para discriminar entre especies. Tal es el caso específico de la familia Dysideidae, donde el marcador COI mostró suficiente resolución en la separación de las especies (Figura 19). Incluso en algunos grupos ha sido posible encontrar variación intraespecífica (Duran *et al.*, 2004; Duran y Rützler, 2006; Blanquer y Uriz, 2008; León-Pech *et al.*, 2015). En todo caso, el gen COI es un importante aliado para estudiar las relaciones filogenéticas de los taxa de esponjas y un método eficiente para discriminar al menos a nivel de género (Erpenbeck *et al.*, 2012; Cruz-Barraza *et al.*, 2012).

La falta de resolución en el fragmento estándar (gen COI) ha promovido la implantación de marcadores alternativos (ej. los ITS's o fragmentos del 18 y 28S) con la finalidad de contar con una mayor nitidez a la par de que se comparan las historias evolutivas de otros genes (ver Borchiellini *et al.*, 2004; Lavrov *et al.*, 2008). Este estudio se propuso en parte con el objetivo de analizar la variabilidad de un fragmento (D2) del gen 28S, del cual existía poca información sobre su variabilidad en el caso de las esponjas córneas, pero que ha mostrado cierta resolución al discriminar entre otros grupos de esponjas (Erpenbeck *et al.*, 2012; Berlinsky *et al.*, 2012). Más recientemente Thacker *et al.* (2013) presentaron una revisión de Porifera basada en 28S (gen completo) lo que permitió la disponibilidad de secuencias para este estudio. En general el fragmento D2 mostró cierta resolución donde el gen COI falló, por ejemplo, el caso del género *Ircinia*, COI presentó un sitio variable para una de las especies, mientras que D2 mostró 4 sitios polimórficos y que son diagnósticos entre las especies *Ircinia* sp. 1 e *Ircinia* sp. 3 (Tabla 11).

Tabla 11. Nucleótidos diagnósticos en fragmento D2, para dos de las especies mexicanas de *Ircinia* comparadas con la especie caribeña *Ircinia campana*. Los sitios variables se han sombreado en gris en las esponjas del Pacífico mexicano.

ESPECIES MEXICANAS	rDNA (D2)						
	77	208	252	293	309	382	398
<i>Ircinia</i> sp. 1	C	C	T	T	A	C	C
<i>Ircinia</i> sp. 3	C	C	T	G	T	T	T
<i>Ircinia campana</i>	A	T	C	T	A	T	T

Si bien los marcadores moleculares no siempre pueden dar suficiente resolución, en la mayoría de los casos pueden facilitar la identificación al menos a nivel de género. Esto es de gran ayuda cuando la morfología no es completa o que los caracteres no provean suficiente evidencia para hacer una correcta determinación a un nivel supra-específico. Tal fue el caso de la esponja mexicana *Hyrtios* sp. que tuvo problemas en su identificación debido al tamaño del ejemplar, ya que no aportaba suficientes caracteres que pudiesen ser estudiados para su correcta clasificación. Sin embargo, ambos marcadores COX y D2 fueron exitosamente amplificados y secuenciados, pudiendo así determinar su identidad. La esponja tiene una similitud del 99% con *Hyrtios proteus* con el gen COX y un 97% con el gen D2, luego del resultado obtenido a nivel molecular, el estudio morfológico del ejemplar fue mucho mas sencillo. En este sentido, el uso de códigos de barra o marcadores

moleculares presenta grandes ventajas para estudios de biología aplicada (ecológico, biogeográficos, biotecnológicos etc.) ya que facilita una identificación simple (al menos a nivel de género) a personas no expertas dando una mayor certeza de las especies involucradas en sus investigaciones (Ávila *et al.*, 2014).

Si bien, anteriormente se ha tratado sobre la poca variación que existe entre especies afines (complejos de especies crípticas), otro reto es trabajar con especies que presentan una alta plasticidad fenotípica intraespecífica. Por lo que aunado al problema de su clasificación, establecer características diagnosticas en estas especies representa un obstáculo más en las hipótesis taxonómicas (Xavier *et al.*, 2010). Un ejemplo de esta situación es la especie *Hyattella intestinalis* registrada originalmente en el Océano Índico, pero posteriormente registrada alrededor del mundo. La especie fue descrita con una amplia variación en sus características morfológicas lo que ha provocado que muchos fenotipos alrededor del mundo concuerden en alguna de sus variantes morfológicas y que sean registrados bajo el nombre de esta especie. La problemática se presenta al haber sido descrita con una amplia variedad de caracteres fenotípicos, debido a su alta plasticidad. Esto conlleva a que cualquier esponja con características similares entre en los intervalos predeterminados de clasificación y sea erróneamente identificada como ocurrió con esta especie.

De la base de datos GenBank existe una secuencia (28S ADNr) de un ejemplar identificado como *H. intestinalis*, el cual en nuestro análisis se mostró distante de la secuencia de nuestro espécimen (Figura 19). Si bien, nosotros podemos tener certeza de las características morfológicas que nos llevaron a definir a esta especie, lamentablemente no existe una descripción morfológica en la literatura del ejemplar cuya secuencia fue asignada a esta especie. Esta situación es un problema frecuente en el estudio sistemático a nivel molecular de las esponjas, debido a que muchas de las secuencias disponibles (GenBank) pueden haber sido erróneamente identificadas dando como resultado hipótesis taxonómicas y filogenéticas equivocadas (véase Erpenbeck *et al.*, 2015). Debido a esto, se ha resaltado la importancia de contar con una descripción morfológica de especies secuenciadas, con la finalidad de poder hacer comparaciones completas con ambos tipos de caracteres para lograr una sistemática más integrativa (Ávila *et al.*, 2014; Cruz- Barraza *et al.*, 2014).

10. Conclusiones.

1. Después del análisis morfológico de marcadores moleculares, y de la literatura especializada en esponjas, fue posible identificar 15 especies de la subclase Keratosa, que contempla a sus dos órdenes Dictyoceratida y Dendroceratida. El primer orden está representado por cuatro familias: Dysideidae con cuatro especies del género *Dysidea*; Irciinae con tres especies del género *Ircinia*; Spongiidae con cuatro especies del género *Hyattella*; y Thorectidae con una especie del género *Hyrtios*. El segundo orden está representado por la familia Darwinellidae con cuatro especies de los géneros *Aplysilla* (2 spp.), *Chelonaplysilla* (1 sp.) y *Darwinella* (1 sp.).

2. Luego del análisis taxonómico se llegó a la conclusión de que ocho de las especies registradas en este trabajo son potencialmente nuevas para la ciencia: una del género *Dysidea*, tres del género *Ircinia*, tres del género *Hyattella* y una del género *Hyrtios*.

3. Considerando la distribución de las especies registradas previamente en la literatura; de nuestro estudio tres especies tienen una distribución hasta ahora restringida en aguas del Pacífico mexicano (*Dysidea cachui*, *D. Ureae* y *D. reformensis*), una posee distribución anfiamericana (*Darwinella* aff. *rocacea*), y una más es de origen anfipacífico (*Chelonaplysilla* aff. *violacea*). Finalmente, tres especies son consideradas de amplia distribución al haber sido registradas en distintas partes del mundo (*Aplysilla* aff. *sulfurea* A. aff. *glacialis* y *Hyattella intestinalis*).

4. Este trabajo, al igual que otros en la literatura donde se implementa el uso de marcadores moleculares para la identificación de especies (taxonomía molecular), concluimos que esta es de gran utilidad en grupos que presentan una taxonomía compleja como las esponjas y que contar con la posibilidad de hacer una pre identificación a nivel molecular facilita en gran medida la interpretación morfológica, como fue en este trabajo el caso del género *Hyrtios*.

5. A nivel sistemático molecular, los resultados son congruentes con hipótesis previas en la literatura tanto para el locus COI como para el 28S (Figura 19 y Figura 20). En ambos casos se presenta un grupo monofilético que contiene a los órdenes Dictyoceratida (Figura 19 y Figura 20) y Dendroceratida (Figura 20) como un clado hermano de la subclase Verongimorpha.

6. El fragmento D2 de la subunidad 28 (28S ADNr) mostró mayor variabilidad nucleotídica en comparación al fragmento de folmer (COI ADNmt) utilizado en la campaña de código de barras de la vida. Además, fue congruente en la reconstrucción filogenética obtenida con otros marcadores (p. ej. COI), lo cual lo convierte en un buen candidato para el estudio sistemático de las esponjas córneas.

7. Sin duda, el uso de una taxonomía tradicional combinada con marcadores moleculares (taxonomía integrativa) es la mejor opción para una interpretación eficiente del estatus de las especies, su importancia se agudiza en grupos como Keratosa donde la interpretación de las características morfológicas se vuelve ambigua.

8. El conocimiento de las esponjas córneas en el Pacífico mexicano era relativamente bajo, gracias a esta aportación, el número de especies ha incrementado significativamente llevando el conocimiento de este grupo a un buen nivel en comparación a la biodiversidad de Keratosa en áreas bien estudiadas como el Caribe, el Mediterráneo o el Atlántico europeo. Aunque cabe resaltar que aún hace falta continuar con el estudio taxonómico de esponjas córneas en el Pacífico mexicano y en general en el Pacífico este.

11. Bibliografía.

- Aljanabi, S.M., Martinez, I. (1997) Universal and rapid salt-extraction of high quality genomic DNA for PCR –based techniques. *Nucleic Acids Research*, 25, 4692–4693.
- Appeltans, W., Ahyong, S.T., Anderson, G., Angel, M.V., Artois, T., Bailly, N., Hopcroft, R.R. (2012) The magnitude of global marine species diversity. *Current Biology*, 22(23), 2189-2202.
- Ávila, E. Ávila-García, A.K. Cruz-Barraza, J.A. (2014) Temporal and small-scale spatial variations in abundance and biomass of seagrass-dwelling sponges in a tropical estuarine system. *Marine Ecology*.
- Avise, J.C., Nelson, W.S., Sugita, H. (1999) A speciation history of “living fossils”:molecular evolutionary patterns in horseshoe crabs. *Evolution*, 48 (6), 1986–2001.
- Belinky, F. (2012) ALG11- A new variable DNA marker for sponge phylogeny: Comparison of phylogenetic performances with 18s rDNA and the COI gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 63, 702-713.
- Bell, J. J. (2008) The functional roles of marine sponges. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 79(3), 341–353. doi:10.1016/j.ecss.2008.05.002
- Bergquist, P.R. (1995) Dictyoceratida, Dendroceratida y Verongida from the New Caledonian Lagoon (Porifera: Demospongiae). *Memoirs of the Queensland museum*, 38(1), 1–51.
- Bergquist, P.R., Hartman, W.D. (1969) Free amino acid patterns and the classification of the Demospongiae. *Marine Biology*, 3, 247-268.
- Blanquer, A., Uriz, M. (2007) Cryptic speciation in marine sponges evidenced by mitochondrial and nuclear genes: a phylogenetic approach. *Molecular Phylogenetic Evolution*, 45, 392–397.
- Blanquer, A., Uriz, M.J. (2008) “A posteriori” searching for phenotypic characters to describe new cryptic species of sponges revealed by molecular markers (Scopalina: Dictyonellidae). *Invertebrate Systematics*, 22, 489–502.

- Borchiellini, C., Chombard, C., Manuel, M., Alivon, E., Vacelet, J., Boury-Esnault, N. (2004) Molecular phylogeny of Demospongiae: implications for classification and scenarios of character evolution. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 32(3), 823–37. doi:10.1016/j.ympev.2004.02.021
- Boury-Esnault, M., Solé-Cava, A.M. (2004) Recent contribution of genetics to the study of sponge systematics and biology. *Systematics*, 2003: 3–18.
- Boury-Esnault, N., Solé-Cava, A.M. (2004) Recent contributions of genetics to the study of sponge systematics and biology, *Bollettino dei Musei e Degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*, 68, 3-18.
- Carballo, J., Zubia, E., Ortega, M. (2006) Biological and chemical characterizations of three new species of *Dysidea* (Porifera: Demospongiae) from the Pacific Mexican coast. *Biochemical Systematics and Ecology*, 34(6). 498–508. doi:10.1016/j.bse.2005.11.014
- Cárdenas, P., Pérez, T., Boury-Esnault, N. (2013) Sponge systematics facing new challenges. *Advances in Marine Biology*, 61, 81-179.
- Carter, H.J. (1881) Supplementary report on specimens dredged up from the Gulf of Manaar, together with others from the Sea in the Vicinity of the Basse Rocks and from Bass's Straits respectively, presented to the Liverpool Free Museum by Capt. H. Cawne Warren. *Annals and Magazine of Natural History*, (5)7, 361-385, pl. XVIII.
- Chung-Ja, Bakus, G.J. (1986) Marine sponges of Santa Catalina Island, California. *Occasional papers of the Allan Hancock foundation*, 5, 23.
- Connes, R., Diaz, J.P., Negre, G., Paris, J. (1974) Étude morphologique, cytologique et sérologique de deux formes de *Suberites* massa de l'étang de Thau. *Vie Milieu*, 24, 213-224.
- Cook, S. (2007) Clarification of dictyoceratid taxonomic characters, and the determination of genera. *Sciences-New York*, 265–274.

- Cook, S.D.C., Bergquist, P.R. (2002) Order Dictyoceratida Minchin, 1900. A Journal on the Theory of Ordered Sets and its Applications. 2(1), 92019–92019.
- Cook, S.D. Bergquist, P. (2001) New species of Spongia (Porifera: Demospongiae: Dictyoceratida) from New Zealand, and a proposed subgeneric structure. New Zealand Journal of Marine and Freshwater Research, 35(1), 33–58. doi:10.1080/00288330.2001.9516977
- Cruz-Barraza, J.A. (2008) Taxonomía y Distribución de las esponjas marinas (Porifera: Demospongiae) del Pacífico mexicano. Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Tesis doctoral UNAM, 570 Pp.
- Cruz-Barraza J.A., Carballo J.L., Rocha-Olivares A., Ehrlich H., Hog M. (2012) Integrative taxonomy and molecular phylogeny of genus *Aplysina* (Demospongiae: Verongida) from Mexican Pacific. Plos ONE, 7(8): e42049. doi:10.1371/journal.pone.0042049
- Cruz-Barraza, J.A. Carballo, J.L. Rocha-Olivares, A. Ehrlich, H. Hog, M. (2012) Integrative taxonomy and molecular phylogeny of genus *Aplysina* (Demospongiae: Verongida) from Mexican Pacific. PloS one. 7(8), e42049.
- Cuzick, J., Sasieni, P., Evans, S. (1992) Ingested arsenic, keratoses, and bladder cancer. American Journal of Epidemiology, 136(4), 417-421.
- Dams, E. Vandenberghe, A., de Wachter, R. (1982) Nucleotide sequence of three Poriferan 5S ribosomal RNAs. Nucleic Acids Research, 10, 5297–5302.
- De Laubenfels, M.W. (1953) Sponges of the Alaskan Arctic. Smithsonian Institution. 121(32), 1–22.
- Desqueyroux, R. (1972) Demospongiae (Porifera) de la costa de Chile. Gayana, Zoology, 20, 1–71.
- Doyle, J.J. Doyle, J.L. (1987) A rapid DNA isolation method for small quantities of fresh tissues. Phytochemical Bulletin of the Botanical Society of America, 19(1S), 11–15.
- Duchassaing De Fonbressin, P. Michelotti, G. (1864) Spongiaires de la mer Caraïbe. Natuurkundige verhandelingen van de Hollandsche maatschappij der wetenschappen te Haarlem, 21(2), 1-124, pls I-XXV.

- Duckworth, A. (2009) Farming sponges to supply bioactive metabolites and bath sponges: a review. *Marine biotechnology*, 11(6), 669–79. doi:10.1007/s10126-009-9213-2
- Duran, S. Rützler, K. (2006) Ecological speciation in a Caribbean marine sponge. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 40(1), 292-297.
- Erpenbeck, D. (2007) On the molecular phylogeny of sponges (Porifera). *Zootaxa*; 126: 107–126.
- Erpenbeck, D. Sutcliffe, P. Cook, S.D.C. Dietzel, A. Maldonado, M. Van Soest, R.W.M. Hooper, J.N. (2012) Horny sponges and their affairs: On the phylogenetic relationships of keratose sponges. *Molecular phylogenetics and evolution*, 63(3), 809–16. doi:10.1016/j.ympev.2012.02.024
- Erwin, P. M., Thacker, R. W. (2007) Phylogenetic analyses of marine sponges within the order Verongida: a comparison of morphological and molecular data. *Invertebrate Biology*, 126(3), 220–234. doi:10.1111/j.1744-7410.2007.00092.x
- Ferrándiz, M.L. Sanz, M.J. Bustos, G. Payá, M. Alcaraz, M.J. De Rosa, S. (1994) Avarol and avarone, two new anti-inflammatory agents of marine origin. *European journal of pharmacology*, 253(1-2), 75–82. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8013550>
- Gómez-Guiñán, Y. Hidalgo, J. Jiménez, M. Salcedo, J. (2003) Obtención de extractos orgánicos con actividad antimicrobiana a partir de *Penicillium* sp.(Moniliales) aislado de la esponja *Ircinia felix* (Porifera: Demospongiae). *Revista de Biología Tropical*. 51(4), 141-147.
- Gray, J.E. (1867) Notes on the Arrangement of Sponges, with the Descriptions of some New Genera. *Proceedings of the Zoological Society of London*, 1867, (2), 492-558. Pls XXVII-XXVIII.
- Green, G. Gómez, P. (1986) Estudio taxonómico de las esponjas de la Bahía de Mazatlán Sinaloa, México. *Anales del Centro de Ciencias del Mar y Limnología*, 467, 273-300.
- Hadas, E. Shpigel, M. Ilan, M. (2005) Sea ranching of the marine sponge (Demospongiae, Latrunculiidae) as a first step for latrunculin B mass production. *Aquaculture*. 244(1-4), 159–169. doi:10.1016/j.aquaculture.2004.11.052

- Hill, M.S. Hill, A.L. Lopez, J. Peterson, K.J. Pomponi, S. Diaz, M.C. Sperling, E.A. (2013) Reconstruction of family-level phylogenetic relationships within Demospongiae (Porifera) using nuclear encoded housekeeping genes. PLoS One. 8(1), e50437.
- Hebert, P.D.N. Cywinska, A. Ball, S.L. de Waard, J.R. (2003) Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society of London B Biological Sciences, 270, 313–321.
- Hechtel, G.J. (1965) A systematic study of the Demospongiae of Port Royal, Jamaica. Bulletin of the Peabody Museum of Natural History, 20, 1-103.
- Huang D. Meier, R. Todd, P.A. Chou, L.M. (2008) Slow mitochondrial COI sequence evolution at the base of the metazoan tree and its implications for DNA barcoding. J Molecular Evolution, 66: 167–174.
- Hooper, J.N.A. Van Soest, R.W.M. (2002) Systema Porifera: A Guide to the Classification of Sponges. Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, Vol. 1, 1101 Pp.
- INE. (2000). La calidad del agua en los ecosistemas costeros de México. INE, Ed. Gestión, 1a. Edición, 407 Pp.
- Johnston, G. (1842) A History of British Sponges and Lithophytes. W.H. Lizars: Edinburgh, i-xii: 1-264, pls I-XXV.
- Kelly-Borges, M. Bergquist, P.L. (1991) Phylogenetic relationship within the order Hadromerida (Porifera, Demospongiae, Tetractinomorpha) as indicated by ribosomal RNA sequence comparisons. Biochemical Systematic and Ecology, 19: 117–125.
- Klautau, M. Russo, C.A.M. Lazoski, C. Boury-Esnault, N. Thorpe, J.P. Solé-Cava, A.M. (1999) Does cosmopolitanism result from overconservative systematics? A case study using the marine sponge *Chondrilla nucula*. Evolution, 53 (5), 1414–1422
- Laubenfels, M.W. De. (1929) The sponges of California. Dept. of Zoology. (Abstract of dissertations for the degree of doctor of Philosophy). Stanford University bulletin, 5 (98):24-29.

- Laubenfels, M.W. De. (1948) The order Keratosa of the phylum Porifera: A monographic study. Occasional Papers of the Allan Hancock Foundation, 3:1-217.
- Laubenfels, M.W. De. (1930) The sponges of California. Stanford University Bulletin series 5, 5(98): 24–29.
- Laubenfels, M.W., De. (1936) A Discussion of the Sponge Fauna of the Dry Tortugas in Particular and the West Indies in General, with Material for a Revision of the Families and Orders of the Porifera. Carnegie Institute of Washington (Tortugas Laboratory Paper N° 467), 30: 1-225, pls 1-22.
- Lendenfeld, R., Von. (1888) Descriptive Catalogue of the Sponges in the Australian Museum, Sidney. Taylor & Francis: London, i-xiv, 1-260, pls 1-12.
- Lendenfeld, R., Von. (1889) A Monograph of the Horny Sponges. Trübner and Co.: London. iii-iv, 1-936, pls 1-50.
- León-Pech, M.G. Cruz-Barraza, J.A. Carballo, J.L. Calderon-Aguilera, L.E. Rocha-Olivares, A. (2015) Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific. Coral Reefs, 34(3), 887-897.
- Maldonado, M. (2009). Embryonic development of verongid demosponges supports the independent acquisition of spongin skeletons as an alternative to the siliceous skeleton of sponges. Biological Journal of the Linnean Society, 97(2):427–447. doi:10.1111/j.1095-8312.2009.01202.x
- Manconi, R. Cadeddu, B. Ledda, F. Pronzato, R. (2013) An overview of the Mediterranean cave-dwelling horny sponges (Porifera, Demospongiae). ZooKeys, (281): 1.
- Mendola, D. De Caralt, S. Uriz, M.J. Van den End, F. Van Leeuwen, J.L. Wijffels, R.H. (2008) Environmental flow regimes for *Dysidea avara* sponges. Marine biotechnology, 10(5):622–30. doi:10.1007/s10126-008-9102-0
- Merejkowski, C.S. (1877) Preliminary account on the sponges of the White Sea. Trudy St. Petersburg Obshestvo, 9: 249-270.

- Milanese, M. (2003) The marine sponge *Chondrilla nucula* Schmidt, 1862, as an elective candidate for bioremediation in integrated aquaculture. *Biomolecular Engineering*, 20(4-6), 363–368. doi:10.1016/S1389-0344(03)00052-2.
- Minchin, E.A. (1900). *The Porifera and Coelenterata, a Treatise on Zoology. Volume 2*, Adam and Charles Black, London. 178 Pp.
- Morrow, C. Cárdenas, P. (2015) Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Frontiers in zoology*. 12(1), 7.
- Müller, F. (1865) *Über Darwinella aurea*, einen Schwamm mit sternförmigen Hornnadeln. *Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik*, 1: 344-353, pl. XXI.
- Muñoz, M. Riegel, R. Seeman, P. Peñailillo, P. Schiappacasse, F. Núñez, J. (2011) Relaciones filogenéticas de *Rhodolirium montanum* y especies afines, basadas en secuencias nucleotídicas de la región ITS y análisis cariotípico. *Gayana Botánica*, 68(1): 40-48.
- Nardo, G.D. (1833) Auszug aus einem neuen System der Spongiarien, wonach bereits die Aufstellung in der Universitäts-Sammlung zu Padua gemacht ist: *Isis, oder Encyclopädische Zeitung Coll. (Oken: Jena)*, Pp. 519-523.
- Nichols, S.A. (2005) An evaluation of support for order-level monophyly and interrelationships within the class Demospongiae using partial data from the large subunit rDNA and cytochrome oxidase subunit I. *Molecular phylogenetics and evolution*, 34(1): 81–96. doi:10.1016/j.ympev.2004.08.019
- O'Dea, A. Rodriguez, F. De Gracia, C. Coates, A.G. (2007) La paleontología marina en el Istmo de Panamá. *Canto Rodado*, 2:149-179. ISSN 1818-2917
- Poléjaeff, N. (1884) Report on the Keratosa collected by H.M.S. 'Challenger' during the years 1873-1876. Report on the Scientific Results of the Voyage of H.M.S. 'Challenger'. 1873-1876. *Zoology*. 11:1-88, pls I-X.
- Pöppe, J. Sutcliffe, P. Hooper, J.N.A. Wörheide, G. Erpenbeck, D. (2010) COI barcoding reveals new clades and radiation patterns of Indo-Pacific sponges of the family

- Irciniidae (Demospongiae: Dictyoceratida). PloS one, 5(4): e9950. doi:10.1371/journal.pone.0009950
- Pronzato, R. Manconi, R. (2008). Mediterranean commercial sponges: over 5000 years of natural history and cultural heritage. *Marine Ecology*, 29(2): 146–166. doi:10.1111/j.1439-0485.2008.00235.x
- Ratnasingham, S. Hebert, P.D.N. (2007) The Barcode of Life Data System BOLD. *Molecular Ecology Notes*, doi:10.1111/j.1471-8286.2006.01678.x
- Redmond, N. Morrow, C. Thacker, R.W. Diaz, M.C. Boury-Esnault, N. Cárdenas, P. Hajdu, E. Lobo-Hajdu, G. Picton, B.E. Pomponi, S.A. Kayal, E. Collins, A.G. (2013) Phylogeny and Systematics of Demospongiae in Light of New Small-Subunit Ribosomal DNA (18S) Sequences. *Integrative and comparative biology*, 1-28.
- Rentaría-Alcántar, M. (2000) Breve revisión de los marcadores moleculares. *Ecología molecular*, Capítulo 18. Instituto Nacional de Ecología. 541–566.
- Rutzler, K. Van Soest, R.W.M. Piantoni, C. (2009) Sponges (Porifera) of the Gulf of Mexico. *Gulf of Mexico Origin, Waters, and Biota: Biodiversity*, 285.
- Sarà, M. (1978) Demospongie di acque superficiali de lla Terra del Fuoco (Spedizioni AMF Mares - GRSTS e SAI). *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici della (R.) Università di Genova* 46: 7-117.
- Schlick-Steiner, B.C. Steiner, F.M. Seifert, B. Stauffer, C. Erhard, C. Crozier, R.H. (2009) Integrative Taxonomy: A Multisource Approach to Exploring Biodiversity. *Annual Review of Entomology*, 55:421–38.
- Schmidt, O. (1862) *Die Spongien des adriatischen Meeres*. Wilhelm Engelmann: Leipzig, i-viii, 1-88, pls 1-7.
- Schulze, F.E. (1878) *Untersuchungen über den Bau und die Entwicklung der Spongien*. Vierte Mittheilung. Die Familie der Aplysinidae. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, 30: 379-420. plsXXI-XXIV.

- Sladić, D. Gasić, M.J. (2006) Reactivity and biological activity of the marine sesquiterpene hydroquinone avarol and related compounds from sponges of the order Dictyoceratida. *Molecules* (Basel, Switzerland), 11(1): 1–33. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17962742>
- Solé-Cava, A.M. Wörheide, G. (2007) The perils and merits (or the Good, the Bad and the Ugly) of DNA barcoding of sponges, a controversial discussion. *Trends in Parasitology*. 603–612.
- Thacker, R.W. Hill, A.L. Hill, M.S. Redmond, N.E. Collins, A.G. Morrow, C.C. Bangalore, P.V. (2013) Nearly complete 28S rRNA gene sequences confirm new hypotheses of sponge evolution. *Integrative and comparative biology*. 53(3), 373-387.
- Thiele, J. (1905) Die Kiesel- und Hornschwämme der Sammlung Plate. *Zoologische Jahrbücher. Supplement 6* (Fauna Chiliensis III): 407-496, pls 27-33.
- Topsent, E. (1928) Spongiaires de l'Atlantique et de la Méditerranée provenant des croisières du Prince Albert Ier de Monaco. Résultats des campagnes scientifiques accomplies par le Prince Albert I. Monaco. 74:1-376, pls I-XI.
- Van Soest, R.W. (1978) Studies on the fauna of Curacao and Other Caribbean Islands. Foundation for scientific research in Surinam and Netherlands Antilles. 41: 3-91.
- Van Soest, R.W.M. Boury-Esnault, N. Vacelet, J. Dohrmann, M. Erpenbeck, D. De Voogd, N.J. Santodomingo, N. (2012) Global Diversity of Sponges (Porifera). *PLoS ONE*. 7(4): e35105. doi:10.1371/journal.pone.0035105
- Van Soest, R.W.M. Boury-Esnault, N. Vacelet, J. Dohrmann, M. Erpenbeck, D. (2012). Global Diversity of Sponges (Porifera). *PLoS ONE*. 7(4): e35105. Doi:10.1371/journal.pone.0035105
- Vargas, S. Schuster, A. Sacher, K. Büttner, G. Schätzle, S. Läubli, B., Wörheide, G. (2012) Barcoding sponges: an overview based on comprehensive sampling. *PloS one*, 7(7), e39345.
- Vega, C. Hernández Guerrero, C.J. Cruz-Barraza, J.A. (2012) Biogeografía de esponjas marinas (Phylum Porifera); estudios en el Pacífico oriental. *CICIMAR Océánides*. 27(1), 35–50.

- Voigt, O. Eichmann, V. Wörheide, G. (2011) First evaluation of mitochondrial DNA as a marker for phylogeographic studies of Calcarea: a case study from *Leucetta chagosensis*. *Hydrobiologia*. 101–106. doi:10.1007/s10750-011-0800-7
- Vrijenhoek, R. (1994) DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular marine biology and biotechnology*. 3(5), 294-299.
- Whibley, C.E. Keyzers, R. Soper, A.G. Davies-Coleman, M.T., Samaai, T. Hendricks, D.T. (2005) Antiesophageal cancer activity from Southern African marine organisms. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1056, 405–12. doi:10.1196/annals.1352.031
- Wilkinson T.E. Wiken, J. Bezaury C.T. Hourigan, T. Agardy, H. Herrmann, L. Janishevski, C. Madden, L. Morgan, M. Padilla, V. (2009) *Ecorregiones marinas de América del Norte*, Comisión para la Cooperación Ambiental, Montreal, 200 pp.
- Wörheide, G. (1998). The reef cave dwelling ultra-conservative coralline demosponge *Astrosclera willeyana* Lister 1900 from the Indo-Pacific. *Micromorphology, ultrastructure, biocalcification, isotope record, taxonomy, biogeography, phylogeny*. *Facies* 38: 1-88.
- Worheide, G. Dohrmann, M. Erpenbeck, D. Larroux, C. Maldonado, M. Voigt, O. Borchiellini, C. Lavrov, D.V. (2013) Deep Phylogeny and Evolution of Sponges (Phylum Porifera). *Advances in Marine Biology*. 61: 3-38. ISSN 0065-2881, DOI: 10.1016/B978-0-12-387787-1.00007-6
- Wörheide, G. Erpenbeck, D. (2007) "DNA taxonomy of sponges—progress and perspectives. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87, 06: 1629-1633.
- Wörheide, G. Erpenbeck, D. (2007) DNA taxonomy of sponges progress and perspectives. *Journal of the Marine Biological Association of the UK*. 87(06): 1629–1633. doi:10.1017/S0025315407058274
- Wörheide, G. Erpenbeck, D. Menke, C. (2007). The Sponge Barcoding Project : aiding in the identification and description of poriferan taxa. *Database* (1): 123–128.

- Xavier, J.R. Rachello-Dolmen, P.G. Parra-Velandia, F., Schönberg, C.H.L. Breeuwer, J.A.J. (2010) Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolitan” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 13–20.
- Van Soest, R.W.M. David, K. Ainsley, S. Leigh, N. Stephen, C. Joseph, L. Trueman, J.W.H. (2011) Integrative taxonomy, or iterative taxonomy?. *Systematic Entomology*. 36: 209-217. DOI: 10.1111/j.1365-3113.2010.00558.x
- Zavala-Hidalgo, J. Salmerón, O. Aguilar, V. Cerdeira, S. Kolb, M.(2014) Caracterización y regionalización de los procesos oceanográficos de los mares mexicanos. CONABIO, Procesos oceanográficos, http://www.conabio.gob.mx/gap/index.php/Procesos_oceanogr%C3%A1ficos, 03-01-2014.
- Zavala-Hidalgo, J. Fernández-Eguiarte, A. (2004) Propuesta para la regionalización de los mares mexicanos desde el punto de vista de los procesos físicos: el caso del Golfo de México. *Ordenamiento Ecológico Marino. Visión temática de la regionalización*. 21-32.
- Zea, S. (2001) Patterns of sponge (Porifera, Demospongiae) distribution in remote, oceanic reef complexes of the southwestern Caribbean. *La Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales*. 25 (97): p. 579-592.