



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

PATRONES FILOGEOGRÁFICOS DE *COMACTINIA MERIDIONALIS*
L. AGASSIZ, 1865 (ECHINODERMATA: CRINOIDEA)

T E S I S

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS
(BIOLOGÍA MARINA)

PRESENTA:
LILÍ ALEJANDRA MATA SAAVEDRA

TUTORES PRINCIPALES:

DR. FRANCISCO ALONSO SOLÍS MARÍN
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
INSTITUTO DE ECOLOGÍA

COMITÉ TUTOR:

DRA. BLANCA ESTELA MARGARITA BUITRÓN SÁNCHEZ
INSTITUTO DE GEOLOGÍA
DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA
DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER
INSTITUTO DE BIOLOGÍA

ASESOR EXTERNO:

DR. CHARLES G. MESSING
NOVA SOUTHEASTERN UNIVERSITY

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX., NOVIEMBRE, 2017



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



**PATRONES FILOGEOGRÁFICOS DE *COMACTINIA MERIDIONALIS*
L. AGASSIZ, 1865 (ECHINODERMATA: CRINOIDEA)**

T E S I S

Que para obtener el grado académico de:
**MAESTRA EN CIENCIAS
(Biología Marina)**

Presenta:

LILÍ ALEJANDRA MATA SAAVEDRA

TUTORES PRINCIPALES:

DR. FRANCISCO ALONSO SOLÍS MARÍN
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología
DR. DANIEL IGNACIO PIÑERO DALMAU
Instituto de Ecología

COMITÉ TUTOR:

DRA. BLANCA ESTELA MARGARITA BUITRÓN SÁNCHEZ
Instituto de Geología
DR. JUAN PABLO JARAMILLO CORREA
Instituto de Ecología
DR. ENRIQUE MARTÍNEZ MEYER
Instituto de Biología

ASESOR EXTERNO:

DR. CHARLES G. MESSING
Nova Southeastern University

MÉXICO, CD. MX., NOVIEMBRE, 2017

Agradecimientos

A la UNAM.

Al Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología e Instituto de Ecología.

Al apoyo recibido por parte del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (beca: 404526).

A mis tutores:

Dr. Francisco A. Solís Marín

Dr. Daniel Piñero Dalmau

A los integrantes del Jurado de Examen de Grado:

Dra. Blanca Estela Margarita Buitrón Sánchez

Dr. Francisco A. Solís Marín

Dr. Daniel Piñero Dalmau

Dr. Juan Pablo Jaramillo Correa

Dr. Enrique Martínez Meyer

Y mi asesor externo:

Dr. Charles G. Messing

Agradecimientos

Daniel gracias por todo el apoyo y la paciencia que me brindaste estos años, eres sin duda uno de mis ejemplos a seguir, ya que de ti he aprendido no sólo temas evolutivos, sino también actitudes de vida, tienes toda mi gratitud y admiración.

Juan Pablo, gracias por tu dedicación a la mejora de este documento que, aunque me dio muchos dolores de cabeza, ha valido la pena.

Gracias Luis y Valeria por permitirme invadir su laboratorio una vez más, a Eri, Lau y señora Silvia por continuar con su apoyo. Al igual que Tania por su apoyo con el material del laboratorio.

Al León Felipe Álvarez de la UNINMAR por su ayuda con la creación de las capas marinas.

Gracias Jaime por no abandonarme a lo largo de mi formación académica y por continuar siendo mi tutor a pesar de los años transcurridos. Gracias a Niza y Santiago por toda la ayuda que me brindaron, sin duda esta tesis no sería mucho sin ustedes. Gracias a Gaby, Enrique, Josué, Jonás, Ale Moreno, Mirna, Fely, Yaxal, y todos los miembros de los laboratorios de Evolución Molecular y Experimental, de Genética y Ecología, así como del seminario del mal del puerco por sus valiosos consejos y contribuciones a este proyecto.

Gracias Herman Wrishing, Geoff Keel, Chad Walter, John Noremburg, y a todos los miembros del equipo de invertebrados del Instituto Smithsonian por su apoyo durante mi muy estupenda estancia en el museo. También a Becky, Ralf y Marina, con quienes cree una bonita amistad. Gracias Herman, no sólo por la ayuda que me brindaste durante la estancia, también por ser una muy grata compañía, porque la hora del lunch no habría sido la misma sin ti con las pláticas más amenas y variadas. Igualmente, a Carol Cowgil quien compartió su hogar conmigo y que, con todos sus detalles, lo hizo sentir como mío.

Yos, gracias por tu compañía y tus consejos que fueron fundamentales en este proceso, y más gracias aún por tu amistad.

Gracias Monse por todos estos años de amistad, por brindarme tu apoyo, comprensión y consejo cuando lo necesité, también por acogerme en tu laboratorio y permitir que fuera uno de los mejores lugares de trabajo (o de recreación y descanso), espero que no necesite recordarte lo valiosos que tú y tu amistad han sido para mí. Siempre serás la voz de la razón en mi cabeza.

Gracias Francisco "Borri" por escucharme y estar ahí siempre que me faltaron las fuerzas, gracias por nuestras largas y "nada intelectuales" charlas, por el tiempo que hemos pasado juntos (aún en la distancia), por entenderme o al menos intentarlo, por el apoyo, por las sonrisas, la felicidad y los consejos, eres totalmente el amigo que elegí y elegiría mil veces como familia, gracias por todo. Te dedico este esfuerzo, te dedico mis esfuerzos.

A mis amigos, que sin duda son parte fundamental de este momento.

A mi familia, Enoc, Rosario, Cindy, Edén y Ricardo gracias por su cada suspiro emitido. Y con mención honorífica a Cindy y Ricardo, por traer a un pequeño ser humano que alguna vez cupo entre mis manos, pero que ahora sostengo también con el corazón, Lena.

“All that we do is touched with ocean,
yet we remain on the shore of what we know.”

Richard Wilbur

Índice

Agradecimientos	3
Agradecimientos	4
Índice	7
Índice de figuras	9
Índice de gráficas	9
Índice de tablas	9
Resumen	10
Abstract	11
Introducción	12
Filogeografía	12
Distribución potencial y nicho ecológico	12
Crinoidea	13
Golfo de México y Caribe	16
Identificación morfológica	16
Antecedentes	20
Hipótesis	22
Objetivo General	22
Objetivos particulares	22
Método	23
Área de estudio	23
Obtención de muestras	24
Identificación de la especie	24

Obtención de datos genéticos	25
Análisis de datos	26
Distribución potencial	26
Morfometría	27
Estructura y diversidad genética	28
Demografía histórica	29
Aislamiento por distancia	29
Resultados	30
Modelado de nicho ambiental	30
Análisis de morfometría	31
Diferenciación entre subespecies	32
Estructura y diversidad genética	34
Aislamiento por distancia	38
Demografía histórica	39
Discusión	41
Distribución potencial	41
Análisis morfométrico	42
Taxonomía: Diferenciación entre subespecies	43
Diversidad genética y filogeografía	44
Conclusiones	48
Perspectivas	48
Literatura citada	50
Anexos	56

Índice de figuras

<i>Figura 1. Morfología externa de crinoídes</i>	14
<i>Figura 2. Mapa de distribución geográfica de Comactinia meridionalis</i>	15
<i>Figura 3. Morfología de un comastérido</i>	17
<i>Figura 4. Comactinia meridionalis. Cirro visto desde la parte inferior.</i>	25
<i>Figura 5. Comactinia meridionalis. Peines pinulares y oscículos pinulares</i>	25
<i>Figura 6. Distribución potencial de Comactinia meridionalis</i>	31
<i>Figura 7. Mapa de distribución de los clusters genéticos nucleares</i>	34
<i>Figura 8. Mapa de distribución de los clusters genéticos mitocondriales</i>	34
<i>Figura 9. Mapa de la distribución geográfica de los haplotipos y red de haplotipos mitocondriales</i>	35
<i>Figura 10. Mapa de la distribución geográfica de los genotipos nucleares y red de haplotipos nucleares</i>	36
<i>Figura 11. Masa terrestre expuesta durante el Último Máximo Glacial en el Océano Atlántico</i>	45
<i>Figura 12. PCA clasificando regiones por variables ambientales</i>	56
<i>Figura 13. Arbol filogenético para Comactinia meridionalis a partir de datos mitocondriales.</i>	57

Índice de gráficas

<i>Gráfica 1. PCA de las variables morfológicas de Comactinia meridionalis</i>	31
<i>Gráfica 2. CCA de variables morfológicas vs variables ambientales para Comactinia meridionalis</i>	32
<i>Gráfica 3. PCA de diferenciación entre subespecies de Comactinia meridionalis</i>	33
<i>Gráfica 4. AMOVAs entre subespecies</i>	33
<i>Gráfica 5. Representación gráfica de dbRDA</i>	39
<i>Gráfica 6. Análisis de Mismatch en mitocondria y núcleo</i>	40
<i>Gráfica 7. Boxplot para caracteres distintos entre subespecies de Comactinia meridionalis</i>	56

Índice de tablas

<i>Tabla 1. Nomenclatura para identificación morfológica en crinoídes</i>	17
<i>Tabla 2. Diagnóstico de subespecies de Comactinia meridionalis</i>	19
<i>Tabla 3. Diferenciación ecológica entre las subespecies de Comactinia meridionalis</i>	19
<i>Tabla 4. Primers utilizados para la amplificación de ADN de Comactinia meridionalis.</i>	26
<i>Tabla 5. Variables relevantes para los modelos de predicción de hábitat de Comactinia meridionalis.</i>	30
<i>Tabla 6. AMOVA e índices de fijación para agrupaciones genéticas de Comactinia meridionalis a partir de datos mitocondriales.</i>	34
<i>Tabla 7. AMOVA e índices de fijación para la agrupación genética de Comactinia meridionalis a partir de datos nucleares</i>	34
<i>Tabla 8. Diversidad genética de Comactinia meridionalis</i>	37
<i>Tabla 9. Resultado del dbRDA.</i>	38
<i>Tabla 10. Análisis de demografía histórica para Comactinia meridionalis</i>	39
<i>Tabla 11. Demografía histórica en clusters genéticos para Comactinia meridionalis</i>	57
<i>Tabla 12. Contribución de componentes al PCA morfológico para Comactinia meridionalis</i>	57
<i>Tabla 13. Número de haplotipos y N para COI en Comactinia meridionalis y filogrupos de Promachocrinus kerguelensis.</i>	58
<i>Tabla 14. Diversidad genética por gen para Comactinia meridionalis.</i>	59

Resumen

El estudio de organismos marinos, más aún bentónicos, tiene muchas limitantes debido a las condiciones ecológicas de su hábitat. Sin embargo, mediante aproximaciones genéticas podemos tener una idea de la ecología e historia de estos organismos.

En este estudio realizamos análisis de diferenciación ecológica, morfológica y genética en la especie *Comactinia meridionalis*. Mediante la elaboración de modelos de nicho ambiental, la búsqueda de patrones morfológicos y filogeográficos; considerando caracteres descriptivos de la especie, así como con marcadores moleculares de ADN mitocondrial (16S y COI) y nuclear (ITS1 e ITS2). También buscamos patrones tanto morfológicos como genéticos que diferenciaron a las subespecies actualmente aceptadas para este grupo.

Encontramos que, de las condiciones oceanográficas consideradas, las más importantes para la predicción de su área de distribución fueron la profundidad, la concentración de fosfato, la temperatura y el oxígeno de fondo, la radiación fotosintéticamente activa media y máxima, la concentración de calcita, la salinidad de fondo y el oxígeno disuelto superficial. Mientras que a nivel morfológico, no encontramos ningún patrón relacionado con su distribución, o con las variables ambientales mencionadas. A nivel de subespecies, no encontramos diferenciación genética que las distinguiera, ni patrones morfológicos relevantes para la diferenciación de las mismas, por lo que se propone la reevaluación taxonómica de las mismas, eliminándolas de la clasificación.

Según los patrones de variación y estructuración genética encontrados, sugerimos la existencia de al menos 3 refugios creados durante periodos glaciales, en donde la influencia de corrientes como el Giro oceánico Colombia-Panamá y otra delimitando el Banco de Campeche, han mantenido la diferenciación genética entre los clusters observados. Además, encontramos que a nivel nuclear la profundidad, la temperatura de fondo y la radiación fotosintética activa máxima y media explicaron una parte de la diferenciación genética nuclear, pero ésta se vio más fuertemente afectada por la distribución geográfica a nivel mitocondrial y nuclear.

Abstract

Studies of marine organisms with emphasis in benthic ones, have many limitations due to the ecological conditions of their habitat. However, through genetic approaches we can create an overview of the history and ecology of these organisms.

In this study we analyze ecological, morphological and genetic differentiation in the species *Comactinia meridionalis*. Through environmental niche models, morphological and phylogeographic patterns; using descriptive characters of the species, as well as molecular markers of mDNA (16S and COI) and nDNA (ITS1 and ITS2). We also look for both morphological and genetic patterns that differentiate the subspecies currently accepted for this group.

We found that depth, phosphate concentration, bottom temperature and oxygen, mean and maximum photosynthetically active radiation, calcite concentration, bottom salinity and surface dissolved oxygen were the most important oceanographic conditions for the distribution prediction model. While at morphological level, we did not find any related pattern to these environmental variables, neither its geographic distribution. At subspecies level, we did not find genetic differentiation between them, nor relevant morphological patterns, therefore we propose a taxonomic reevaluation of these subspecies, removing them from the current classification.

According to the variation and genetic structure patterns, we suggest the existence of at least 3 refuges created during glacial periods, where the influence of currents such as the Columbia-Panama Gyre and another delimiting the Campeche Bank, have maintained the genetic differentiation between the observed clusters. In addition, we found that nuclear genetic differentiation was partly explained by depth, bottom temperature and the mean and maximum photosynthetically active radiation, besides the mayor impact of geographic distribution in both type of genes.

Introducción

Filogeografía

Los estudios filogeográficos evalúan la correspondencia entre patrones de distribución filogenéticos y geográficos entre los taxa (Avice 2009), esperando encontrar una estructura genética entre poblaciones con un tiempo considerable de aislamiento geográfico (Allendorf, Luikart, y Aitken 2012). Esta estructura permite la inferencia de eventos que han dado lugar a distintos linajes genealógicos, uniendo así macro y microevolución (Avice 2000) y ayudando a inferir patrones históricos de la distribución de especies (Avice 2000).

Distribución potencial y nicho ecológico

Por su parte, los análisis de las relaciones especie-ambiente son temas centrales en ecología (Guisan y Zimmermann 2000), ya que reconocen la importancia del clima, junto con otros factores para explicar los patrones de distribución de seres vivos. Un patrón implica un tipo de repetición, en la naturaleza es una repetición imperfecta, que permite realizar algún tipo de predicción (MacArthur 1972). Para facilitar los estudios de distribución de las especies, se han definido algunos términos importantes, tales como el de nicho fundamental. Este es el hipervolumen n -dimensional, que permite a las especies existir indefinidamente; está dado principalmente por la función de rendimiento fisiológico y las restricciones del sistema (Hutchinson 1957). Por otro lado está el nicho realizado, que incluye interacciones bióticas y exclusión competitiva (Guisan y Zimmermann 2000).

Es necesario mencionar que el concepto de nicho ha adquirido una amplia variedad de significados, debido a que mediante este término se pretende dar respuesta a una pregunta tan compleja, como la inferencia de la combinación de factores ambientales que permiten existir a las especies en una región geográfica o comunidad biótica dada, y cuál es el efecto que tienen las especies en esos factores ambientales (Peterson et al. 2011)

Así pues, se han desarrollado una variedad de modelos estadísticos para realizar las simulaciones de distribución y estudiar la distribución de los seres vivos. Guisan y Zimmermann (2000) realizaron una revisión de los estadísticos usados para elaborar estos modelos, y localizaron que los pasos principales para la elaboración de los mismos son los siguientes: la formulación del modelo, su posterior calibración y su evaluación.

Para la creación de los modelos de nicho se han sugerido tres tipos principales de predictores ambientales: 1) directos, que son aquellos que tienen influencia fisiológica directa en el crecimiento; 2) indirectos, son las variables que no tienen efectos fisiológicos en el crecimiento; 3) recursos, las variables que son consumidas, incorporando competencia interespecífica (Austin 2002). Estos predictores también pueden agruparse en proximales o distales. Los modelos basados en recursos proximales y directos se consideran los más robustos y más ampliamente aplicables; sin embargo, son los menos prácticos en términos de cantidad de tiempo y recursos requeridos (Austin 2002; Peterson et al. 2011). Por tanto, las variables indirectas pueden reemplazar una combinación de distintos recursos y gradientes directos de una manera sencilla (Guisan y Zimmermann 2000). Sin embargo, usando estos predictores, es necesario que los gradientes causales estén linealmente correlacionados con el gradiente indirecto, para lograr producir modelos predictivos robustos (Austin 2002).

El estudio de modelación de hábitat ha avanzado considerablemente en ambientes terrestres, sin embargo, en ambientes marinos y más específicamente del fondo marino, existen muchas restricciones como la poca disponibilidad de datos, la baja resolución de los mismos, y la vaguedad de datos respecto a la presencia de organismos, entre otros (Davies y Guinotte 2011).

Crinoidea

La especie de estudio pertenece a la clase Crinoidea, que a su vez pertenece al phylum Echinodermata; se cree que esta clase fue la primera en divergir del resto de miembros del phylum (Cohen et al. 2003), además son los únicos miembros del grupo que poseen un pedúnculo (Messing y Dearborn 1990). Su origen data de hace aproximadamente 485 millones de años (Roux et al. 2013), y luego de una gran diversificación durante el Paleozoico, hoy en día ésta diversidad se ha visto reducida (Cohen et al. 2003), pues grupos actuales se ubican en una sola subclase: Articulata (Messing y Dearborn 1990). Esta subclase contiene dos órdenes: Bourgueticrinida y Comatulida. El primero está representado por organismos pedunculados (sésiles), conocidos como “lirios de mar” o bourgueticrinidos (Fig. 1A), en donde se ubican 30 géneros y 95 especies. En el segundo orden se encuentran aquellos organismos sin pedúnculo y vágiles, denominados “estrellas plumosas” o comatúlidos (Fig. 1B), que se clasifican en 140 géneros y 500 especies (Cohen et al. 2003).

Los comatúlidos son actualmente el grupo más diverso y abundante; tuvieron una radiación importante desde su aparición en el Jurásico (Meyer y Macurda 1977) y a inicios del Paleógeno (Meyer y Oji 1993). Al igual que el resto del phylum presentan simetría pentarradial y endoesqueleto de placas calcáreas articuladas; sin embargo, su cuerpo se encuentra orientado de forma distinta al del resto del grupo, ya que la superficie oral está dirigida hacia arriba, en lugar de estarlo hacia el sustrato (Messing y Dearborn 1990; Khanna 2005). En tanto los órganos reproductivos así como las extensiones del sistema vascular acuífero, que sirven para la captura de alimento y respiración, se localizan en los brazos (Messing y Dearborn 1990). Por su parte las gónadas no se encuentran bien definidas (Benavides-Serrato et al. 2011) y se localizan en las pínulas genitales (Messing 1997). Todos los crinoides son filtradores y se alimentan mediante suspensión pasiva; su dieta incluye una variedad de protistas (diatomeas, algas unicelulares, foraminíferos, actinópodos, entre otros), larvas de invertebrados, pequeños crustáceos y partículas de detritos (Ausich y Messing 1998).

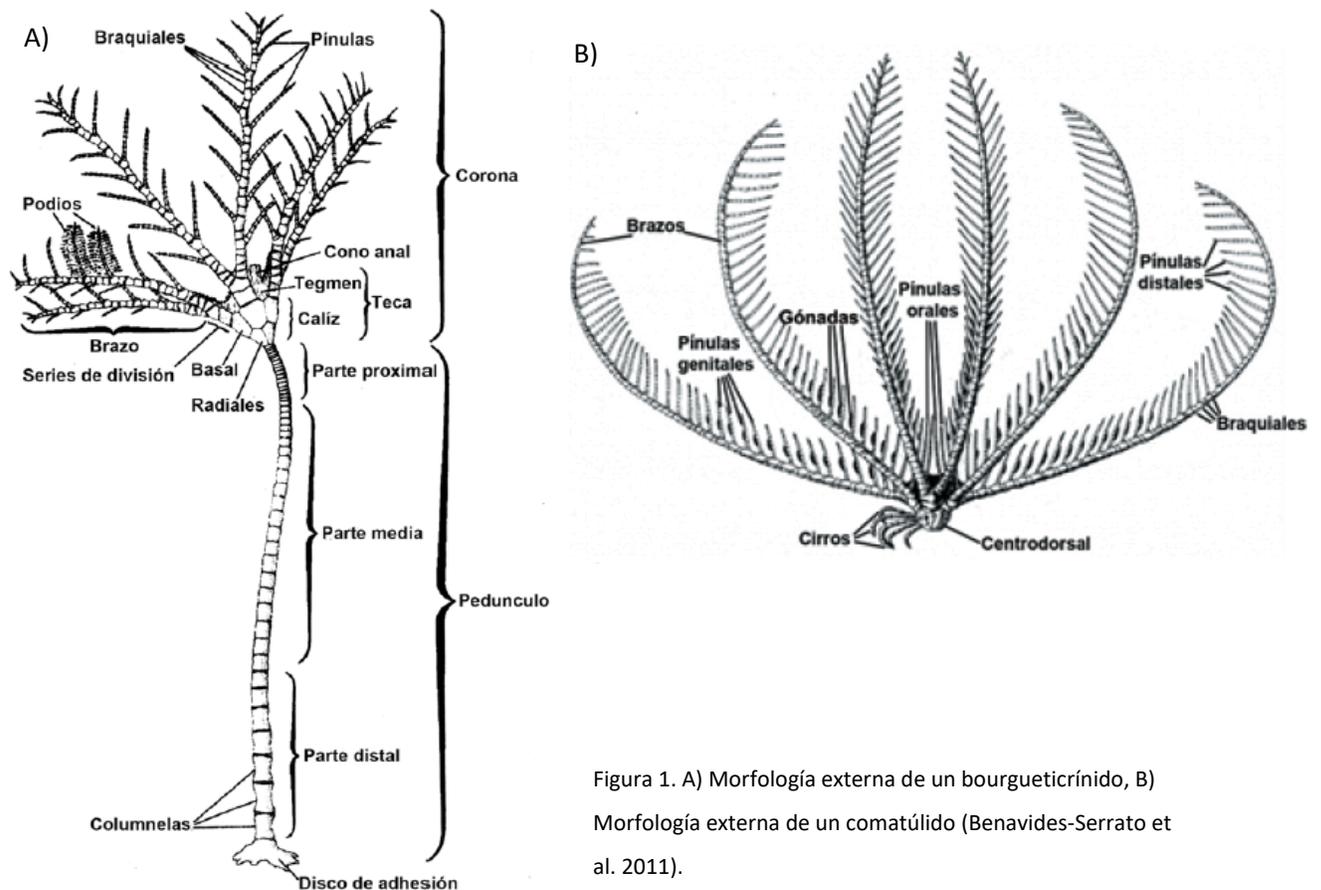


Figura 1. A) Morfología externa de un bourgueticrinido, B) Morfología externa de un comatúlido (Benavides-Serrato et al. 2011).

La mayoría de los comatúlidos presentan una época reproductiva restringida a uno o dos meses en las estaciones de primavera o verano (Benavides-Serrato et al. 2011), cuando el plancton es más abundante (Fell 1966). Sus larvas (doliolarias o pentacrinoideas) poseen alta capacidad de dispersión y pueden viajar cientos de kilómetros (Waters y Roy 2003); ésta usualmente contribuye a homogeneizar su estructura genética en toda su área de distribución (Prietos-Rios et al. 2014). Se sabe que varias especies de equinodermos realizan clonación en estado larvario, sin embargo para crinoides aún no se ha reportado esta clase de comportamiento (Lacalli 2000; Eaves y Palmer 2003). La mayor parte del grupo habita aguas profundas y grandes abismos (Khanna 2005). Los crinoides de nado libre, a pesar de su movilidad y capacidad natatoria, aún tienen una dependencia directa del sustrato, y pasan la mayor parte de su vida refugiados en el piso marino (Fell 1966). Y se ha sugerido, que el patrón biogeográfico actual de los crinoides está relacionado con la tectónica de placas y el cambio climático (Roux et al. 2013).

Por su parte, la especie *Comactinia meridionalis* (L. Agassiz, 1865) se distribuye en el Golfo de México, Bahamas, Antillas, Cuba, Barbados, Colombia, y el sureste de los Estados Unidos de América, desde Cabo Lookout en Carolina del Norte hasta los cayos de la Florida; en el Mar Caribe, su distribución abarca desde Yucatán y Cuba hasta Surinam, y probablemente hasta las costas de Brasil, cerca de Sao Paulo (Fig. 2). Abarcando un intervalo batimétrico de los 8 a 640m (Valdés-De Anda 2011).



Figura 2. Mapa de distribución geográfica de *Comactinia meridionalis* (Tomado de <http://iobis.org/mapper/>)

Golfo de México y Caribe

Con respecto a las características en el Atlántico, sabemos que el Atlántico Sur posee aguas menos salinas y tienen más oxígeno disuelto que las del Atlántico Norte (Wilson y Johns 1997). Existen diversas corrientes que circulan a lo largo del Atlántico Norte, Golfo de México y Caribe, entre las de mayor importancia se encuentra la Corriente de Yucatán que conecta al Golfo de México con el Mar Caribe (Molinari y Morrison 1988), la Corriente de Lazo que une a la Corriente de Yucatán con la de Florida (Hoffman y Worley 1986), y esta última corriente de Florida que va en dirección norte, recibe aguas de la corriente de Lazo y de las Antillas.

Por su parte, las aguas del Caribe se encuentran en un área semi-cerrada y tienen distintos puntos de origen (Gordon 1967); además están estratificadas, teniendo menor temperatura y mayor salinidad después de los 150m (Hernández-Guerra y Joyce 2000). Esta estratificación es más marcada por arriba de los 1200m de profundidad y disminuye en la columna de agua hacia los 2000m, donde el ambiente es casi homogéneo. La estratificación se ha atribuido al umbral del arco de las Islas Antillas, que impide la surgencia de aguas profundas. Igualmente, el Mar Caribe se encuentra influenciado por dos enormes sistemas de ríos al sureste, el Río Orinoco y el Amazonas (Wilkinson et al. 2009), que propician mayor heterogeneidad en sus áreas de descarga.

En cambio, la región norte del Golfo de México es semi tropical, debido al patrón estacional de temperatura, que es influenciado principalmente por corrientes tropicales en verano y por la temperatura continental en invierno; su plataforma continental es amplia y la pendiente continental empinada; mientras la región del este del Golfo de México es topográficamente muy diversa, incluyendo desde pendientes suaves, escarpes, montículos, cuencas y cañones submarinos (Wilkinson et al. 2009).

Identificación morfológica

En la clase Crinoidea, la distinción morfológica entre ordenes se realiza comparando la presencia o ausencia de pedúnculo; a nivel de familia, género y especie se consideran caracteres como el patrón de ramificación de los radios, el número de brazos; la forma de la placa centrodorsal; forma, número y disposición de cirros; número de segmentos de los cirros y su ornamentación; forma, longitud y número de segmentos de las pínulas; forma de los elementos branquiales; posición de las articulaciones no musculares (algunas veces, se puede incluir la coloración de los organismos y en ocasiones también la disposición del tracto digestivo) (Benavides-Serrato et al. 2011).

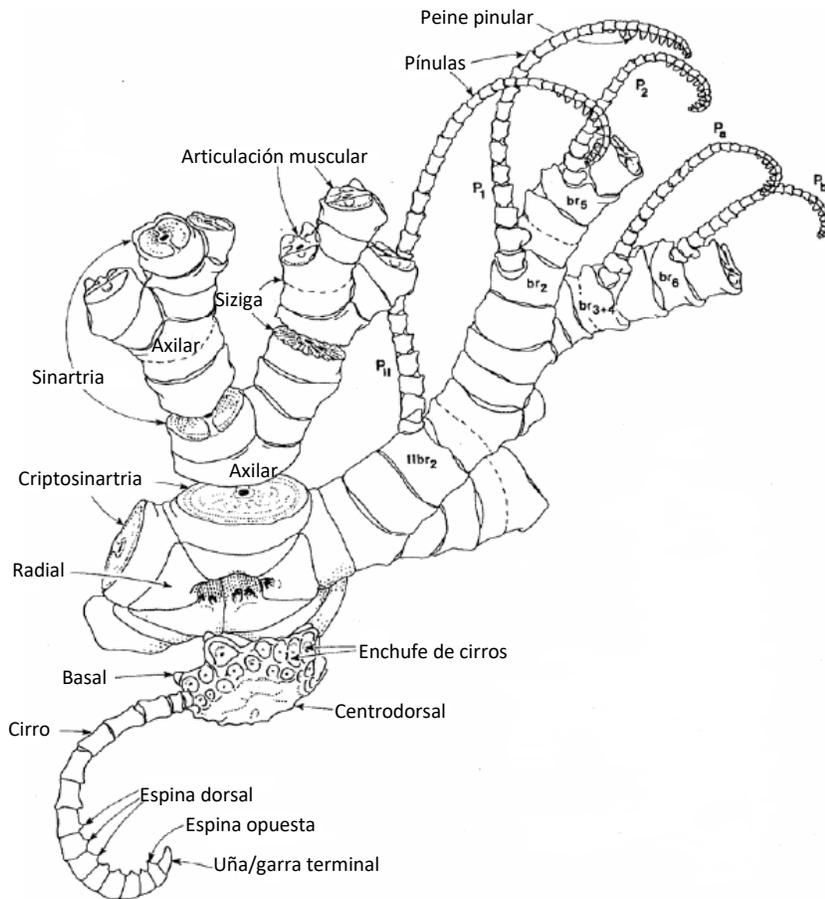


Figura 3. Morfología de un comastérido. Modificado de Messing 1997.

La familia Comasteridae A.H. Clark, 1908 se caracteriza por poseer una placa centrodorsal discoidal, pentagonal o en forma de estrella; cirros restringidos al margen de la placa centrodorsal (pocos o ausentes), las articulaciones de los cirros no presentan ornamentaciones; generalmente poseen 10 brazos, aunque pueden tener hasta 200; las series de división pueden ser de 2, 3 o 4 oscículos. Las pínulas orales son delgadas, en forma de flagelo y con numerosos segmentos cortos, los segmentos distales de estas pínulas presentan uno o un par

de láminas o dientes que forman una estructura en forma de peine.

Tabla 1. Nomenclatura usada para la identificación morfológica en crinoides. Las letras indican la parte del organismo descrita, mientras los números romanos o arábigos describen su posición o cantidad.

Abreviatura	Descripción	Ejemplo
<i>br</i>	Braquial	
<i>br_x</i>	Número arábigo en subíndice posterior a <i>br</i> indica número de oscículo	<i>br₂</i>
<i>Xbr_x</i>	Número romano precedente a <i>br</i> indica la serie de división	<i>IIbr₂</i>
<i>XbrX</i>	Número arábigo posterior a <i>br</i> indica serie de división completa, incluyendo el axilar	<i>IIbr2</i>
<i>+</i>	Indica articulación no muscular entre dos branquiales. Sizigas	<i>IIBr₂₍₃₊₄₎</i>
<i>XX-x</i>	Número romano indica número de cirros, números arábigos indican el número de segmentos de cada uno de los cirros	<i>XX 25-30</i>
<i>P</i>	Pínulas	
<i>P_x</i>	Número arábigo en subíndice indica las pínulas sucesivas en la parte externa del brazo	<i>P₂</i>
<i>P_x</i>	Letra en subíndice indica las pínulas sucesivas interiores	<i>P_b</i>

Las pínulas de la parte media y distal son generalmente muy espinosas. La boca es central o marginal y la papila anal es central o subyacente sobre el disco en la mayoría de los géneros (Benavides-Serrato et al. 2011).

Descripción de la especie

Comactinia meridionalis meridionalis L. Agassiz, presenta una placa centrodorsal discoidal o pentagonal, comparativamente más grandes que las de *Comactinia echinoptera*; tiene brazos de largo y fuerza similar, de 1.2 a 3.7 mm de ancho; el radio del diámetro basal es de 2.9 a 5.2mm; los cirros dispuestos en una fila marginal única, o raramente parcialmente doble, o en una fila marginal irregular, van de X-XXX, 8-17 (usualmente 9-12); el área polar normalmente lisa y plana, algunas veces ligeramente deprimida en el centro con rastros de radiación; líneas interradales (a menudo pareadas) o con crestas muy débiles (Messing 1978).

Comactinia meridionalis hartlaubi Messing 1978, presenta una placa centrodorsal grande y discoidal con un diámetro que varía entre los 4.0 y 6.6mm de longitud. Los cirros son grandes y robustos, usualmente van de XX-XXX, con 11-14 segmentos que pueden variar de 9 a 15; los cirros se encuentran muy juntos y son de anchura homogénea, con una longitud promedio de 18mm; las series de división y las bases de los brazos usualmente están estrechamente adosados de forma lateral; el intervalo entre sizigas es generalmente irregular y pueden ser de 3 a 7 branquiales (Messing 1978; Benavides-Serrato et al. 2011). Existen especímenes intermedios entre ambas subespecies (Messing, 1978).

Diagnosis

Comactinia meridionalis hartlaubi se diferencia de *C. meridionalis meridionalis* por ser más grande y robusta, tener brazos y cirros más largos y los segmentos de los cirros y de las pínulas más numerosos. Se caracteriza por habitar aguas mucho más profundas entre 200 y 400m, esta es la razón del incremento en su tamaño, además *Comactinia meridionalis meridionalis* presenta peines generalmente en las pínulas P1 y P2 (Messing, 1978).

Tabla 2. Diagnósis de subespecies de *Comactinia meridionalis* (adaptado de Messing 1978; Benavides-Serrato et al. 2011)

<i>Comactinia meridionalis hartlaubi</i>	<i>Comactinia meridionalis meridionalis</i>
Subespecie grande y robusta	Subespecie pequeña y delgada
Placa centrodorsal grande y discoidal de hasta 6mm de diámetro en individuos grandes.	RR bien expuestos u ocultos, en este caso solo son visibles en los ángulos interradales.
Cirros generalmente XX-XXX, 11-14 (ocasionalmente de 9-15).	
Cirros muy juntos y anchura homogénea de hasta 18mm de longitud.	Cirros de hasta 11mm de longitud, anchura homogénea o ligeramente más anchos en la parte distal. Penúltimo segmento usualmente más ancho que largo.
LW (relación entre la longitud media y el ancho proximal medido dorsoventralmente) del cirral más grande usualmente 1.3 a 1.5	LW del cirral más grande usualmente 1.5 a 1.7
Serie de división y bases de brazos generalmente estrechamente adosados lateralmente.	Serie de división generalmente no están estrechamente adosadas.
Intervalo entre sizigas es irregular, de 3 a 7 branquiales.	Intervalos entre sizigas usualmente de 3 branquiales.
Segmentos branquiales de las pínulas orales cortos y rómbicos o triangulares (aserrado).	
Esquinas dorsales de los segmentos branquiales de las pínulas orales a veces muy prominentes y espinosas.	Los segmentos proximales (excepto los dos basales) de las pínulas proximal y media del brazo hasta la P20 presentan anillo suave de espinas, que pueden formar lateralmente un borde espinoso, el disco es desnudo o puede presentar nódulos.
Bordes dorsales distales de los branquiales con espinas.	
Dientes de los peines redondeados, separados entre ellos y generalmente muy débiles.	Dientes del peine redondeados o triangulares, cortos o altos.
P ₃ siempre y P ₄ algunas veces presentan peines.	P ₁ , P ₂ y algunas veces P ₃ presentan peines.

Ecología

Tabla 3. Diferenciación ecológica entre las subespecies de *Comactinia meridionalis* (adaptada de Messing 1978; Benavides-Serrato et al. 2011).

<i>Comactinia meridionalis hartlaubi</i>	<i>Comactinia meridionalis meridionalis</i>
Aferrada al sustrato duro con brazos extendidos y pínulas dispuestas y orientadas en un solo plano	Frecuentemente escondida entre grietas o en la parte baja de los corales en zonas arrecifales
Entre 58 y 373m de profundidad	Entre 46 y 201m de profundidad, aunque puede estar entre los 3 y 508m

Antecedentes

La mayor parte de los estudios de la clase Crinoidea usando ADN, se han enfocado en temas filogenéticos, intentando dilucidar especies crípticas y brindar un orden más parsimonioso a la organización de la clase (Cohen et al. 2003; Hemery et al. 2013; Roux et al. 2013; Rouse et al. 2013). En México, la clase Crinoidea es la menos estudiada del phylum Echinodermata (Solís-Marín et al. 2013). Y debido a las condiciones del hábitat de la mayoría de los integrantes de este grupo, se hace difícil su recolecta, y con ello la realización de estudios taxonómicos, ecológicos, entre otros.

Uno de los últimos trabajos en México sobre el tema es el de Valdés-De Anda (2011), en el cual se abordan temas tanto taxonómicos como biogeográficos de los crinoides. Este trabajo, incrementó de forma considerable el conocimiento actual de este grupo, pues generó un listado de especies de crinoides en aguas mexicanas, así como una síntesis taxonómica completa de los mismos. Sin embargo, hace falta incorporar estudios moleculares al acervo de información actual sobre crinoides mexicanos, ya que ayudaría a esclarecer relaciones filogenéticas, así como la ecología de los mismos.

Por su parte, para el género *Comactinia* el último trabajo fue el realizado por Messing en 2003, en donde se agregó una tercer especie a este género. Y para la especie *Comactinia meridionalis* el último trabajo fue elaborado por Messing en 1978, en donde se definen las características morfológicas de la especie. En este último trabajo, también se sugieren variaciones en el tamaño de los individuos, la longitud y grosor de los brazos, así como la variación en el número de cirros, como resultado de estrés ambiental. Por ejemplo, propone una mayor longitud, mayor número de cirros y brazos más cortos, en zonas más superficiales y con mayor energía, para beneficiar el anclaje que pueden brindar los primeros y menor susceptibilidad de romperse de los segundos; existiendo también intergraduación entre estas formas.

Por otro lado, en el área de distribución de la especie *Comactinia meridionalis*, se ha propuesto que la recirculación en algunas áreas, como sucede en el giro Mesoamericano (Richards et al. 2015) (parte de la corriente de Yucatán) y en el de giro Colombia-Panamá podrían generar retención de larvas (Francisco-Ramos y Arias-González 2013; Richards et al. 2015), fungiendo como un factor restrictivo para el flujo génico de equinodermos (Black y Moran 1991; Black 1993; Richards et al. 2015) u otros grupos (Sponer y Roy 2002; M. Waters y Roy 2003; J. M. Waters y Roy 2003; Perrin et al. 2004); esto sin olvidar el efecto que podrían tener los patrones de movimiento vertical de las

larvas (Paris et al. 2007) y los cambios en la circulación marina y nivel del mar durante los cambios climáticos del Pleistoceno (Richards et al. 2015).

Dada la extensión del hábitat y espectro batimétrico, *Comactinia meridionalis* permite abordar interrogantes como: ¿cuál es la distribución de su variación genética a lo largo de su área geográfica?, ¿existen barreras físicas para la dispersión de los miembros de la especie?, ¿es posible que haya flujo genético a lo largo del amplio espectro batimétrico de la especie? Estas preguntas se presentan para ser abordadas desde un punto de vista filogeográfico que nos ayuda a hacer inferencias de patrones históricos y ecológicos, generando con ello información sobre barreras geográficas e historia evolutiva de la especie.

Hipótesis

Debido a las condiciones latitudinales, se espera encontrar poblaciones separadas genéticamente, sobre todo entre los hábitats tropical y subtropical y a lo largo del marcado gradiente batimétrico en el que se distribuye *Comactinia meridionalis*. Se espera asimismo observar estas barreras a la dispersión en un mapa de predicción de condiciones de hábitat. Estas se ubicarían en regiones que limitan el movimiento larvario debido al secuestro ocasionado por corrientes circulares.

Objetivo General

- Evaluar la existencia estructura y fragmentación filogeográfica, así como los mecanismos físicos y abióticos causantes de la misma en *Comactinia meridionalis* L. Agassiz, 1865 (Echinodermata: Crinoidea).

Objetivos particulares

- Determinar si las subespecies de *Comactinia meridionalis* tienen diferenciación a nivel genético.
- Cuantificar los niveles de variación genética y determinar si existe estructura geográfica de las poblaciones de *Comactinia meridionalis* utilizando información de marcadores nucleares y mitocondriales.
- Reconocer si existen barreras batimétricas en la dispersión de la especie.

Método

Área de estudio

El Golfo de México es un sistema ambiental de los más diversos y ricos de la tierra. Geológicamente es una provincia distributiva integrada por un área sedimentaria del orden de $5.40 \times 10^6 \text{ km}^2$, incluye 159,980 km de ríos entre los que sobresalen dos mayores sistemas fluviales de Norteamérica: Mississippi, en los Estados Unidos; y Grijalva-Usumacinta en México (Toledo-Ocampo 2005).

Las aguas territoriales mexicanas del Golfo de México son las áreas que presentan mayor diversidad de las clases Crinoidea, Asteroidea, Ophiuroidea y Echinoidea. El 86% de las especies de crinoides reportados para México se concentran en el Banco de Campeche, en donde se ubica cerca del 75.8% del total de las especies (Solís-Marín et al. 2013). El Golfo de México, con respecto al resto de las aguas marinas nacionales, ha sufrido un mayor impacto de las actividades humanas (Durán-González et al. 2005).

El Mar Caribe es una cuenca semicerrada del oeste del Océano Atlántico. Se encuentra delimitada por las costas de América Central y Sudamérica por dos lados, y por la cadena de islas de las Antillas por los otros dos lados. Es un área de aproximadamente $2,754,000 \text{ km}^2$ con cerca de 13,500 km de línea costera. Hacia el este y noreste, la cadena estrechamente espaciada de islas, bancos, y diques del arco de Islas Antillas separa al Caribe del Océano Atlántico, y actúa como un tamiz para la entrada de aguas del Atlántico. Por el noroeste el Caribe se encuentra ligado al Golfo de México a través del Canal Yucatán (Miloslavich et al. 2010).

El piso marino del Caribe se encuentra dividido en cinco cuencas (Granada, Venezuela, Colombia, Cuencas de Yucatán y la depresión de Caimán) separadas unas de otras por crestas marinas y diques. La mitad de las aguas del Mar Caribe tienen una profundidad mayor a 3,600m. La actividad volcánica y temblores son comunes, al igual que los huracanes, la mayoría de los cuales se originan en el Atlántico Central. La corriente caribeña entra por la esquina sureste de la cuenca, y aumenta ligeramente su velocidad conforme fluye del oeste al noroeste en el Golfo de México a través del Canal de Yucatán, donde se forma la Corriente del Golfo. Las aguas del Caribe son principalmente claras y cálidas ($22\text{--}29 \text{ }^\circ\text{C}$), y la amplitud de marea es muy baja (0.4m) (Miloslavich et al. 2010).

En el Mar Caribe Mexicano, la fauna de crinoides no es tan diversa como en el Golfo de México, pero la diversidad de ecosistemas permite el desarrollo del 45% de los comatúlidos y el 23% de los lirios

de mar reportados para México. El 84% de las especies de crinoides que habitan el Caribe se comparten con el Golfo de México (Solís-Marín et al. 2013).

Obtención de muestras

Se utilizó material biológico de 81 puntos de muestreo ubicados a lo largo de la distribución de la especie; cada uno de estos puntos posee un número de representantes que varía de 1 a 10 individuos. Para la realización de los análisis de morfometría se tomaron las siguientes medidas de cada individuo: 1) placa centrodorsal: diámetro, altura; 2) cirros: longitud media, ancho proximal, ancho distal, número de segmentos, LW (relación entre la longitud media y el ancho proximal medido dorsoventralmente) del cirral más grande; 3) brazos: número, diámetro en Br2(3+4), largo promedio, número “total de sizigas” e intervalos, número de segmentos branquiales; 4) pínulas: largo P1, diámetro P1 en base, largo P8, diámetro en base P8, largo P21, diámetro en base P21 y forma de dientes.

Los acervos utilizados se encuentran resguardados de la siguiente forma: 68 puntos de muestreo se resguardan en el National Museum of Natural History, Smithsonian Institution (Washington, DC, EUA) y los 13 restantes en la Colección Nacional de Equinodermos “Dra. Ma. Elena Caso” del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, UNAM (Ciudad de México, México). Conformando así, un total de 158 individuos utilizados para datos morfométricos y de 117 de ellos se obtuvieron los datos genéticos.

Identificación de la especie

La identificación de la especie se realizó según la caracterización morfológica de Messing (1978): cirros pequeños (Figura 4), si acaso, más anchos distalmente que proximalmente; peine presente (Figura 5. Izq) en P1 y P2, a veces en P3 y P4; dientes redondeados o triangulares, fuertes o débiles (Figura 5. Izq); carina ausente; pinulares proximales de pínulas proximales con un borde débil de espinas que podría ser producido lateralmente por una brida espinosa (Figura 5. Der); pinulares proximales a veces rómbicos dándole a la pínula un fuerte perfil aserrado; borde dorsal distal de los branquiales espinosos; color blanco, amarillo, canela o café (a veces manchado de púrpura por las esponjas). Los especímenes considerados para los análisis entre subespecies fueron aquellos identificados previamente por C. Messing, D. L. Pawson y D. L. Meyer, aquellos no asignados previamente no fueron considerados.



Figura 4. *Comactinia meridionalis*. Cirro visto desde la parte inferior.



Figura 5. *Comactinia meridionalis* Izq. Peines pinulares en pínula. Der. Oscículos pinulares con espinas en pínula.

Obtención de datos genéticos

La extracción de ADN se realizó mediante el buffer CTAB y fenol-cloroformo aunado a dos kits comerciales (Qiagen DNeasy Blood y Tissue; y Qiagen Investigator). Posteriormente se realizó la amplificación de las regiones 16S, COI e ITS (ITS1-5.8S-ITS2) (Tabla 4). El volumen de PCR usado fue de 15 μ l, conteniendo 2 μ l de ADN genómico extraído, 3 μ l de Buffer de PCR 1x, 0.5 μ M de dNTP, 0.4 μ M de cada primer y 1U de GoTaq® ADN polimerasa (Promega Corporation). El termociclado de PCR se realizó de la siguiente manera: para 16S se usó 94°C de calentamiento inicial por 4 minutos, seguido por 40 ciclos de 94°C por 40 segundos, 55°C por 40 segundos, 72°C por 1 minuto, y una extensión final de 72°C por 10 minutos; mientras que en ITS 1 y 2 la temperatura de alineación fue de 57°C por 40 segundos y finalmente para COI se usaron 95°C de calentamiento inicial por 5

minutos, seguido por 35 ciclos de 94°C por 1 minuto, 50°C por 45 segundos, 72°C por 45 segundos, y una extensión final de 72°C por 5 minutos. La comprobación para el éxito de PCR se realizó mediante electroforesis en geles de agarosa.

La secuenciación se realizó mediante el método Sanger en el National Museum of Natural History, Smithsonian Institution (Washington, DC, EUA), y en Macrogen (Seúl, Corea).

Tabla 4. Primers utilizados para la amplificación de ADN de *Comactinia meridionalis*.

Primer	Secuencia 5' - 3'	Referencia
ITS1 (ITS1-5.8S-ITS2)	F: GGGATCCGTTTCCGTAGGTGAACCTGC	Cohen et al. 2003
	R: GGGATCCATATGCTTAAGTTCAGCGGGT	Presente estudio
ITS2 (ITS1-5.8S-ITS2)	F: GCTGCGTAACTAATGTGAATTGC	Presente estudio
	R: GGGATCCATATGCTTAAGTTCAGCGGGT	Cohen et al. 2003
COI	F: ACRAATCATAAGGATATWGGDACTT	Hemery et al. 2013
	R: TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Presente estudio
16S	F: GACGAGAAGACCCTGTGGAGC	Cohen et al. 2003
	R: ACGTAGATAGAACTGACCTG	Cohen et al. 2003

La calidad de las secuencias obtenidas se evaluó con los programas Phred (Ewing et al. 1998), Phrap y Consed (Gordon et al. 1998). Posteriormente se realizó la edición manual de las secuencias con el programa Bioedit v7.2.5 (Hall 1999) y la alineación se realizó con MUSCLE v3.8.31 (Edgar 2004). Los fragmentos mitocondriales se concatenaron entre sí, así como los nucleares con el programa DnaSP v5.10 (Librado y Rozas 2009). Los datos nucleares fueron procesados con la opción de reconstrucción de haplotipos mediante PHASE en el programa DnaSP v5.10 usando 1000 iteraciones y un *Burn-in* de 100.

Análisis de datos

Distribución potencial

Para realizar la identificación de sitios potenciales de distribución de *Comactinia meridionalis*, se identificaron las variables ambientales de las zonas de distribución de la especie, con base en los 144 los puntos de presencia registrados en las colecciones de donde se tomaron las muestras. Estas además incluyeron la latitud y la longitud. La base de datos fue depurada, eliminando aquellos registros que correspondían a zonas terrestres. Se utilizó el set de datos de Bio-Oracle (Tyberghein

et al. 2012), que cuenta con 23 *rasters* de variables bióticas, geofísicas y climáticas de superficie marina obtenidas *in situ* y mediante monitoreo satelital, fueron consideradas todas, menos aquellas relacionadas con la cobertura de nubes. Las capas fueron cortadas y luego se tomaron los registros únicos por celda (120 registros únicos de los 144 puntos de presencia iniciales con cobertura de 1km) en R (The R Core Team 2016). Finalmente se realizó el Análisis de Componentes Principales (PCA) para eliminar las variables no informativas; se eligieron 4 componentes principales que explicaron el 86% de la varianza, posteriormente se descartaron las variables correlacionadas mediante una matriz de correlación utilizando el método *Spearman* (The R Core Team 2016), las variables resultantes se nombran en la sección de resultados.

MaxEnt es una aproximación para realizar modelos de distribución potencial, que utiliza información de presencias (Elith et al. 2011). Este modelo plantea una hipótesis en donde el mejor enfoque para determinar una distribución con probabilidad desconocida, es maximizando la entropía usando restricciones derivadas de variables ambientales (Merow et al. 2013). Los modelos fueron corridos con 80% de los datos y validados con el 20% restante. Como herramientas de validación se usaron las curvas ROC (*Receiver Operating Characteristic*) y AUC (Area Under the Curve) que ofrece MaxEnt.

Dada la amplia diferenciación ambiental entre la superficie y el fondo marino, el siguiente paso fue la obtención de bases de datos del fondo marino en las regiones del Golfo de México y Mar Caribe, provenientes de Ocean Data View (ODV) (Schlitzer 2016), estas variables fueron 1) profundidad, 2) temperatura, 3) salinidad y 4) oxígeno disuelto. Con estos datos, se crearon las capas para cada variable mediante el método de interpolación *Spline with barriers* en ArcMap v10.2.1 (ESRI 2013).

Se repitieron los PCA incluyendo estas nuevas variables, para determinar los componentes que explicaron el 85% de la varianza, descartando nuevamente aquellas que estuvieran correlacionadas. Una vez más se corrió el análisis de MaxEnt con las capas de BioOracle y ODV seleccionadas y ajustadas a 1Km de tamaño de pixel. Se utilizó el 10 percentil de los datos de presencia para los modelos finales.

Morfometría

Para la evaluación de patrones morfológicos y variables correlacionadas, se llevaron a cabo PCAs y análisis de correspondencias canónicas (CCA por sus siglas en inglés) en el software R (The R Core Team 2016). A diferencia del primero, el segundo permite encontrar correlaciones entre variables

dependientes e independientes (organismo y su ambiente). Los grupos de variables son combinados para producir la más alta correlación entre grupos (Keskin y Yasar 2007). Para nuestro caso, los datos ambientales obtenidos de las capas usadas para los análisis con MaxEnt, fueron usados en la búsqueda de patrones ambientales que pudieran contribuir a la variación morfológica en la especie.

Estructura y diversidad genética

Para evaluar la distribución de la variación genética y agrupar cada coordenada geográfica, se utilizó el programa Bayesian Analysis of Population Structure (BAPS) (Corander et al. 2003), que hace agrupaciones espaciales de grupos y de individuos usando información geográfica y genética, para cada grupo de marcadores (nucleares y mitocondriales). Posteriormente se hicieron Análisis de Varianza Molecular (AMOVA por sus siglas en inglés) con Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier et al. 2006) para los distintos clusters arrojados por BAPS y se eligió el grupo que explicaba mayor diferenciación entre los clusters. También se realizó un AMOVA entre las subespecies para identificar en qué nivel jerárquico se ubica una mayor diferenciación, cada uno de ellos se hizo con 1,023 permutaciones para conocer la significancia de los índices de fijación. El valor de F_{CT} fue calculado con Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier et al. 2006); este índice mide la proporción de varianza genética debida a la diferencia entre grupos de poblaciones (Excoffier et al. 2006).

La variación genética se estimó a nivel de especie y para cada cluster sugerido por BAPS con el programa DnaSP v5.10 (Librado y Rozas 2009). Se determinaron datos de proporción de sitios nucleotídicos segregantes (S), número de haplotipos (h), diversidad haplotípica (Hd) y diversidad nucleotídica (Pi) por grupo. Este último nos indica el número promedio de diferencias nucleotídicas por sitio entre dos secuencias y su varianza de muestreo.

Se realizaron redes de haplotipos para ambos grupos de marcadores moleculares, usando el programa TCS v1.21 (Clement et al. 2000), incluyendo a los grupos externos para dar polaridad a la red. Dado que la secuencia mitocondrial del grupo externo es más corta, se usó la opción de omisión de gaps, y se permitieron hasta 35 pasos mutacionales entre los haplotipos, con el fin de incorporar el grupo externo. Los grupos externos fueron *Comactinia echinoptera* (GenBank: número de acceso KJ875032.1 16S ribosomal RNA gene; número de acceso KJ874990.1 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene; número de acceso KJ875255.1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence) y *C. titan*. (GenBank: número de acceso KJ875257.1 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence). Para

la selección de los modelos evolutivos, se utilizó el programa JModelTest (Posada 2008), utilizando el Criterio de Información de Akaike (AIC por sus siglas en inglés).

Demografía histórica

Se realizó una prueba de *mismatch* con el programa Arlequin v3.5.2.2 (Excoffier et al. 2006) para toda la especie, este análisis determina la distribución de frecuencias de diferencias pareadas. La distribución obtenida por esta prueba suele ser multimodal en poblaciones que se encuentren en equilibrio demográfico, y unimodal en poblaciones que han pasado por una expansión demográfica reciente (Rogers y Harpending 1992) . Los valores de significancia de la prueba se obtuvieron mediante el índice de rugosidad (*raggedness index*), que cuantifica la suavidad de la distribución de las diferencias pareadas, para la significancia de éste se efectuaron 10,000 permutaciones.

Para complementar los análisis anteriores, se realizaron estimaciones de neutralidad con en el programa DnaSP v5.10 (Librado y Rozas 2009) como la F de Fu y Li y la D de Tajima (Tajima 1989); esta última compara dos estimadores de θ (θ_w y π), que bajo neutralidad y equilibrio demográfico deberían ser iguales. La significancia estadística para ambas pruebas se determinó mediante simulaciones de coalescencia con 1000 repeticiones.

Aislamiento por distancia

Para evaluar la relación de la distancia geográfica, ambiental y la diferenciación genética de los individuos, se realizó un Análisis de Redundancia Basada en la Distancia (dbRDA por sus siglas en inglés) (Legendre y Anderson 1999). Este análisis multivariado permite probar la influencia de distintos factores en valores en una matriz de disimilaridad linealmente dependiente, mediante pruebas de permutaciones, concluyendo que tanta variación es explicada por un grupo de datos de las variables consideradas (Legendre y Anderson 1999). Este análisis fue realizado en el paquete Vegan (Oksanen et al. 2013) en R (The R Core Team 2016), usando una matriz de distancias de F_{ST} (F_{st} pareadas para mitocondria y núcleo de forma separada), evaluado contra la información ambiental de las capas usadas para los modelos de MaxEnt y las coordenadas geográficas de los individuos. La profundidad de presencia de estos individuos fue agregada como una variable ambiental. La significancia del análisis se obtuvo mediante 1000 permutaciones y los valores de significancia fue de 0.1 y 0.05 para mitocondria y núcleo respectivamente.

Resultados

Modelado de nicho ambiental

Se obtuvieron dos modelos de nicho ambiental. El primero fue obtenido con las capas de BioOracle (de superficie), el segundo incluyó las capas creadas con las bases de datos de ODV (fondo) y BioOracle. Ambos modelos tuvieron un valor elevado de AUC = 0.981 (desviación estándar 0.002) y 0.986 (DS 0.001) respectivamente, lo que indica un buen desempeño de ambos modelos.

En la Tabla 5, se presentan las variables explicativas por modelo por orden de importancia de permutación; es decir, la variable que al ser agregada o removida genera mayor variación en el modelo predicho.

Tabla 5. Importancia de permutación de las variables para los modelos de predicción de hábitat de *Comactinia meridionalis*.

MODELO CON CAPAS DE BIOORACLE	MODELO CON CAPAS DE BIOORACLE Y ODV
Fosfato	Profundidad (ODV)
Calcita	Fosfato
PAR (radiación fotosintética activa) media	Temperatura de fondo (ODV)
Oxígeno disuelto	Oxígeno de fondo (ODV)
Clorofila A media	PAR media
Silicato	PAR max
Salinidad	Calcita
PAR máxima	Salinidad de fondo (ODV)
	Oxígeno disuelto

La figura 6 muestra los modelos de distribución de *Comactinia meridionalis* al presente. Podemos observar que el área predicha por el modelo usando solamente capas de superficie es de mayor tamaño. Lo que posiblemente indica una sobrepredicción a pesar del alto valor de AUC que presentó. Para el resto de los análisis se usó la información obtenida del segundo modelo, ya que tiene más sentido biológico utilizar información del fondo marino que es en donde la especie habita.

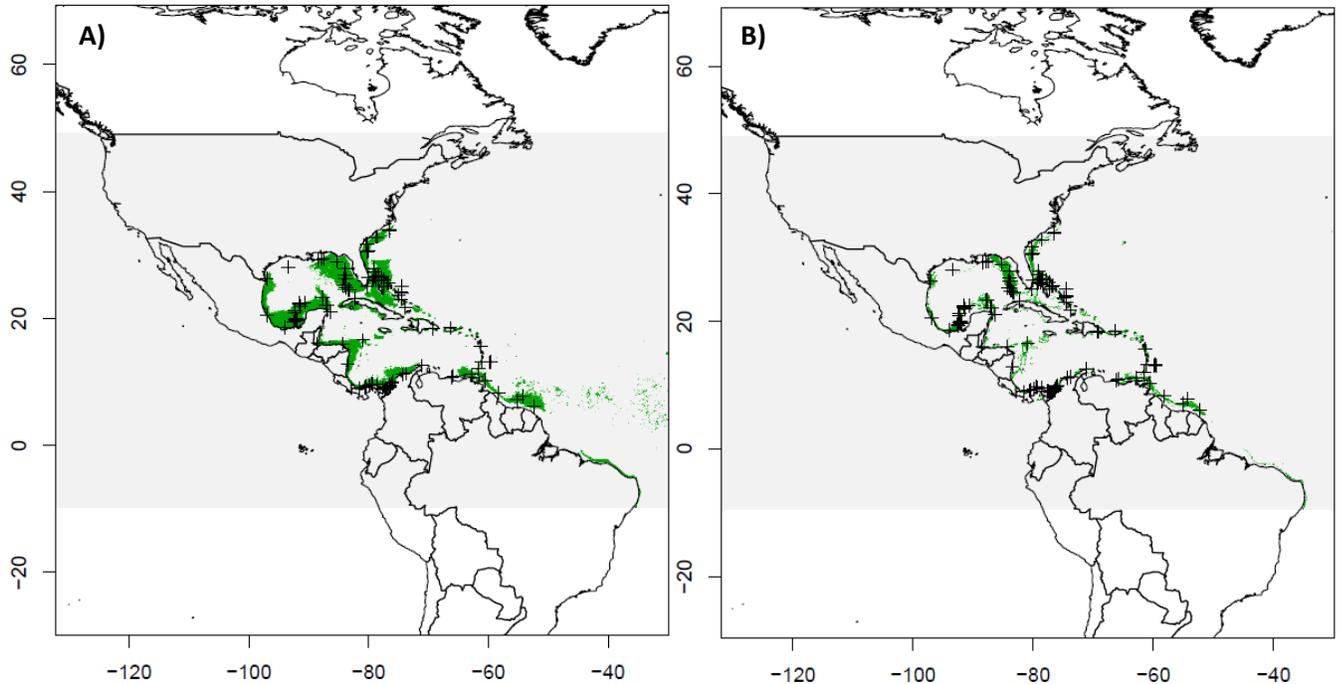
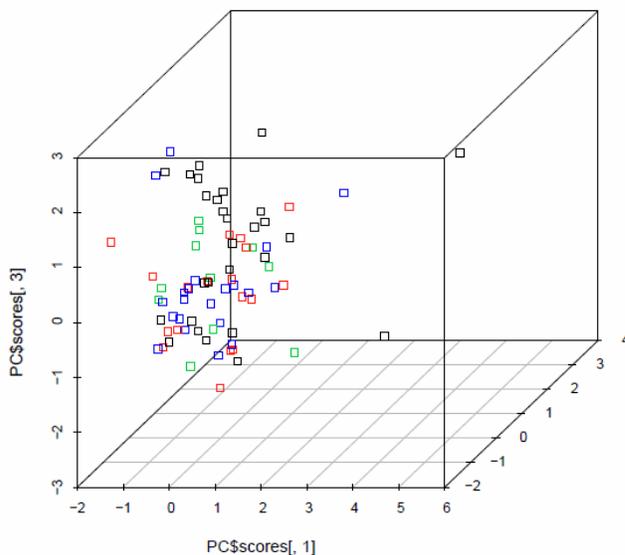


Figura 6. Distribución potencial (área verde) de *Comactinia meridionalis*. A) Generado con capas de BioOracle y B) datos de BioOracle y ODV. Las cruces en ambos mapas indican los sitios de ocurrencia reportados.

Es importante considerar que la falta de individuos reportados en el área oeste y noroeste del Golfo de México, puede deberse a un sesgo en la muestra.

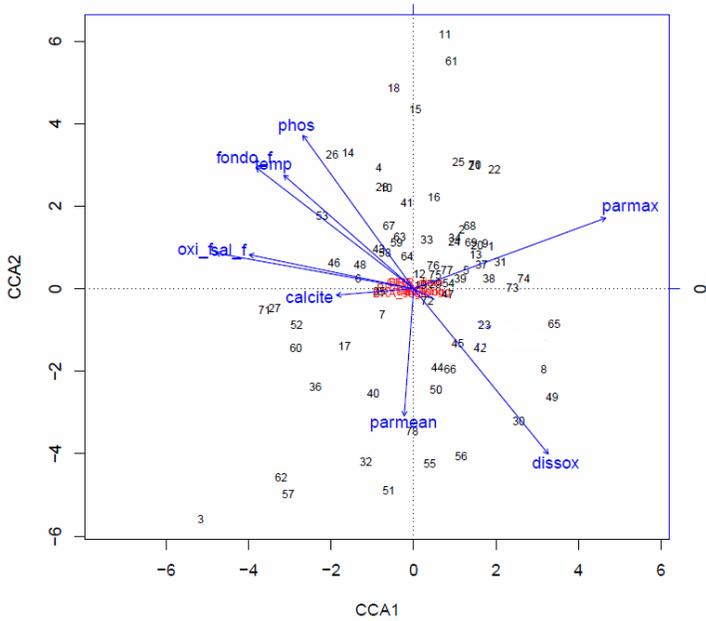
Análisis de morfometría

Se obtuvieron datos morfométricos de 158 individuos de 81 puntos geográficos, con ellos se realizó un análisis de componentes principales para la búsqueda de variables correlacionadas, en donde se



pudo observar que no hay ningún patrón de estructuración morfológica en relación a la región geográfica que habitan los individuos (Gráfica 1). Los tres componentes usados para graficar explican el 82% de la varianza total.

Gráfica 1. Análisis de componentes principales para las variables morfológicas de *Comactinia meridionalis*. Coloreadas por región geográfica. Sudamérica (negro), Antillas (rojo), Golfo de México (verde) y Florida (azul).



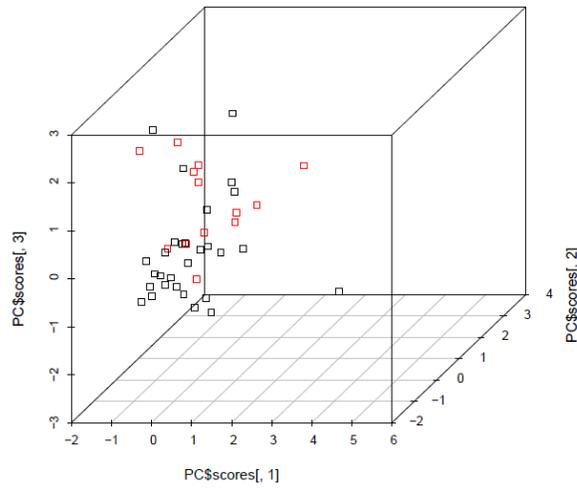
Gráfica 2. Análisis de correspondencia canónica. Variables morfológicas vs variables ambientales para *Comactinia meridionalis*. Fosfato (phos), radiación fotosintética activa máxima (parmax), y media (parmean), oxígeno disuelto (dissox), calcita (calcite), oxígeno de fondo (oxi_f), salinidad de fondo (sal_f), temperatura de fndo (temp), profundidad (fondo_f).

Por su parte, el análisis de correspondencias canónicas para los individuos muestreados tampoco indicó ninguna afinidad con alguno de los parámetros ambientales usados (Gráfica 2), revelando así que la variación morfológica tampoco se correlaciona con las variables ambientales, independientemente de la zona geográfica en que se encuentren.

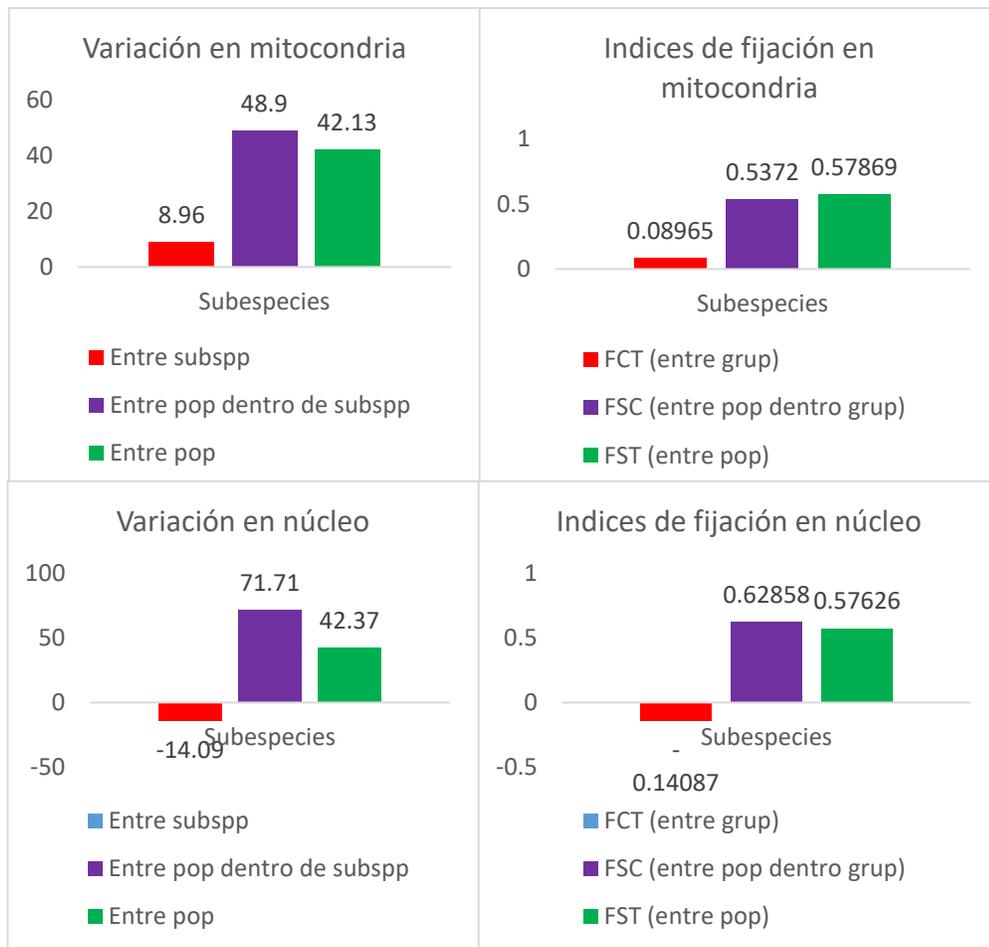
Diferenciación entre subespecies

Dada la existencia de subespecies validadas, se realizó un PCA para observar la existencia de algún comportamiento de los caracteres morfológicos respecto a la diferenciación entre subespecies (Gráfica 3), pero no se encontró asociación con ningún patrón.

Los AMOVA realizados entre subespecies (Gráfica 4), indicaron que la variación genética tanto a nivel nuclear como mitocondrial, se encuentran principalmente entre las poblaciones dentro de cada subespecie y dentro de las poblaciones, en lugar de entre las subespecies mismas.



Gráfica 3. PCA de diferenciación entre subespecies *Comactinia meridionalis hartlaubi* (rojo) y *C. meridionalis meridionalis* (negro).



Gráfica 4. AMOVAs entre las dos subespecies.

Estructura y diversidad genética

Se obtuvieron secuencias de 117 individuos, sin embargo el éxito de secuenciación fue diferente para cada gen, logrando secuenciar 88 individuos para el gen 16S, 76 para COI, 95 para ITS1 y 98 para ITS2. Los análisis posteriores se trabajaron en dos grupos: secuencias mitocondriales, en un concatenado de 767 pb para 60 individuos; y secuencias nucleares en un concatenado de 780 pb para 87 individuos.

Tabla 6. Porcentaje de la varianza explicada en un AMOVA e índices de fijación para diferentes agrupaciones genéticas de *Comactinia meridionalis* a partir de datos mitocondriales.

	Porcentaje de variación				Índices de fijación		
	K2	K3	K4		K2	K3	K4
Entre grupos	29.45	37.78	50.8	<i>FCT (entre grupos)</i>	0.29446	0.37777	0.50797
Entre pop dentro de grupos	40.06	31.7	19.76	<i>FSC (entre pop dentro grupos)</i>	0.56783	0.50947	0.40168
Entre pop	30.49	30.52	29.44	<i>FST (entre pop)</i>	0.69508	0.69478	0.70561

Tabla 7. Porcentaje de la varianza explicado en un AMOVA e índices de fijación para la mejor agrupación genética para *Comactinia meridionalis* a partir de datos nucleares.

	Porcentaje de variación		Índices de fijación
	K2		K2
Entre grupos	66.01	<i>FCT (entre grupos)</i>	0.66007
Entre pop dentro de grupos	6.54	<i>FSC (entre pop dentro grupos)</i>	0.19253
Entre pop	27.45	<i>FST (entre pop)</i>	0.72552

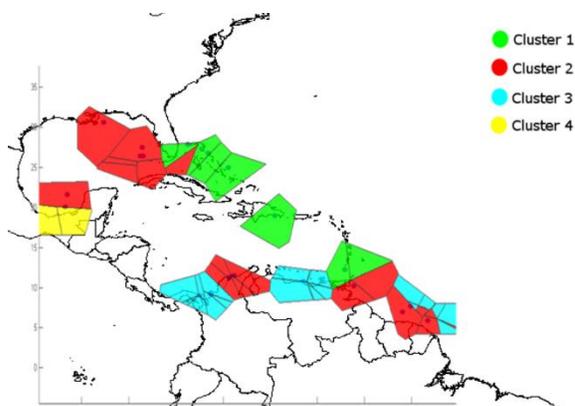


Figura 8. Mapa de distribución de los clusters genéticos mitocondriales generado con BAPS para *Comactinia meridionalis*.

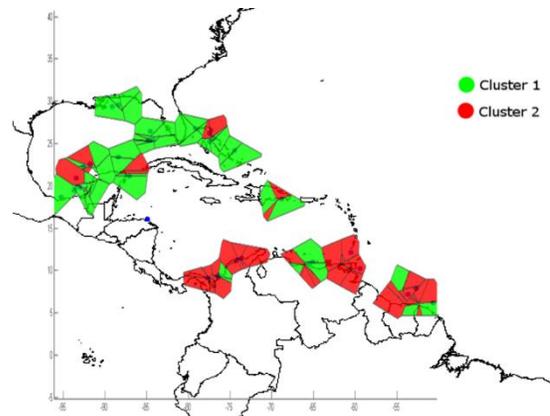
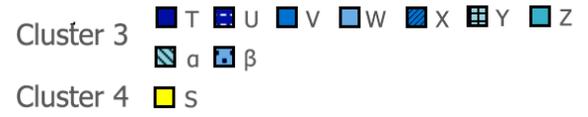
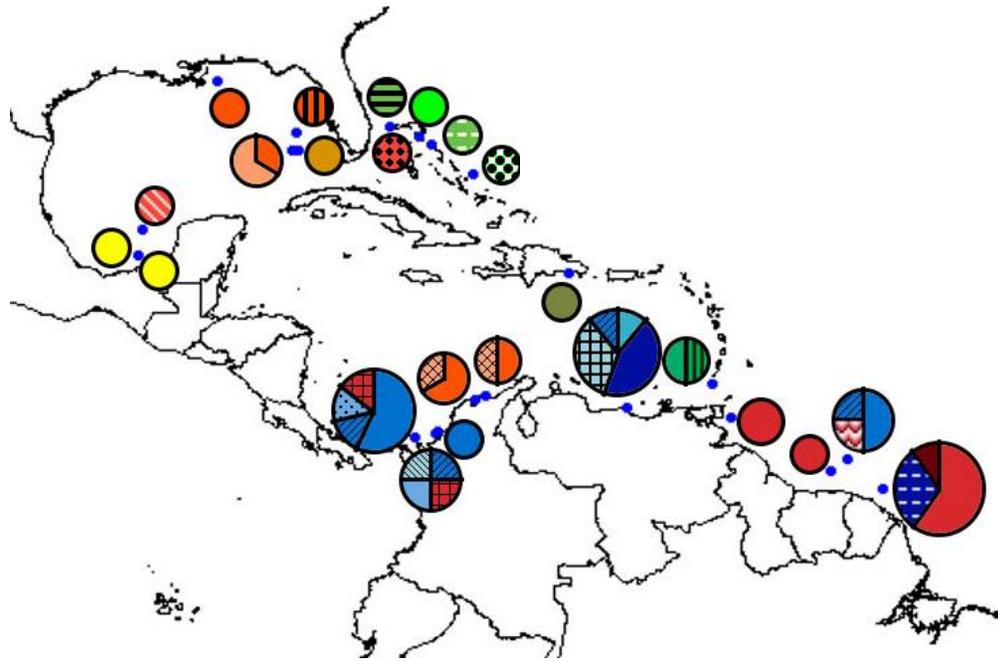


Figura 7. Mapa de distribución de los clusters genéticos nucleares generado con BAPS para *Comactinia meridionalis*.

A)



B)

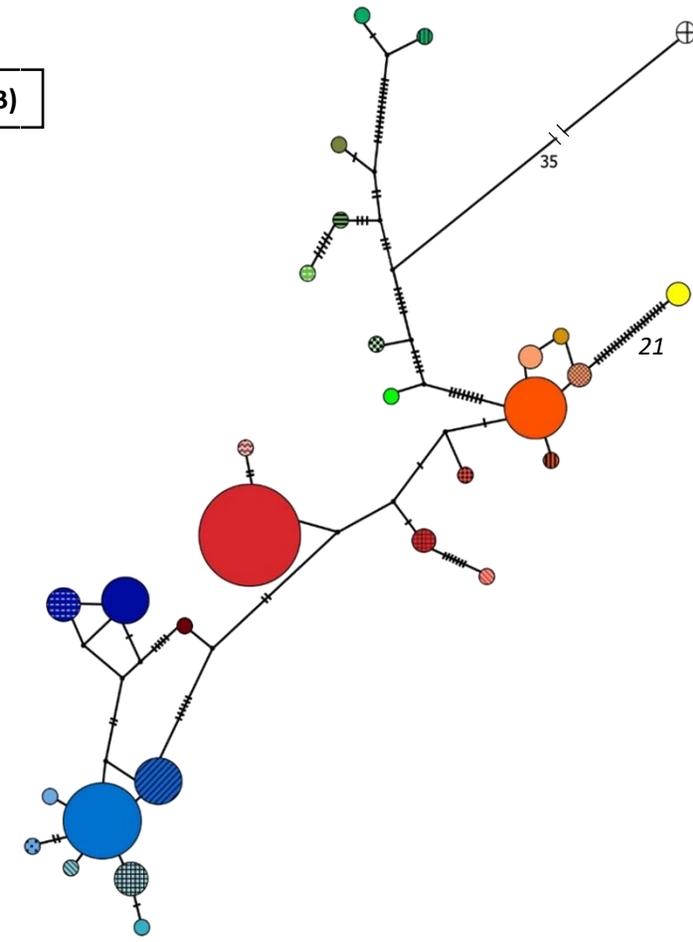
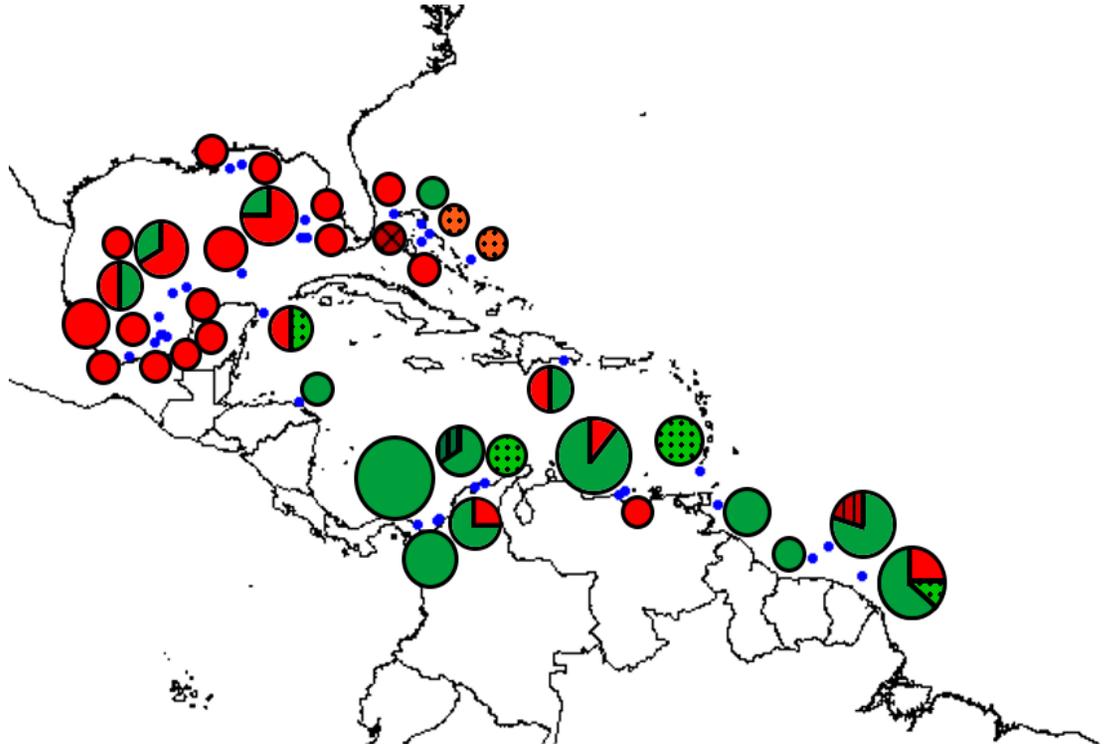
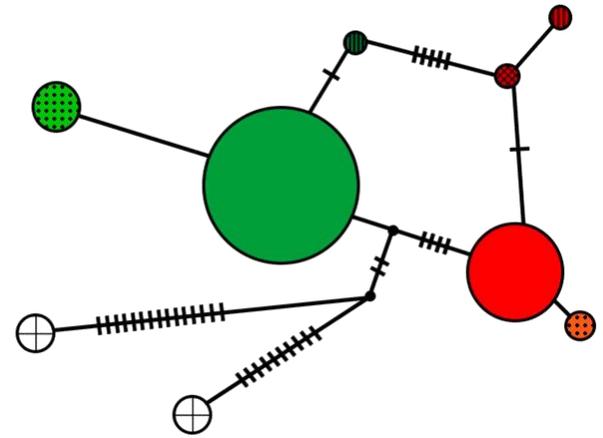


Figura 9. A) Mapa de la distribución geográfica de los haplotipos de *C. meridionalis*. B) Red de haplotipos mitocondriales (16S y COI). Los colores corresponden con los Clusters obtenidos con BAPS, las líneas transversales indican los pasos mutacionales, al igual que los números en cursiva; los círculos corresponden a los haplotipos y su tamaño indica la abundancia para el mismo. El círculo en blanco es el haplotipo de *C. echinoptera* y es separado por 35 pasos mutacionales.

A)



B)



Cluster 1 ■ A ■ B ■ C
Cluster 2 ■ D ■ E ■ F ■ G

Figura 10. A) Mapa de la distribución geográfica de los genotipos nucleares de *Comactinia meridionalis*. B) Red de haplotipos nucleares (ITS1 e ITS2). Los colores corresponden a los clusters de BAPS, las líneas transversales indican los pasos mutacionales; los círculos corresponden a los haplotipos y su tamaño indica la abundancia para el mismo. Los haplotipos en blanco corresponden a *C. echinoptera* y *C. titan*.

El AMOVA realizando usando los clusters sugeridos por BAPS para las secuencias mitocondriales, indicó que la partición en cuatro grupos (Figura 7) es la que maximiza la diferenciación entre grupos (F_{CT}). Los resultados de los niveles jerárquicos analizados (entre grupos, entre poblaciones dentro de grupos y entre poblaciones/coordenadas geográficas) son mostrados en la tabla 6.

En los marcadores mitocondriales observamos la fragmentación de la especie en cuatro clusters genéticos. Podemos ver que el cluster 1 (Fig. 7. Verde; fig. 9A. escala de verdes), se distribuye a lo largo de las Bahamas y Antillas, el cluster 2 está presente en casi toda el área de distribución, mientras el cluster 3 se encuentra confinado a la región caribeña del lado de América del Sur. Finalmente, el cluster 4 es el de menor representación y se ve confinado al interior del Golfo de México.

A nivel nuclear, BAPS sugirió sólo dos clusters genéticos (K2) (Fig. 8; fig. 10A), que generaron la mayor diferenciación entre grupos (F_{CT}). Los resultados de los niveles analizados (entre grupos, entre poblaciones dentro de grupos y entre poblaciones/coordenadas geográficas) para núcleo, se muestran la tabla 7. En la Figura 10A observamos el mapa de distribución geográfica de los grupos genéticos nucleares, en donde es posible ver una separación entre ambos, distinguiéndose principalmente los individuos del Caribe de los del Golfo de México y Bahamas. Los resultados de diversidad genética para cada uno de los clusters sugerido por BAPS, se muestran en la tabla 8.

El cluster 1 mitocondrial, distribuido principalmente en la región de las Antillas, presenta la mayor diversidad de haplotipos y diversidad nucleotídica, mientras el cluster 4 sólo está compuesto por dos individuos con el mismo haplotipo. Por su parte a nivel nuclear, ambos clusters presentan una diversidad genética semejante.

Tabla 8. Diversidad genética de *Comactinia meridionalis*, estimada para los grupos obtenidos por el análisis de BAPS. * El primer valor hace referencia al número de individuos analizados y el segundo valor a las secuencias (2n) usadas.

	<i>Diversidad mitocondrial</i>					<i>Diversidad nuclear</i>		
	Cluster_1	Cluster_2	Cluster_3	Cluster_4	Total	Cluster_1	Cluster_2	Total
<i>N DE INDIVIDUOS</i>	7	26	25	2	60	52/104*	35/70*	87/174*
<i>SITIOS</i>	36	20	12	0	72	3	4	11
<i>SEGREGANTES (S)</i>								
<i>N. DE HAPLOTIPOS (H)</i>	7	11	9	1	28	3	4	7
<i>DIVERSIDAD DE HAPLOTIPOS (HD)</i>	1	0.84923	0.87	0	0.94972	0.20986	0.21366	0.59265
<i>DIVERSIDAD NUCLEOTÍDICA (PI)</i>	0.02241	0.00642	0.00456	0	0.01628	0.00032	0.00049	0.00412

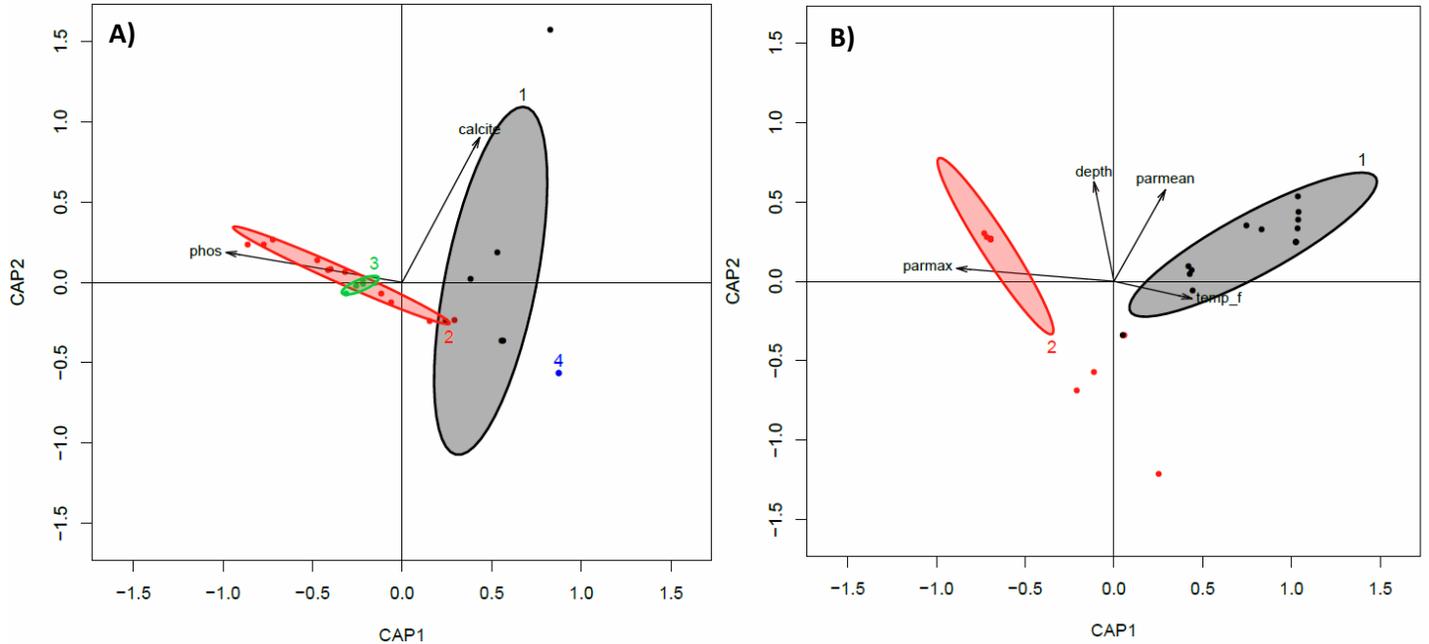
En la red de haplotipos mitocondrial (Fig. 9B) podemos apreciar que los haplotipos que conforman el cluster 1, son más distintos entre sí, a diferencia del resto de los clusters, que se encuentran un poco más cercanos entre ellos. Además es a este cluster 1 donde se une el grupo hermano (*Comactinia echinoptera*), mientras el cluster 4 se encuentra considerablemente distante del cluster 2 al que es cercano. Para el caso nuclear (Fig. 10B), la diferenciación es poca, pero clara entre los grupos genéticos.

Aislamiento por distancia

En el Análisis de Redundancias Basado en Distancia (dbRDA) encontramos que existe una relación significativa entre la varianza de valores de diferenciación genética (F_{ST}) y el factor geográfico (para mitocondria 18.37%, $P=0.008$; para núcleo 29.84%, $P=0.002$) (Tabla 9). Por su parte, al incluir el factor ambiental encontramos que el 11.71% de la diferenciación genética fue explicada por las variables ambientales de calcita y fosfato (Gráfica 5A), sin embargo al remover la influencia del factor geográfico en el ambiente, el porcentaje explicado disminuyó a un 9.17% y perdió su significancia ($P=0.167$). En el caso del núcleo el 47.99% ($P=0.05$) de la diferenciación fue explicada por la temperatura de fondo, la profundidad y la radiación fotosintética activa máxima y media (Gráfica 5B); y al remover el componente geográfico del análisis, el porcentaje explicado también disminuyó pero permaneció significativo (20.37%, $P=0.001$).

Tabla 9. Resultado del dbRDA probando la contribución relativa de la distancia geográfica al ambiente para la diferenciación genética. El estadístico F (significancia estadística) y porcentaje de variación (%) se muestran para cada grupo de marcadores.

	<i>Mitocondria</i>				<i>Núcleo</i>			
	Prueba directa		Prueba condicional		Prueba directa		Prueba condicional	
	Estadístico F	%	Estadístico F	%	Estadístico F	%	Estadístico F	%
<i>Geografía</i>	1.7822 ($P=0.008$)	18.37			6.5238 ($P=0.002$)	29.84		
<i>Ambiente</i>	1.6314 ($P=0.028$)	11.71			11.934 ($P=0.001$)	47.99		
<i>Ambiente condicionado por geografía</i>			1.3859 ($P=0.167$)	9.17			4.9324 ($P=0.001$)	20.37



Gráfica 5. Representación gráfica de dbRDA para la contribución relativa de las variables ambientales en la diferenciación genética A) mitocondria. B) núcleo. Las elipses y los números indican los clusters para cada marcador genético. Las variables ambientales son las siguientes: fosfato (phos), calcita (calcite), temperatura de fondo (temp_f), profundidad (depth), radiación fotosintética activa máxima (parmax) y media (parmean).

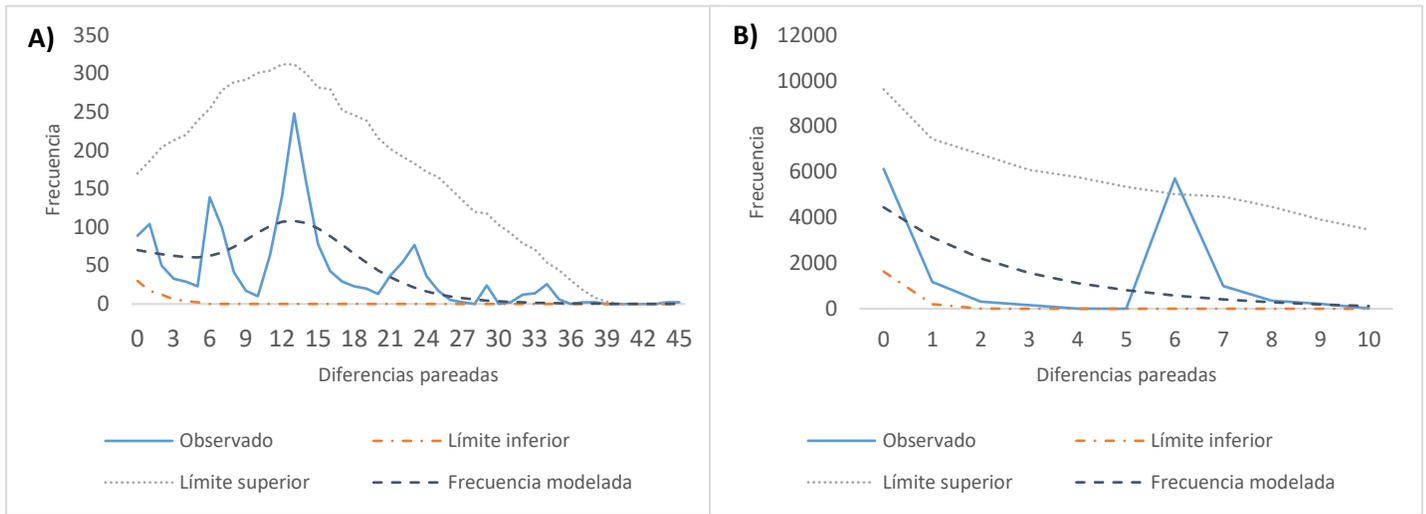
Demografía histórica

Los análisis de demografía histórica realizados se resumen en la siguiente tabla:

Tabla 10. Análisis de demografía histórica para *Comactinia meridionalis*. NS. No significativo.

	Mitocondria	Núcleo
<i>D de Tajima</i>	-1.1173 NS	1.6368 NS
<i>F* de Fu y Li</i>	0.05917 NS	1.7713 NS

Aunque estos resultados podrían indicar expansión poblacional para mitocondria y cuello de botella o estructura genética para núcleo, ninguno de ellos fue significativo, indicando poblaciones estables para esta especie. Por su parte, en la gráfica 6 observamos las distribuciones de *mismatch* para mitocondria y núcleo, en ellas vemos que a nivel mitocondrial los indicadores SSD y el índice de rugosidad no son significativos, sugiriendo un ajuste al modelo de expansión, sin embargo la distribución multimodal en el espectro de frecuencias se inclina más a poblaciones estables; mientras que para núcleo la distribución bimodal fue significativa según el índice de rugosidad y SSD, lo que nos puede hablar también de poblaciones estables.



Discusión

Distribución potencial

El conocimiento de la distribución potencial de una especie es de suma importancia y determinante en muchos casos, ya sea al inicio de un estudio para inferir los lugares en que se podría encontrar y facilitar el muestreo, o para ayudar a la inferencia de patrones de distribución y encontrar barreras a la dispersión (Richards et al. 2007). También es posible usar esta información para observar cómo ha cambiado la distribución del grupo a lo largo del tiempo, y qué tanto podría llegar a cambiar en un futuro (Alvarado-Serrano y Knowles 2014). Desafortunadamente el tipo de información requerida para la elaboración de estos análisis en ecosistemas marinos y particularmente en fondo oceánico, se encuentran aún poco desarrolladas. Pero, tal como se hizo en este trabajo, al realizar estudios con organismos bentónicos es posible echar mano de algunas bases de datos como ODV (Ocean Data View), que contiene información a distintos estratos de profundidad que, complementada con información de la superficie marina de otras bases de datos (que suele ser más abundante), nos permite disminuir el sesgo en los análisis dado por la diferencia ambiental a distintas profundidades.

De las bases de datos utilizadas, el modelo generado con las variables de fondo tuvo un mejor ajuste que aquel que utilizó sólo la información de superficie. Como pudimos observar, las variables que aportaron la mayor parte de la información para crear el modelo fueron la profundidad, la concentración de fosfato, la temperatura de fondo, la concentración de oxígeno de fondo, la radiación fotosintética activa media y máxima, la calcita, la salinidad de fondo y el oxígeno disuelto. Anteriormente se consideraba que aunque la profundidad no era un factor primario ni determinante para la distribución de las especies de crinoides, sino que era más importante la combinación de factores tales como la ausencia de turbulencias, la pureza del agua, la ausencia de sedimentos suspendidos (que pueden ocasionar el bloqueo de los hidroporos del sistema vascular acuífero), la disponibilidad de microplancton y micronecton, la estabilidad de la salinidad y la temperatura (Fell 1966), o la abundancia de oxígeno (Davenport 1966). Aquí se demostró lo contrario, que esta es la variable que explica la mayor parte de la varianza en la distribución de la especie de interés.

Aunque el ajuste de los modelos fue bueno, no podemos pasar por alto la ausencia de datos sobre los tipos de sustrato y la intensidad de corrientes, pues se ha observado que algunos grupos de equinodermos, tienen especial afinidad por ciertos sustratos mismos que son determinantes para su distribución (Meyer et al. 1978; Solís-Marín et al. 2013). De igual forma, la información de

corrientes puede ser determinante, ya que en ambientes más profundos es necesario que exista algún tipo de circulación para asegurar la oxigenación (en relación a la pureza relativa del agua de sustancias tóxicas); así, las áreas potencialmente estancadas no serían ideales para establecimiento de individuos (Fell 1966). Con estas variables se generaría un modelo más certero, que podría mostrarnos la ubicación de barreras físicas y químicas a la dispersión, e incluso podría permitirnos conocer el impacto de la descarga de sedimentos acarreados por ríos importantes, como el Orinoco o el Amazonas. Este último es reconocido como una barrera a la dispersión de corales que construyen arrecifes, gasterópodos de costas rocosas y peces coralinos de aguas superficiales (Rocha 2003). A su vez, la inclusión de información sobre la dirección y la fuerza de las corrientes, junto con los rangos de tolerancia de la especie y su estrategia reproductiva, permitiría generar modelos de dispersión larvaria, mediante modelos aditivos generalizados (GAMs), que nos proveerían un pronóstico de su dispersión a distintos niveles batimétricos (Young et al. 2012; Rutterford et al. 2015; Johnston & Akins 2016), completando un poco más estas predicciones de hábitat.

Análisis morfométrico

Observamos que las regiones geográficas consideradas presentan diferenciación según sus variables ambientales (Anexo, Figura 13); este patrón de diferenciación ambiental no se vio reflejado en la diferenciación morfológica de los individuos analizados (Gráficas 1 y 2). Es decir, sí hubo una diferenciación ambiental entre regiones geográficas, pero ésta no estuvo correlacionada con la variación morfológica de *Comactinia meridionalis*. Anteriormente, se ha documentado la influencia del estrés ambiental en la morfología de un organismo (Siegel y Doyle 1975; Parsons 1990). Por ejemplo, para crinoides la profundidad ha tenido un papel importante en la diferenciación de especies (Owen et al. 2009); algunos crinoides comatúlidos, aquellos individuos de aguas superficiales cuyos hábitats están sujetos a fuerte oleaje (alta energía hidrodinámica), tienden a tener un mayor número de brazos y de menor longitud en comparación con aquellos en aguas más profundas o en hábitats más protegidos de las corrientes (Messing 1994). Sin embargo, se ha propuesto también que la variación en caracteres morfológicos es independientes de la distribución (Valentine 2009), o que este tipo de variaciones solo existan a niveles taxonómicos mayores (en lugar del nivel intraespecífico estudiado aquí), o en organismos con tamaños corporales más grandes (Rex et al. 2006).

Taxonomía: Diferenciación entre subespecies

Actualmente *Comactinia meridionalis* se divide en dos subespecies, *Comactinia meridionalis* ssp. *meridionalis* y *C. meridionalis* ssp. *hartlaubi*, definidas a partir de caracteres morfológicos (Tabla 2), en donde las principales diferencias radican en el tamaño, la longitud de brazos y cirros, así como de la segmentación de cirros y pínulas (Messing, 1978). Los análisis realizados en este trabajo consideraron estos y otros caracteres diagnósticos de las subespecies (ver sección Método: Obtención de muestras); sin embargo, no se observó ninguna diferenciación importante entre los grupos de subespecies al considerar todos los caracteres morfométricos en conjunto (Gráfica 3). Pero al considerar la variación de cada carácter, obtuvimos que algunos de ellos (relacionados principalmente con la talla del individuo) eran significativamente distintos entre las subespecies (Anexo, Gráfica 7). Sin embargo, esta variación no estuvo relacionada con la diferenciación genética (Gráfica 4), pues la fuente principal de esta variación yace entre las poblaciones dentro de cada subespecie, y entre todas las poblaciones, pero no entre las subespecies mismas. De igual manera, en el árbol filogenético (Anexo, Figura 13) vemos que las subespecies no se ubican en grupos definidos; es decir, no son monofiléticas. Indicando así, que la variación genética encontrada es intrínseca de toda la especie y está dada por otros factores, sin que la diferenciación entre subespecies parezca contribuir a ésta.

La variación encontrada en relación a la talla, podría estar dada por diversos factores que no están relacionados directamente con divergencia genética, tales como los generados por la ambigüedad para determinar la edad en crinoides. Estos continúan creciendo aún después de alcanzar la madurez sexual y se desconoce en qué momento este crecimiento cesa. Tomando entonces la sugerencia de Messing (1978) sobre la realización de estudios genéticos para corroborar esta diferenciación, podemos sugerir la reevaluación de la subdivisión en las subespecies de *Comactinia meridionalis*, eliminándolas de la clasificación actual. Por otro lado, dado que la distribución geográfica de ambas subespecies es la misma, salvo por una pequeña variación en la profundidad, sería interesante la implementación de estudios para identificación de genes candidatos bajo selección que pudieran en última instancia, presentar diferenciación entre ambas subespecies diferenciadas quizá por batimetría.

Diversidad genética y filogeografía

Es necesaria la comparación de nuestros resultados con los de estudios precedentes, con el fin de valorar la información obtenida. En la tabla 12 (Anexos) presentamos los datos de variación genética aquí obtenidos junto a los de *Promachocrinus kerguelensis* Carpenter, 1879, un crinoide comatúlido que habita en aguas del Océano Antártico (Hemery et al. 2012). Tomando una región del gen COI como referente de la variación genética de *Comactinia meridionalis*, pudimos observar que esta variación es equiparable a la de los filogrupos (coeficiente de correlación=0.824), los clados encontrados (sugeridos como posibles especies) y el total de la especie *P. kerguelensis* (coeficiente de correlación=0.978), indicando una relativa estabilidad de *C. meridionalis* con respecto a esta otra especie. Mientras, la variación genética entre los clados de *P. kerguelensis* es considerablemente distinta (y atribuida a eventos demográficos como cuellos de botella y expansiones); en *C. meridionalis* es semejante entre clusters tanto mitocondriales como nucleares, lo que podría indicar una estabilidad demográfica para ambos grupos genéticos, tal como nos sugieren los valores de D de Tajima, F* de Fu y Li (Tabla 10; Anexo: Tabla 11), y la multimodalidad de las gráficas de mismatch (Gráfica 6).

Los estimados de estructura genética entre clusters mitocondriales y nucleares fueron relativamente altos (Tabla 6 y 7). El patrón de estructura genética nos permite ver la distribución más localizada de la mayoría de los clusters. Siendo que dentro de *Comactinia meridionalis* la variación genética en el cluster 1 mitocondrial (Tabla 8), es un poco más alta que en el resto, y dado el bajo número de muestra, es muy posible que esta variación sea aún más elevada. Esto podría ser atribuido a que durante los ciclos glaciales del Pleistoceno, hubo reducciones de 115-130 m bajo los niveles del mar actuales (Figura 11) (Ludt y Rocha 2015) y estos cambios podrían haber dado lugar a refugios en ciertas áreas en donde se concentraron los individuos y por ende la variación genética (Hemery et al. 2012). Es decir, ya que se produjo una reducción de hábitat, una variación de las corrientes en algunas áreas (Ludt y Rocha 2015) y cambios en la dinámica térmica de la columna de agua (Gröger et al. 2003; Herbert et al. 2010; Elderfield et al. 2012), se pudo generar una fragmentación de poblaciones dando lugar a una mayor diferenciación (Ludt y Rocha 2015).

Así pues, consideramos que la persistencia de poblaciones fue facilitada principalmente por la formación de refugios aislados o semiaislandos; uno de ellos ubicado alrededor de las Bahamas dentro de la masas de agua reclusas a causa de la mayor cantidad de masa terrestre expuesta que surgió con la disminución del nivel del mar en el Pleistoceno (Figura 11) (Taylor y Hellberg 2006;

Ludt y Rocha 2015); teoría reforzada dado que en esta zona, tanto a nivel mitocondrial como nuclear se conjunta una mayor diversidad genética. Por otro lado, el que la especie hermana usada como grupo externo se anclara a este cluster 1 mitocondrial, lo sugiere como grupo ancestral, reforzando la hipótesis de fuertes eventos de diferenciación en esta área.



Figura 11. Masa terrestre expuesta (crema) y hábitat disponible a 60 m de profundidad durante el Último máximo glacial para el Océano Atlántico y el Pacífico oriental. Tomado de Ludt y Rocha 2015.

En lo que respecta al cluster 4 mitocondrial, debemos mencionar que está separado por 21 pasos mutacionales de su cluster más cercano, aunque esta diferenciación no se distingue a nivel nuclear, cuya variación es más homogénea dentro del Golfo de México. La diferenciación encontrada podría sugerir un nuevo refugio al interior del Golfo de México, en donde además, al menos un grupo de hembras se pudo ver aislado debido a que esta zona ha mostrado conectividad disminuida respecto al Banco de Campeche y el resto del Golfo de México (Johnston y Akins 2016), generando y manteniendo la diferenciación de la zona. Sin embargo, nuestro bajo tamaño muestral (2 individuos para el cluster 4) nos invita a tener cautela para aseverar esta hipótesis. Sería importante obtener muestras de individuos en Veracruz o lograr amplificar aquellos de Tabasco (amplificados con éxito para núcleo), con el fin de observar si este patrón de diferenciación permanece o se diluye mientras más nos alejemos de la región del Banco de Campeche.

Por otro lado, el cluster 3 mitocondrial tienen una distribución exclusiva en el sureste del Caribe (Figura 9); lo que nos sugiere la existencia de un tercer refugio en esa zona, en donde la corriente del Giro de Colombia-Panamá estaría generando una barrera semipermeable y promoviendo el autoreclutamiento, según se ha observado en modelos de distribución larvaria para algunos

organismos (Gaylord y Gaines 2000; Taylor y Hellberg 2003; Taylor y Hellberg 2006; Cowen et al. 2006). Sin embargo, tampoco podemos descartar que esta población sea más reciente y que haya sido fundada por unos pocos individuos durante el aumento del nivel del mar en la zona.

La barrera producida por el Giro de Colombia-Panamá es más claramente percibida a nivel nuclear, lo que nos indica su gran persistencia, y es que el núcleo al tener una menor tasa de mutación que la mitocondria (Fourdrilis et al. 2016), y por tanto presentar menor estructura genética, nos ayuda a inferir eventos un poco más antiguos. Aunque la distribución de los clusters 1 y 2 nucleares es considerablemente delimitada, no es exclusiva del Golfo de México o el mar Caribe, lo que podría sugerirnos una separación incompleta de linajes a cada lado de la barrera e indicar estabilidad demográfica dentro de cada uno de ellos (Anexo: Tabla 11).

Aunque suponemos la fuerte injerencia de barreras que limitan el flujo génico entre clusters tanto mitocondriales como nucleares, en donde la variación genética podría provenir principalmente de refugios formados por el cambio en el nivel del mar durante las glaciaciones, o generadas más recientemente al elevarse de nuevo el nivel del mar; no se realizó ningún análisis para probar la veracidad de estas teorías. Mediante modelos de simulación bayesiana es posible poner a prueba en un futuro las hipótesis mencionadas sobre los tamaños poblacionales, estimar divergencias entre clusters y flujo génico entre ellos (estimando el número de migrantes); para ello es necesario incrementar el número de genes considerados, por ejemplo usando métodos de nueva generación como GBS, así como el número de muestra en algunas zonas (Veracruz y Tabasco), con el fin de obtener una visión más realista de los eventos que están moldeando la historia de *C. meridionalis*.

Finalmente, según los dbRDA para mitocondria y núcleo (Tabla 9), la geografía fue el factor más importante para explicar la diferenciación genética entre individuos. Por su parte, de los factores ambientales medidos, la radiación fotosintética activa máxima y media, la profundidad y la temperatura (Gráfica 5B) son quienes tienen mayor contribución a la diferenciación genética del núcleo. Algunos de los factores como en profundidad y temperatura ya se consideraban limitantes o estresores para la supervivencia durante el periodo larvario (Cowen 2001; Przeslawski et al. 2015), mientras la radiación fotosintética activa no, y éste podría ser una aproximación indirecta para detección de materia orgánica disponible (como fitoplancton) de la que se alimenta los crinoides, pues no olvidemos que esta especie es filtradora. Por su parte, creemos que la no significancia de la contribución ambiental a nivel mitocondrial (Tabla 9) se debe a la naturaleza neutral de la mitocondria heredada maternalmente. La inclusión de estudios de asociación con genes candidatos

a adaptación obtenidos a través de la secuenciación de exomas de larvas y adultos, podría darnos un panorama más claro y real de cuáles son las condiciones ambientales que están guiando y limitando la variación genética en *C. meridionalis*.

Conclusiones

Este trabajo recopila información de distintos orígenes para ampliar el conocimiento de la estructuración poblacional a los niveles ecológico, morfológico y genético para un crinoide muy poco estudiado (*Comactinia meridionalis*). De las condiciones oceanográficas consideradas para la predicción del área de distribución de la especie *C. meridionalis*, las más importantes fueron: la profundidad, la concentración de fosfato, la temperatura y el oxígeno de fondo, la radiación fotosintéticamente activa media y máxima, la concentración de calcita, la salinidad de fondo y el oxígeno disuelto superficial.

A nivel morfológico no se observaron patrones de variación importantes en relación a su distribución geográfica y tampoco con otros factores ambientales analizados en este trabajo (profundidad, temperatura, oxígeno, salinidad, radiación fotosintética activa, calcita y fosfato).

Aparte de una diferenciación en tamaño, no necesariamente relacionada a la caracterización de subespecies, no encontramos otro tipo de diferenciación morfológica ni genética entre las subespecies actualmente reconocidas para *Comactinia meridionalis*, por lo que se propone la reevaluación taxonómica de las mismas, eliminándolas de la clasificación.

La falta de estudios de diversidad genética en crinoides dificulta las comparaciones y la evaluación de la cantidad de la misma en *Comactinia meridionalis*. Sin embargo, parece ser que esta posee una diversidad genética que podría ser semejante a la de otras especies de crinoides. Los patrones de variación y estructuración genética encontrados en *C. meridionalis*, sugieren la existencia de 3 refugios glaciales, además de la influencia de corrientes como el Giro oceánico Colombia-Panamá y otra que delimita el Banco de Campeche. Probablemente debido a la naturaleza neutral de los marcadores mitocondriales, sólo nos fue posible detectar la influencia de ciertos factores ambientales (profundidad, temperatura de fondo y radiación fotosintética activa máxima y media) en la diferenciación genética nuclear.

Perspectivas

Se recomienda la inclusión de datos genómicos con el fin de obtener resultados más precisos sobre la estructura genética de la especie y probar de hipótesis de divergencia ambiental de una forma más adecuada. Estos también permitirían inferir restricciones ecológicas que difícilmente se pueden observar de forma directa, como análisis para determinar el tipo de sustrato que se sabe es determinante para la distribución de organismos bentónicos como los equinodermos (Meyer et al. 1978; Hopkins et al. 1991; Saucedo et al. 2006; Solís-Marín et al. 2013).

De igual forma, consideramos que estudios de filogeografía comparada con especies o géneros cercanos en la misma área de distribución, permitiría un mejor entendimiento de la ecología de los crinoides comatúlidos.

Literatura citada

- Allendorf, F.W., Luikart, G. & Aitken, S.N., 2012. *Conservation and the Genetics of Populations* 2nd ed., John Wiley & Sons.
- Alvarado-Serrano, D.F. & Knowles, L.L., 2014. Ecological niche models in phylogeographic studies: applications, advances and precautions. *Molecular Ecology Resources*, 14(2), pp.233–248. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/1755-0998.12184>.
- Ausich, W.I. & Messing, C.G., 1998. Crinoidea. Sea lilies and feather stars. *The Tree of Life Web Project*, p.Version 21 April 1998. Available at: <http://tolweb.org/Crinoidea/19232/1998.04.21>.
- Austin, M.P., 2002. Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecological Modelling*, 157, pp.101–118.
- Awise, J.C., 2009. Phylogeography: retrospect and prospect. *Journal of Biogeography*, 36(1), pp.3–15. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1365-2699.2008.02032.x> [Accessed July 10, 2014].
- Awise, J.C., 2000. *Phylogeography. The story and formation of species*, Londres: Harvard University Press.
- Benavides-Serrato, M., Borrero-Perez, G. & Díaz-Sánchez, C.M., 2011. *Equinodermos del Caribe colombiano I: Crinoidea, Asteroidea y Ophiuroidea*, Santa Marta: Serie de Publicaciones Especiales de Invemar 22.
- Clement, M., Posada, D. & Crandall, K. a, 2000. TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular ecology*, 9(10), pp.1657–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11050560>.
- Cohen, B.L. et al., 2003. Crinoid phylogeny: a preliminary analysis (Echinodermata: Crinoidea). *Marine Biology*, 144(3), pp.605–617. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00227-003-1212-7> [Accessed December 10, 2014].
- Corander, J., Waldmann, P. & Sillanpää, M.J., 2003. Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics*, 163(1), pp.367–74. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1462429&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>.
- Cowen, R.K., 2001. Oceanographic Influences on Larval Dispersal and Retention and Their Consequences for Population Connectivity. *Coral Reef Fishes*, pp.149–170.
- Cowen, R.K., Paris, C.B. & Srinivasan, A., 2006. Scaling of Connectivity in Marine Populations. *Science*, 311(5760), pp.522–527. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1122039>.
- Davenport, D., 1966. Echinoderms and the Control of Behavior in Associations. In R. A. Boolootian, ed. *Physiology of Echinodermata*. New York: Interscience Publishers, pp. 145–156.
- Davies, A.J. & Guinotte, J.M., 2011. Global habitat suitability for framework-forming cold-water corals. *PLoS ONE*, 6(4).
- Durán-González, A. et al., 2005. Equinodermos (Echinodermata) de las aguas mexicanas del Golfo de México. *Revista de Biología Tropical*, 53(December), pp.53–68. Available at:

- <http://www.cimar.ucr.ac.cr/volumenes-especiales/contenidos/PDFS/echinod1/04-DURAN-Equi.pdf> [Accessed January 8, 2015].
- Eaves, A.A. & Palmer, A.R., 2003. Reproduction: Widespread cloning in echinoderm larvae. *Nature*, 425(6954), pp.146–146. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/425146a>.
- Edgar, R.C., 2004. MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. *Nucleic Acids Research*, 32(5), pp.1792–1797.
- Elderfield, H. et al., 2012. Evolution of Ocean Temperature and Ice Volume Through the Mid-Pleistocene Climate Transition. *Science*, 337(August), pp.704–709.
- Elith, J. et al., 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions*, 17(1), pp.43–57.
- ESRI, 2013. ArcMap.
- Ewing, B. et al., 1998. Base-Calling of Automated Sequencer Traces Using Phred. I. Accuracy Assessment. *Genome Research*, 8(3), pp.175–185. Available at: <http://genome.cshlp.org/lookup/doi/10.1101/gr.8.3.175>.
- Excoffier, L., Laval, G. & Schneider, S., 2006. Arlequin. An Integrated Software Package for Population Genetics. Computational and Molecular Population Genetics Lab (CMPG). , p.145.
- Fell, H.B., 1966. Ecology of Crinoids. In R. A. Boolootian, ed. *Physiology of Echinodermata*. New York: Interscience Publishers, pp. 49–62.
- Fourdrilis, S. et al., 2016. Mitochondrial DNA hyperdiversity and its potential causes in the marine periwinkle *Melarhaphe neritoides* (Mollusca: Gastropoda). *PeerJ*, 4, p.e2549. Available at: <https://peerj.com/articles/2549>.
- Francisco-Ramos, V. & Arias-González, J.E., 2013. Additive Partitioning of Coral Reef Fish Diversity across Hierarchical Spatial Scales throughout the Caribbean S. C. A. Ferse, ed. *PLoS ONE*, 8(10), p.e78761. Available at: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0078761>.
- Gaylord, B. & Gaines, S.D., 2000. Temperature or Transport? Range Limits in Marine Species Mediated Solely by Flow. *The American Naturalist*, 155(6), pp.769–789. Available at: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/10.1086/303357>.
- Gordon, A.L., 1967. Circulation of the Caribbean Sea. *Journal of Geophysical Research*, 72(24), p.6207.
- Gordon, D., Abajian, C. & Green, P., 1998. Consed: A Graphical Tool for Sequence Finishing. *Genome Research*, 8(3), pp.195–202. Available at: <http://genome.cshlp.org/cgi/doi/10.1101/gr.8.3.195> [Accessed February 5, 2014].
- Gröger, M., Henrich, R. & Bickert, T., 2003. Variability of silt grain size and planktonic foraminiferal preservation in Plio/Pleistocene sediments from the western equatorial Atlantic and Caribbean. *Marine Geology*, 201(4), pp.307–320.
- Guisan, A. & Zimmermann, N.E., 2000. Predictive habitat distribution models in ecology. *Ecological Modelling*, 135, pp.147–186.
- Hall, T.A., 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, (41), pp.95–98.

- Hemery, L. et al., 2013. High-resolution crinoid phyletic inter-relationships derived from molecular data. *Cah Biol Mar*, 54, pp.511–523. Available at: http://www.researchgate.net/publication/258110782_High-resolution_crinoid_phyletic_inter-relationships_derived_from_molecular_data/file/e0b495272c531e36e3.pdf [Accessed January 8, 2015].
- Hemery, L.G. et al., 2012. Comprehensive sampling reveals circumpolarity and sympatry in seven mitochondrial lineages of the Southern Ocean crinoid species *Promachocrinus kerguelensis* (Echinodermata). *Molecular Ecology*, 21(10), pp.2502–2518.
- Herbert, T.D. et al., 2010. Tropical ocean temperatures over the past 3.5 million years. *Science*, 328(5985), pp.1530–1534.
- Hernández-Guerra, A. & Joyce, T.M., 2000. Water Masses and Circulation in the Surface Layers of the Caribbean at 66°W. *Geophysical Research Letters*, 27(21), pp.3497–3500. Available at: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1029/1999GL011230/epdf>.
- Hoffman, E.E. & Worley, S.J., 1986. An investigation of the circulation of the Gul of Mexico. *Journal of Geophysical Research*, 91(6), pp.14221–14236.
- Hopkins, T.S. et al., 1991. Community patterns of echinoderms associated with substrate and depth in the northern Gulf of Mexico. In Yanagisawa et al., eds. *Biology of Echinodermata*. Rotterdam: Balkema, pp. 231–239.
- Hutchinson, G.E., 1957. Concluding remarks. *Cold Spring Harbor Symp Quantitative Biol*, 22, pp.415–427.
- Johnston, M.W. & Akins, J.L., 2016. The non-native royal damsel (*Neopomacentrus cyanomos*) in the southern Gulf of Mexico: An invasion risk? *Marine Biology*, 163(1), pp.1–14.
- Keskin, S. & Yasar, F., 2007. Use of canonical correlation analysis for determination of relationships among several traits in egg plant (*Solanum melongena* L.) under salt stress. *Pak. J. Bot.*, 39(5), pp.1547–1552.
- Khanna, D.R., 2005. *Biology of Echinodermata*, Discovery Publishing House.
- Lacalli, T.C., 2000. Larval budding, metamorphosis, and the evolution of life-history patterns in echinoderms. *Invertebrate Biology*, 119(2), pp.234–241. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1744-7410.2000.tb00010.x>.
- Legendre, P. & Anderson, M.J., 1999. DISTANCE-BASED REDUNDANCY ANALYSIS: TESTING MULTISPECIES RESPONSES IN MULTIFACTORIAL ECOLOGICAL EXPERIMENTS. *Ecological Monographs*, 69(1), pp.1–24. Available at: <http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/0012-9615%281999%29069%5B0001%3ADBRTM%5D2.0.CO%3B2>.
- Librado, P. & Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 25(11), pp.1451–2. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19346325> [Accessed September 16, 2013].
- Ludt, W.B. & Rocha, L.A., 2015. Shifting seas: The impacts of Pleistocene sea-level fluctuations on the evolution of tropical marine taxa. *Journal of Biogeography*, 42(1), pp.25–38.
- MacArthur, R.H., 1972. *Geographical ecology* Illustrated., New Jersey: Princeton University Press.

- Merow, C., Smith, M.J. & Silander, J.A., 2013. A practical guide to MaxEnt for modeling species' distributions: What it does, and why inputs and settings matter. *Ecography*, 36(10), pp.1058–1069.
- Messing, C., 2003. Three new species of Comasteridae (Echinodermata, Crinoidea) from the tropical western Pacific. *Zoosystema-Paris-*, 25(1), pp.149–162. Available at: [http://www.researchgate.net/publication/228761655_Three_new_species_of_Comasteridae_\(Echinodermata_Crinoidea\)_from_the_tropical_western_Pacific/file/e0b4952a75990cdc47.pdf](http://www.researchgate.net/publication/228761655_Three_new_species_of_Comasteridae_(Echinodermata_Crinoidea)_from_the_tropical_western_Pacific/file/e0b4952a75990cdc47.pdf).
- Messing, C.G., 1978. A revision of the comatulid genus Comactinia A.H. Clark (Crinoidea: Echinodermata). *Bulletin of marine science*, 28(1), pp.49–80.
- Messing, C.G., 1994. Comatulid Crinoids (Echinodermata) of Madang, Papua New Guinea and Environs: Diversity and Ecology. In B. David et al., eds. *Echinoderms Though Time*. Rotterdam: Balkema, pp. 237–243.
- Messing, C.G., 1997. Living comatulids. *Paleontological Society Papers*, 3(1909), pp.3–30. Available at: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:LIVING+COMATULIDS#0>.
- Messing, C.G. & Dearborn, J.H., 1990. Marine Flora and Fauna of the Northeastern United States Echinodermata: Crinoidea. *NOAA Technical Report NMFS*, 91(2), pp.1–30. Available at: <http://www.journals.uchicago.edu/doi/abs/10.1086/408521>.
- Meyer, D.L. et al., 1978. Zoogeography of Tropical Western Atlantic Crinoidea (Echinodermata). *Bulletin of marine science*, 28(3), pp.412–441.
- Meyer, D.L. & Macurda, D.B., 1977. Adaptive Radiation of the Comatulid crinoids. *Paleobiology*, 3(1), pp.74–82. Available at: <http://www.jstor.org/stable/2400301>.
- Meyer, D.L. & Oji, T., 1993. Eocene crinoids from Seymour Island, Antarctic Peninsula: paleobiogeographic and paleoecologic implications. *Journal of Paleontology*, 67(2), pp.250–257. Available at: <http://www.scopus.com/scopus/inward/record.url?eid=2-s2.0-0027388023&partnerID=40&rel=R7.0.0>.
- Miloslavich, P. et al., 2010. Marine biodiversity in the Caribbean: regional estimates and distribution patterns. *PloS one*, 5(8), p.e11916. Available at: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2914069&tool=pmcentrez&rendertype=abstract> [Accessed September 16, 2014].
- Molinari, R.L. & Morrison, J., 1988. The separation of the Yucatan Current from the Campeche Bank and the intrusion of the Loop Current into the Gulf of Mexico. *Journal of Geophysical Research*, 93(C9), p.10645.
- Oksanen, J. et al., 2013. Package Vegan. Available at: <http://vegan.r-forge.r-project.org/>, 11:32:11.
- Owen, C.L. et al., 2009. Using a combined approach to explain the morphological and ecological diversity in *Phanogenia gracilis* Hartlaub, 1893 (Echinodermata: Crinoidea) sensu lato: two species or intraspecific variation? *Marine Biology*, 156(8), pp.1517–1529. Available at: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=21635204> [Accessed December 10, 2014].
- Paris, C.B., Cherubin, L.M. & Cowen, R.K., 2007. Surfing, spinning, or diving from reef to reef: Effects on population connectivity. *Marine Ecology Progress Series*, 347, pp.285–300.

- Parsons, P.A., 1990. Fluctuating asymmetry: an epigenetic measure of stress. *Biological reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 65(2), pp.131–45. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2190634> [Accessed May 29, 2017].
- Peterson, A.T. et al., 2011. *Ecological Niches and Geographic Distribution*, New Jersey: Princeton University Press.
- Posada, D., 2008. jModelTest 0.1.1. , 1(April), pp.1–23.
- Price, M. N.; Dehal, P. S.; Arkin, A.P., 2010. FastTree 2–Approximately maximum likelihood trees for large alignments. *PLoS ONE*, 5(3), p.28.
- Prietos-Rios, E. et al., 2014. Filogeografía de *Holothuria (Halodeima) inornata* Semper, 1868 (Echinodermata: Holothuroidea). *Revista peruana de biología*, 21(2), pp.155–162.
- Przeslawski, R., Byrne, M. & Mellin, C., 2015. A review and meta-analysis of the effects of multiple abiotic stressors on marine embryos and larvae. *Global Change Biology*, 5, p.n/a-n/a. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1111/gcb.12833>.
- Rex, M.A. et al., 2006. Global bathymetric patterns of standing stock and body size in the deep-sea benthos. *Marine Ecology Progress Series*, 317, pp.1–8.
- Richards, C.L., Carstens, B.C. & Lacey Knowles, L., 2007. Distribution modelling and statistical phylogeography: An integrative framework for generating and testing alternative biogeographical hypotheses. *Journal of Biogeography*, 34(11), pp.1833–1845.
- Richards, V.P., DeBiasse, M.B. & Shivji, M.S., 2015. Genetic evidence supports larval retention in the Western Caribbean for an invertebrate with high dispersal capability (*Ophiothrix suensonii*: Echinodermata, Ophiuroidea). *Coral Reefs*, 34, pp.313–325.
- Rocha, L.A., 2003. Patterns of distribution and processes of speciation in Brazilian reef fishes. *Journal of Biogeography*, 30(8), pp.1161–1171.
- Rogers, A.R. & Harpending, H., 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Molecular biology and evolution*, 9(3), pp.552–69. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1316531>.
- Rouse, G.G.W. et al., 2013. Fixed, free, and fixed: the fickle phylogeny of extant Crinoidea (Echinodermata) and their Permian–Triassic origin. *Molecular phylogenetics ...*, 66(1), pp.161–181. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1055790312003752> [Accessed January 8, 2015].
- Roux, M. et al., 2013. When morphology meets molecular data in crinoid phylogeny: a challenge. *Cah Biol Mar*, 54, pp.541–548. Available at: http://www.researchgate.net/publication/258110684_When_morphology_meets_molecular_data_in_crinoid_phylogeny_a_challenge/file/60b7d527975afe291d.pdf [Accessed January 6, 2015].
- Rutterford, L.A. et al., 2015. Future fish distributions constrained by depth in warming seas. *Nature Climate Change*, 5(6), pp.569–573. Available at: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nclimate2607>.
- Saucede, T. et al., 2006. Environmental and ontogenetic constraints on developmental stability in the spatangoid sea urchin *Echinocardium* (Echinoidea). *Biological Journal of the Linnean*

- Society*, 88(2), pp.165–177.
- Schlitzer, R., 2016. Ocean Data View.
- Siegel, M.I. & Doyle, W.J., 1975. Stress and fluctuating limb asymmetry in various species of rodents. *Growth*, 39(3), pp.363–9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1183854> [Accessed May 29, 2017].
- Solís-Marín, F.A. et al., 2013. The Echinoderms of Mexico : Biodiversity , Distribution and Current State of Knowledge. In J. J. Alvarado & F. A. Solís-Marín, eds. *Echinoderm Research and Diversity in Latin America*. Springer Science & Business Media, 2012, pp. 11–65.
- Tajima, F., 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3), pp.585–595.
- Taylor, M.S. & Hellberg, M.E., 2006. Comparative phylogeography in a genus of coral reef fishes: Biogeographic and genetic concordance in the Caribbean. *Molecular Ecology*, 15(3), pp.695–707.
- Taylor, M.S. & Hellberg, M.E., 2003. Genetic Evidence for Local Retention of Pelagic Larvae in a Caribbean Reef Fish. *Science*, 299(5603), pp.107–109. Available at: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1079365>.
- The R Core Team, 2016. R : A Language and Environment for Statistical Computing. , p.3458.
- Toledo-Ocampo, A., 2005. Marco conceptual: Caracterización ambiental del Golfo de México. In A. Vázquez-Botello et al., eds. *Golfo de México: contaminación e impacto ambiental : diagnóstico y tendencias*. Universidad Autónoma de Campeche, Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto Nacional de Ecología, pp. 25–52.
- Tyberghein, L. et al., 2012. Bio-ORACLE: A global environmental dataset for marine species distribution modelling. *Global Ecology and Biogeography*, 21(2), pp.272–281.
- Valdés-De Anda, M., 2011. *Taxonomía y Biogeografía de los Crinoideos (Echinodermata: Crinoidea) de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Valentine, J.W., 2009. Overview of Marine Biodiversity. In W. Jon D & K. Roy, eds. *Marine Macroecology*. University of Chicago Press, pp. 3–28. Available at: <http://chicago.universitypressscholarship.com/view/10.7208/chicago/9780226904146.001.001/upso-9780226904115-chapter-1> [Accessed August 24, 2016].
- Waters, M. & Roy, S., 2003. Global phylogeography of the fissiparous sea-star genus *Coscinasterias*. *Marine Biology*, (August 2002), pp.185–191.
- Wilkinson, T. et al., 2009. *Marine Ecoregions of North America*, Available at: <http://www.jstor.org/stable/4501882>.
- Wilson, W.D. & Johns, W.E., 1997. Velocity structure and transport in the windward passage. *Deep Sea Research*, 44(3), pp.487–520.
- Young, C.M. et al., 2012. Dispersal of deep-sea larvae from the intra-American seas: Simulations of trajectories using ocean models. *Integrative and Comparative Biology*, 52(4), pp.483–496.

Anexos

PCA de los grupos geográficos que indica una cohesión ambiental entre grupos geográficos.

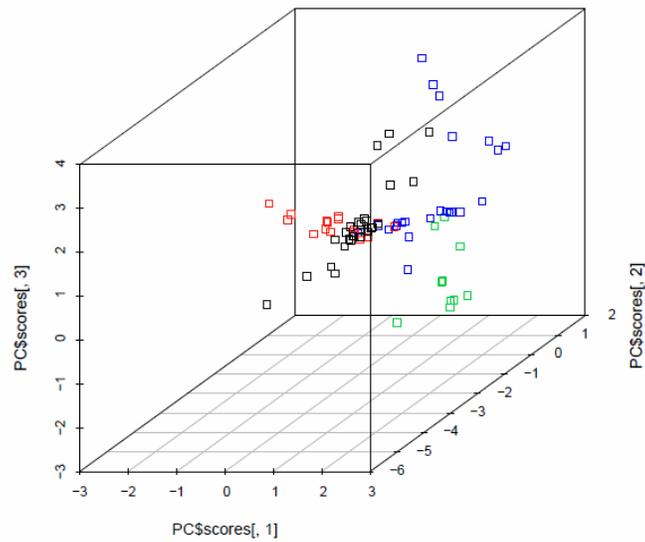
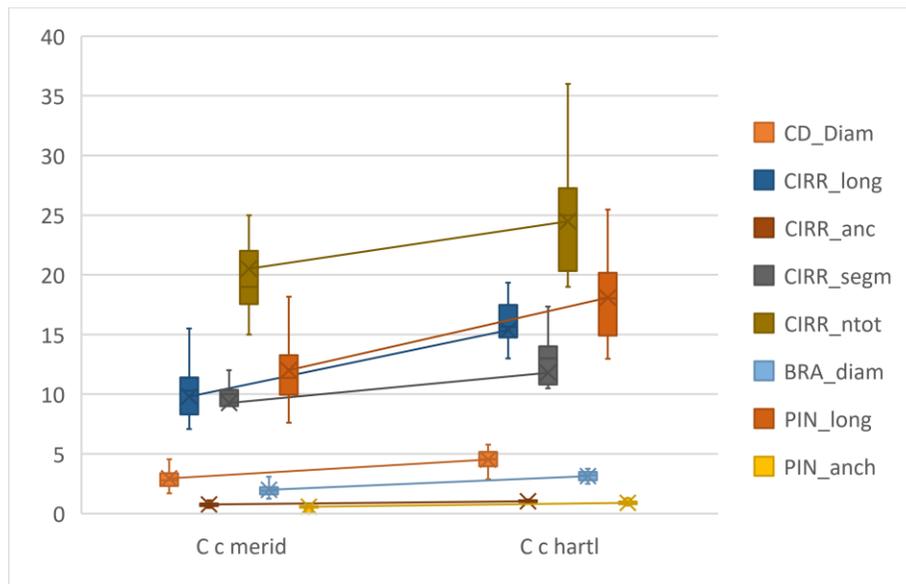


Figura 12. Análisis de componentes principales clasificando regiones por variables ambientales. Antillas (negro), Florida (rojo), Golfo de México (verde), América del sur (azul).



Gráfica 7. Boxplot para caracteres significativamente distintos (T de student. $P < 0.05$) entre *Comactinia meridionalis* y *C. m. hartlaubi*.

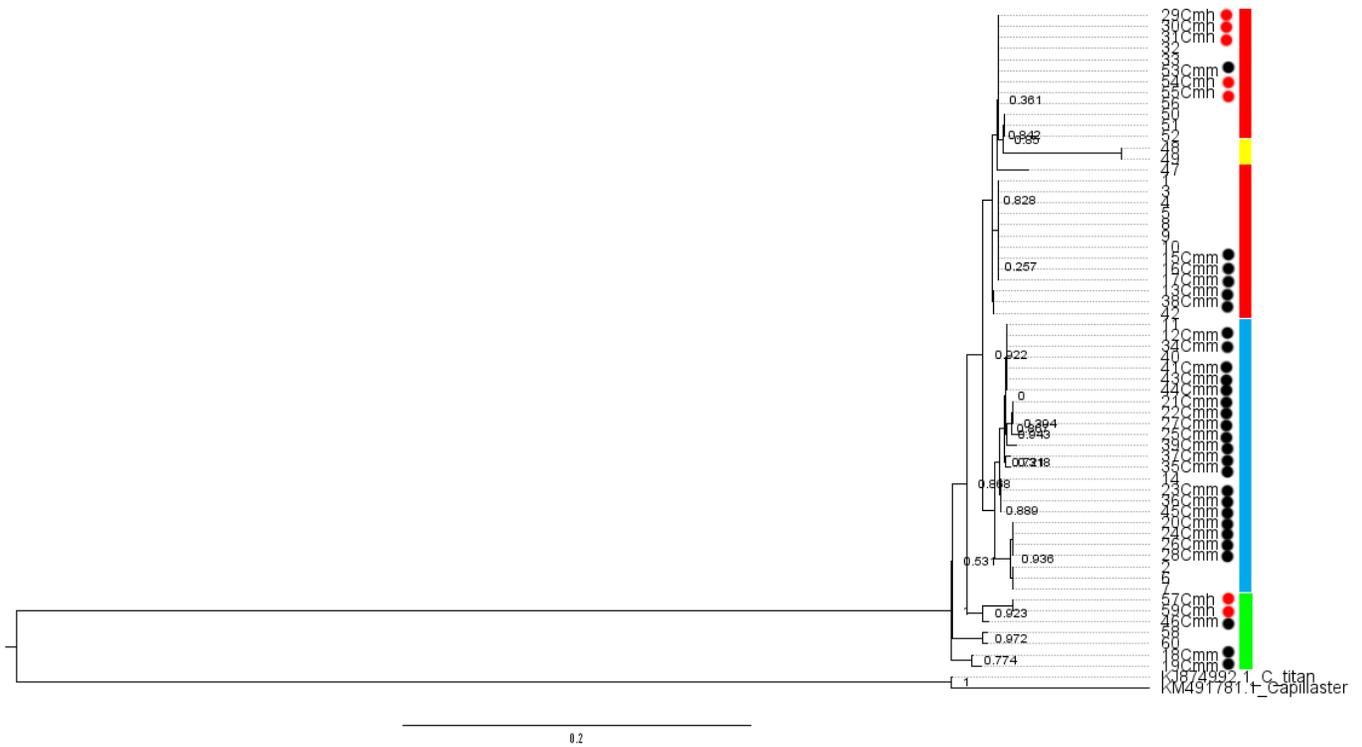


Figura 13. Arbol filogenético para *Comactinia meridionalis*. Creado con datos mitocondriales en FastTree (Price, M. N.; Dehal, P. S.; Arkin 2010). Los números junto a las ramas indican los valores de bootstrap. Los círculos corresponden a los individuos descritos como *C. m. hartlaubi* (rojo) y *C. m. meridionalis* (negro). Los rectángulos corresponden con los clusters genéticos. Verde: cluster 1; rojo: cluster 2; azul: cluster 3; amarillo: cluster 4.

Tabla 11. Demografía histórica por clusters genéticos mitocondriales y nucleares para *Comactinia meridionalis*. NS, no significativo.

Mitocondria	<i>D</i> de Tajima	<i>F*</i> de Fu y Li	Núcleo	<i>D</i> de Tajima	<i>F*</i> de Fu y Li
Cluster 1	0.6224 NS	0.0592 NS	Cluster 1	-1.002 NS	0.2893 NS
Cluster 2	-0.5286 NS	-1.2945 NS			
Cluster 3	-0.1944 NS	-0.1128 NS	Cluster 2	-1.137 NS	0.3614 NS
Cluster 4	-	-			

Tabla 12. Proporciones de contribución de cada componente al PCA morfológico para *Comactinia meridionalis*.

	PC1	PC2	PC3
PROPORCIÓN EXPLICADA	0.47	0.21	0.13
PROPORCIÓN ACUMULATIVA	0.47	0.69	0.82

Componentes empleados

PC1	PC2	PC3
Longitud de P1	LW de Br (Proporción de la longitud media al ancho proximal)	DH (Proporción del diámetro basal)
Volumen de Centrodorsal		LD (Longitud del margen centrodorsal de Br3+4 medida medioradialmente dividida por el diámetro centrodorsal)

Tabla 13. Número de haplotipos y N para COI en *Comactinia meridionalis* y filogrupos de *Promachocrinus kerguelensis*.

	N	Haplotipos
COI 413pb (Presente estudio)	76	23
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo A)	314	48
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo B)	107	9
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo C)	447	42
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo D)	235	36
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo E1)	56	7
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo E2)	167	8
COI 554pb (Hemery 2012-filogrupo F)	103	4

Tabla de pesos para el PCA usando los datos de BioOracle y ODV.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
Calcita	0.03	0.07	0	-0.04	0.99
Oxígeno disuelto	0.93	-0.11	0.22	-0.01	-0.01
Profundidad ¹	0.22	0.82	0.04	0.36	0.01
PAR max ²	0.32	-0.15	0.8	0.17	-0.12
PAR mean ²	-0.76	-0.09	0.05	0.58	-0.08
Fosfatos	-0.12	0.1	-0.04	0.91	-0.03
Salinidad de fondo ¹	-0.05	0.26	0.83	-0.19	0.1
Temperatura de fondo ¹	-0.27	0.86	0.07	-0.16	0.1

¹Capas de ODV. ²Radiación fotosintéticamente activa.

		PC1	PC2	PC3	PC4	PC5
SS	loadings	1.67	1.54	1.39	1.39	1.03

Proportion	Var	0.21	0.19	0.17	0.17	0.13
Cumulative	Var	0.21	0.4	0.57	0.75	0.88
Proportion	Explained	0.24	0.22	0.2	0.2	0.15
Cumulative	Proportion	0.24	0.46	0.66	0.85	1

Tabla 14. Diversidad genética por gen para *Comactinia meridionalis*.

<i>Gen</i>	<i>16S</i>	<i>COI</i>	<i>ITS 1</i>	<i>ITS 2</i>
<i>N secuencias</i>	87	76	188*	196*
<i>N sitios</i>	354	413	444	336
<i>Sitios variables</i>	21	53	15	7
<i>Número de mutaciones</i>	23	65	15	7
<i>Número de haplotipos (h)</i>	15	23	5	3
<i>Diversidad de haplotipos (Hd)</i>	0.847	0.934	0.123	0.544
<i>Diversidad nucleotídica(Pi)</i>	0.01317	0.02042	0.00095	0.00902