



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
SISTEMÁTICA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPONJAS
EXCAVADORAS (PORIFERA : DEMOSPONGIAE : CLIONAIDA :
CLIONAIDAE) DEL PACÍFICO Y CARIBE DE MÉXICO

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

PRESENTA:

CRISTIAN PACHECO SOLANO

TUTOR PRINCIPAL:

Ph.D. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Ph.D. MICHEL EDMOND HENDRICKX RENERS

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. FRANCISCO SOLÍS MARÍN

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. JOSÉ ANTONIO CRUZ-BARRAZA

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. ERIC BAUTISTA GUERRERO

CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA - UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2020



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.



**SISTEMÁTICA MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE ESPONJAS
EXCAVADORAS (PORIFERA : DEMOSPONGIAE : CLIONAIDA :
CLIONAIDAE) DEL PACÍFICO Y CARIBE DE MÉXICO**

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA**

PRESENTA:

CRISTIAN PACHECO SOLANO

TUTOR PRINCIPAL:

Ph.D. JOSÉ LUIS CARBALLO CENIZO

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Ph.D. MICHEL EDMOND HENDRICKX RENERS

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. FRANCISCO SOLÍS MARÍN

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. JOSÉ ANTONIO CRUZ-BARRAZA

INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

Ph.D. ERIC BAUTISTA GUERRERO

CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA - UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA

CIUDAD DE MÉXICO, NOVIEMBRE, 2020

Agradecimientos

Agradezco al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México, por la oportunidad de desarrollar mis estudios de doctorado, así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por otorgarme la beca para realizar estos estudios. Además agradezco a CONACYT SEP CB-2015-01 (254806) por los fondos otorgados para realizar esta investigación.

Agradezco especialmente a mi director, el Dr. José Luis Carballo, por acompañarme en este largo camino que empezó hace muchos años con la maestría. Sus consejos, ánimo y apoyo han sido muy importantes para poder dar este paso y llevar a cabo esta investigación.

Agradezco a mi comité tutorial, al Dr. José Antonio Cruz Barraza por sus consejos, y atenciones en el Laboratorio de Ecología Molecular en el que desarrollé gran parte de esta investigación. Además al Dr. Michel Hendricks, al Dr. Francisco Solís y al Dr. Eric Bautista por sus consejos, correcciones y comentarios que ayudaron a que este trabajo llegara a buen término.

Agradezco también a la Dra. Barbara Calcinaï quien me acogió en su laboratorio durante mi estancia en Italia y prestó una ayuda invaluable en el desarrollo de esta tesis. Gracias a ella se tuvo acceso a muestras del Mediterráneo y el Océano Índico. También al Dr. Emilio Sánchez Moyano de la Universidad de Sevilla por permitirme realizar estancia en su laboratorio y facilitar el trabajo de campo que permitió muestrear el estrecho de Gibraltar en el Mediterráneo.

Agradezco a Benjamín Yañez, técnico del Laboratorio de Ecología del Bentos por su asistencia en el trabajo de campo y su asesoría en los análisis estadísticos. Además a del resto de amigos de este laboratorio con los que compartí muchas horas de trabajo y aventuras, Lucy Alarcón, Jéssica Orrante, Adrián González y Julio Ventura. Siempre estuvieron ahí para ayudarme con

su consejo y colaboración. Gracias por todo en los momentos más estresantes y por darme siempre palabras de ánimo.

A mis compañeros del Laboratorio de Ecología Molecular también les debo mucho. Compartir con ustedes muchas horas de PCR y electroforesis aligeró el trabajo. Guardo muy buenas memorias, gracias a Anita, Kenia, Lili, Luz, Tania, Adrián y Manuel. A todos les deseo la mejor de las suertes en el posgrado y en sus trabajos.

Finalmente agradecer a todo el personal del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, el servicio que nos brindan es muy importante para aprovechar las oportunidades que el Posgrado nos ofrece y poder desarrollar nuestras investigaciones. Gracias especialmente a Margarita Cordero que durante esta tesis ha partido de este mundo (Q. E. P. D.), a Gabriela, Lupita, Jazmín y Diana.

La experiencia de mis estudios de posgrado ha sido increíble. Esta investigación me ha llevado a coincidir con tanta gente en un ambiente de amistad y familiaridad que es invaluable. Todas las pequeñas y grandes cosas hicieron de mis estudios una de las mejores experiencias de vida. Gracias a todos de nuevo y los mejores deseos.

Índice general

Índice de tablas	VII
Índice de figuras	VIII
Resumen	XI
1. Introducción	1
1.1. Filo Porifera	1
1.2. Esponjas excavadoras	2
1.3. Espículas y espiculogénesis	4
1.4. Patrón de perforación y huella de erosión	7
1.5. Delimitación de especies	9
1.6. Marcadores moleculares para la delimitación de especies	10
2. Objetivos de la Tesis	21
3. Materiales y Métodos	23
3.1. Obtención de material biológico	23
3.2. Sitios de muestreo	24
3.3. Caracteres morfológicos	24
3.4. Morfología del patrón de erosión	26
3.5. Análisis molecular	27
4. Taxonomía de Esponjas Excavadoras	32

5. Análisis del Patrón de Perforación de las Esponjas Excavadoras	128
6. Nueva Sistemática de Esponjas Excavadoras Basada en Filogenias Molecular y Morfológica	139
7. Conclusiones	163
Apéndice	166
.1. Filogenia de la región D2-28S.	166
.2. Pacheco et al. 2018. Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and faunistic record.	168
.3. Pacheco et al. 2020. Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to <i>Cliona mucronata</i> (Demospongiae).	210

Índice de tablas

1.1. Órdenes y familias de esponjas perforadoras.	4
1.2. Géneros de la familia Clionidae y número de especies que comprenden.	5
1.3. Trabajos que incluyen marcadores moleculares en especies de la familia Clionidae. . .	12
3.1. Cebadores utilizados en este estudio	27
4.1. Especies descritas en este capítulo clasificadas como: este estudio, aquellas con las que se trabajó con especímenes recolectados; molecular, aquellas que se incluyeron en el análisis genético por secuencias del GenBank; literatura, aquellas que se describen de la literatura pero no se trabajaron directamente.	33
5.1. Tamaño de galerías y longitud de canales de unión entre galerías. Especies del género <i>Cliona</i> , <i>Pione</i> y <i>Spiroxya</i>	129
5.2. Tipos de huellas de excavación (números romanos) que agrupan a los distintos géneros de esponjas.	136
6.1. Matriz de caracteres y estados de carácter.	146

Índice de figuras

1.1. Variedad de espículas en la familia Clionidae. A. Megascleras; B. Microscleras.	7
3.1. Fragmento del 28S utilizado en el marcador C1D2.	27
4.1. Papilas y cámaras de <i>Cliona adriatica</i>	36
4.2. Espículas tilostilos de <i>Cliona adriatica</i>	37
4.3. Perforación de <i>Cliona amplicavata</i> en el interior de coral pocilopórido.	40
4.4. Espículas de <i>Cliona</i> cf. <i>amplicavata</i> , espécimen del Pacífico oriental.	41
4.5. <i>Cliona californiana</i>	43
4.6. Espículas de <i>Cliona californiana</i>	44
4.7. Fotografía de <i>Cliona celata</i>	46
4.8. Espículas tilostilos de <i>Cliona celata</i>	47
4.9. Espículas de <i>Cliona</i> cf. <i>ensifera</i>	50
4.10. Espículas de <i>Cliona euryphylle</i>	52
4.11. Espículas de <i>Cliona flavifodina</i>	55
4.12. Espículas de <i>Cliona janitrix</i>	56
4.13. Esponja <i>Cliona mariae</i> perforando un coral pocilopórido.	59
4.14. Espículas de <i>Cliona mariae</i>	60
4.15. Espículas de <i>Cliona microstrongilata</i>	62
4.16. Espículas de <i>Cliona mucronata</i>	64
4.17. Espículas de <i>Cliona papillae</i>	66
4.18. Espículas tilostilos de <i>Cliona pocillopora</i>	67

4.19. <i>Cliona schmidtii</i> perforando alga calcarea.	70
4.20. Espículas de <i>Cliona tropicalis</i>	73
4.21. Espículas de <i>Cliona vermifera</i>	76
4.22. Esponja <i>Cliona vermifera</i>	78
4.23. Espículas de <i>Cliona</i> aff. <i>vermifera</i>	79
4.24. Esponja <i>Cliona viridis</i> en forma gamma.	81
4.25. Espículas de <i>Cliona viridis</i>	82
4.26. Espículas de <i>Cliona yorokin</i>	83
4.27. Espículas de <i>Cliothisa aurivilli</i>	86
4.28. Espículas de <i>Cliothisa tylostrongylata</i>	88
4.29. Esponja <i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i> (flecha) perforando el interior de un coral pociloporido.	90
4.30. Espículas de <i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i>	91
4.31. Espículas de <i>Pione lampa</i>	93
4.32. Espículas de <i>Pione mazatlanensis</i>	95
4.33. Esponja <i>Pione vastifica</i> (flechas) perforando tubos de poliquetos.	98
4.34. Espículas de <i>Pione vastifica</i>	99
4.35. <i>Sphaciospongia incrustans</i> genera cavidades grandes que rellena con la esponja (flecha).	106
4.36. Espículas de <i>Sphaciospongia incrustans</i>	107
4.37. Forma de cáliz de <i>Sphaciospongia ndabazithe</i>	109
4.38. Espículas de <i>Sphaciospongia ndabazithe</i>	110
4.39. Espículas de <i>Sphaciospongia</i> aff. <i>ruetzleri</i> , espécimen de Indonesia.	112
4.40. Espículas de <i>Siphonodictyon crypticum</i>	114
4.41. Espículas de <i>Thoosa calpulli</i>	116
4.42. Espículas de <i>Thoosa calpulli</i>	117
4.43. Espículas de <i>Thoosa mismalolli</i>	119
5.1. Galerías de perforación (columna izquierda) y huella de erosión (columna derecha).	129
5.2. Galerías de perforación (columna izquierda) y huella de erosión (columna derecha).	130
5.3. Galerías de perforación (columna izquierda) y huella de erosión (columna derecha).	131

5.4. Promedios de longitud y área de huellas de erosión por especies.	132
5.5. Comparación de huella de excavación entre los distintos géneros de esponjas perforadoras.	133
6.1. Filogenia de la familia Clionaidae con 28S.	141
6.2. Filogenia de la familia Clionaidae con COI.	143
6.3. Filogenia de la familia Clionaidae con 18S.	145
6.4. Filogenia morfológica con las especies incluidas en la filogenia molecular.	148

Resumen

Las esponjas excavadoras son organismos que erosionan sustratos calcáreos como: tubos de poliquetos, conchas de moluscos, algas calcáreas y arrecifes coralinos, entre otros. La mayoría de estas especies se encuentran incluidas en la familia Clionaidae (Demospongiae: Clionaida), la cual está integrada por 10 géneros, siendo *Cliona* el más diverso con 160 especies.

La taxonomía de Clionaidae se basa principalmente en la morfología de las espículas, y probablemente la mayoría de los géneros, principalmente *Cliona*, son considerados polifiléticos.

Esta tesis surgió como una propuesta para esclarecer la sistemática de las esponjas excavadoras del Pacífico y Caribe de México. Sin embargo, en un intento de obtener la mayor variabilidad posible de esta, se incluyeron especies de otras regiones como el Pacífico de Centroamérica, el Caribe (Costa Rica), el Mediterráneo (incluido el mar Adriático, el mar de Liguria y el mar de Alborán), el Indo-Pacífico oeste (Mozambique), y el Indo-Pacífico central (Gran Barrera Arrecifal).

En la tesis se presenta la diagnosis de las especies estudiadas, además se incorpora información de otras especies a partir de la literatura, lo cual nos ha permitido tener una mejor idea de la variedad morfológica de la familia Clionaidae. Adicionalmente, se evaluó el posible valor taxonómico de las características asociadas al patrón de excavación: galerías, canales de unión y huella de erosión. La información obtenida sugiere que estas no tienen valor taxonómico a nivel de especie pero sí a niveles de familia y orden.

Para el análisis molecular se obtuvieron los marcadores, COI, 28S y 18S, además se utilizaron secuencias disponibles en la base de datos del GenBank. Se realizaron tres filogenias que fueron consistentes entre sí. También se realizó una filogenia morfológica basada principalmente en los elementos espiculares, la cual, a pesar de que no tuvo buena resolución, apoyó las filogenias moleculares.

Con base en los resultados obtenidos, se propone la existencia de cuatro complejos de especies, *Cliona amplicavata*, *C. californiana*, *C. mucronata* y *C. vermifera*. De estos el complejo *C. mucronata* ha sido descrito en este trabajo, con base en evidencias morfológicas y marcadores moleculares, así como dos nuevas especies *C. mariae* en el Pacífico oriental y *C. yorkin* en el mar Caribe.

Se propone resucitar y enmendar el género *Bernatia* descrito originalmente para una especie del Mediterráneo. Se enmienda el género *Cliona*, y se propone la creación de dos nuevos géneros; uno caracterizado por variaciones en los tilostilos, y otro por la presencia de espirásteres similares a los presentes en la familia Spirastrellidae.

También se sinonimiza el género *Cervicornia* con *Sphaciospongia*, y se enmienda la diagnosis de este último. Algunas especies del género *Cliona* también se deberían incluir en este género. Sin embargo, es necesario realizar estudios con más especies para robustecer esta hipótesis.

Por último los géneros *Spiroxya* y *Volzia* según evidencias moleculares, espiculares y patrón de erosión, parecen estar muy alejados del resto de especies de la familia Clionidae, lo que sugiere la creación de una nueva familia.

Capítulo 1

Introducción

1.1. Filo Porifera

El filo Porifera es uno de los más diversos, actualmente cuenta con más de 9300 especies aceptadas (van Soest et al. 2020), y miles más permanecen aún en colecciones o museos a la espera de ser descritas (Thacker et al. 2013). Su larga historia evolutiva, que parte de 700 millones de años atrás, colocan a las esponjas como uno de los organismos multicelulares más antiguos y exitoso entre los metazoos, habiendo sobrevivido a eventos de extinción masiva y a cambios climáticos sin tener mayor repercusión en su plan corporal, además de tener presencia en todos los ambientes acuáticos (Hooper & van Soest, 2002). Porifera está consituido por organismos sésiles, no bilaterales, que en su mayoría poseen un sistema acuifero formado de poros inhalantes y exhalantes, en los que una capa de células flageladas conocidas como coanocitos bombean corrientes de agua en un flujo unidireccional (Hooper et al. 2002).

El sistema acuífero junto a la alta movilidad celular y la totipotencia en algunas de sus células son parte de las sinapomorfías de este grupo sin embargo, hay excepciones, por ejemplo, la familia Cladorhizidae, que comprende esponjas carnívoras (Hajdu & Vacelet, 2002). Se podría decir que las características que agrupan a todos los poríferos son: organismos multicelulares que forman capas embrionarias distintas a las del resto de metazoos y con una organización celular que no desarrolla tejidos verdaderos pero que es eficiente en funciones de alimentación y reproducción.

La mayoría de esponjas han desarrollado un cuerpo provisto de fibrillas de colágeno, fibras de espongina y un esqueleto inorgánico constituido por espículas de carbonato de calcio y/o dióxido de sílice (Hooper et al. 2002). Estas espículas y la estructura que forman han sido la base de la taxonomía tradicional. Debido a la importancia de las espículas, se ha generado una compleja terminología para expresar tamaño, forma y simetría (Rützler & Macintyre, 1978), aunque en algunos casos, su uso no es muy consistente y es en este contexto en el que se publica en el 2002 el *Systema Porifera* (Hooper & van Soest, 2002), compendio de literatura y claves dicotómicas que llegan a solucionar muchos problemas relacionados con la taxonomía.

El *Systema Porifera* es la mayor revisión del grupo que abarca desde géneros, subfamilias, familias, subórdenes, órdenes y clases. Sin embargo, del 2002 a la fecha, los estudios en filogenia molecular han sacudido las bases taxonómicas del *Systema Porifera* el cual se basó esencialmente en la morfología y en las estructuras esqueléticas, caracteres que han demostrado ser altamente homoplásicos (Wörheide et al. 2012; Morrow & Cárdenas, 2015). Incluso los estudios de filogenia molecular sugieren que la evolución de las espículas es más intrincada de lo que se había pensado (Cárdenas et al. 2011). La homoplasia comprendida entre los procesos de evolución convergente y pérdidas secundarias de espículas son temas particularmente difíciles y esto ha llevado a la no monofilia en muchos órdenes y familias (Cárdenas et al. 2011).

A casi dos décadas de la publicación del *Systema Porifera*, se comprende que este fuese el inicio de una era en la que estudios morfológicos unidos a moleculares sean la mejor aproximación para aclarar la compleja sistemática de los diferentes grupos de esponjas.

1.2. Esponjas excavadoras

En el filo *Porifera* uno de los grupos de mayor impacto ecológico son las esponjas perforadoras. Su capacidad de excavar estructuras de carbonato de calcio en los ambientes marinos principalmente arrecifes de coral, conchas de bivalvos, etc, les hacen actores en la dinámica arrecifal de acreción-erosión. Spencer & Viles (2002) calculan una acreción rápida en los corales que podría llegar a $10 \text{ kg CaCO}_3 \text{ m}^2$ por año, mientras que las esponjas podrían infestar y perforar a tasas aproximadas de $23 \text{ kg CaCO}_3 \text{ m}^2$ por año. De hecho varios estudios reconocen a las espon-

jas como los organismos bioerosionadores más importantes incluso más que bivalvos, cirripedios, sipuncúlidos y anélidos (e.j. Macgeachy & Stearn, 1976).

La capacidad excavadora, por un tiempo fue considerada una autopomorfía de la familia Clionaidae D'Orbigny, 1851 (Rosell, 1996). Con el auge de la metodología cladista (Hennig, 1965), el uso de características morfológicas tomó una mayor relevancia, y en los años setentas se llegó a concluir que la capacidad de perforar no es exclusiva de una familia (Rosell, 1996). Actualmente se sabe que la capacidad de excavar aparece al menos seis veces en la evolución de las esponjas por lo que se tienen especies en distintas Familias y Órdenes. Sin embargo, aún se piensa que la Familia Clionaidae sigue siendo un grupo polifilético y que géneros dentro de esta familia son polifiléticos también, por ejemplo el género *Cliona* Grant, 1826, al que pertenecen 158 especies (Morrow & Cardenás, 2015; van Soest et al. 2020). De ahí la necesidad en primer lugar, de aclarar el valor taxonómico de algunas características morfológicas.

Como ya se ha mencionado, la estructura esquelética: el tamaño y la forma de las espículas, han sido tradicionalmente utilizados como las principales características de la taxonomía de esponjas. Sin embargo, no hay consenso del valor taxonómico para un carácter dado, y el mismo tipo de carácter es usado en diferentes niveles taxonómicos (Uriz et al. 2003). Un ejemplo de esto es como la presencia o ausencia de microscleras separa géneros en muchos casos pero también permite distinguir entre familias, incluso en un orden, la presencia de un tipo de microscleras es considerado una característica sinapomórfica (Uriz et al. 2003). Mientras que en la familia Clionaidae, un mismo género puede tener especies con una gran variedad de tipos espiculares, con y sin microscleras.

Dentro del género *Cliona* por ejemplo, se puede distinguir especies con distintos tipos espiculares muy heterogéneos, algunas (i) que solo poseen un tipo de megascleras (tilostilos); otras (ii) que poseen dos tipos de megascleras (tilostilos largos y chicos); otras especies (iii) que poseen tilostilos como megascleras y además un segundo tipo derivado de los tilostilos, ya sean estilos, ráfides o tilostrongilos. Otras especies poseen tilostilos como megascleras pero además (iv) espirásteres rectos y una mayor espinación en los extremos; (v) espirásteres ondulados y alargados; (vi) microstrongilos espiralados (o espirásteres lisos); (vii) amfiásteres.

Por otro lado, los tipos espiculares están dados genéticamente a través del filamento axial,

eje de origen proteico que da forma a la espícula (ver espiculogénesis) por lo que son fuente de información filogenética para la reconstrucción de la historia evolutiva de las esponjas. Otra característica importante es la formación de galerías en el interior del carbonato de calcio, así como la huella de perforación que genera la esponja en las paredes de las cámaras. Estas últimas podrían ser caracteres importantes para ser utilizados a nivel taxonómico y así apoyar la identificación espicular. Una descripción detallada del patrón de perforación en el coral, así como la huella de perforación unida a las demás características morfológicas y la filogenia molecular podría contribuir a dar el valor taxonómico adecuado a la estructura espicular y a la forma en la que estos organismos erosionan el sustrato.

Actualmente se distinguen cinco órdenes y seis familias que contienen especies de esponjas excavadoras (Tabla 1.1). Se dan casos de familias en las que solo hay un género como ocurre con la familia Samidae y el género *Samus* (van Soest & Hooper, 2002) o la familia Acarnidae y el género *Zyzzya* (Hooper, 2002).

Tabla 1.1: Órdenes y familias de esponjas perforadoras.

Orden	Familia	Fuente
Clionaida	Clionaidae	Morrow & Cárdenas (2015)
Tetractinellida	Thoosidae	Cárdenas et al. (2011)
Tetractinellida	Ancorinidae	Calcinai et al. (2001)
Spirophorida	Samidae	van Soest & Hooper (2002)
Haplosclerida	Phloeodictyidae	Desqueyroux-Faúndez & Valentine (2002)
Poecilosclerida	Acarnidae	Hooper (2002)

La familia Clionaidae está conformada por 260 especies distribuidas en 10 géneros (van Soest et al. 2020). Algunos géneros tienen una alta diversidad de especies, otros muy pocas (Tabla 1.2).

1.3. Espículas y espiculogénesis

Las espículas han sido tradicionalmente separadas en dos categorías según su tamaño, se distinguen las megascleras y las microscleras (Hooper & van Soest, 2002). En general, se piensa que las megascleras tienen un papel más estructural en la formación del andamiaje esquelético,

Tabla 1.2: Géneros de la familia Clionaidae y número de especies que comprenden.

Entre paréntesis el número de especies presentes en el Pacífico mexicano.

Género	Número de especies
<i>Cervicornia</i> Rützler & Hooper, 2000	1
<i>Cliona</i> Grant, 1826	158 (13)
<i>Clionaopsis</i> Rützler, 2002	2
<i>Cliotheosa</i> Topsent, 1905	8 (1)
<i>Dotona</i> Carter, 1880	2
<i>Pione</i> Gray, 1867	31 (2)
<i>Scolopes</i> Sollas, 1888	3
<i>Sphaciospongia</i> Marshal, 1892	42 (2)
<i>Spiroxya</i> Topsent 1896	10
<i>Volzia</i> Rosell & Uriz 1997	3

mientras que las microscleras están dispersas en el cuerpo de la esponja (Uriz et al. 2003; Eckert et al. 2006).

Las células encargadas de sintetizar estos elementos esqueléticos son los esclerocitos (Eckert et al. 2006). Estos se dividen en microsclerocitos (forman las microscleras) y megasclerocitos (forman las megascleras), los primeros más chicos y carentes de núcleo (Wilkinson & Garrone, 1980). Todo esclerocito toma de forma activa, ácido silícico del ambiente a través de un co-transportador de $\text{Na}^+/\text{HCO}_3^- [\text{Si}(\text{OH})_4]$ a la vez que forman un cuerpo protéico llamado filamento axial (Müller et al. 2009) que está constituido por silicateínas alfa, beta y gama; proteínas muy similares a miembros de la familia de las proteasas (Uriz et al. 2003). El sílice se deposita recubriendo el filamento a través de organelas de los esclerocitos que reciben el nombre de silicosomas (Müller et al. 2009). En este proceso las silicateínas junto con las galactinas son las que median esta deposición alrededor del filamento (Eckert et al. 2006).

Posterior a la primer deposición de sílice, las capas consecutivas se darán extracelularmente siempre mediadas por silicateínas y galactinas. El desarrollo de la forma final de la espícula (morfogénesis) sigue siendo un misterio pero una posible explicación son las fibras de colágeno que forman una maya alrededor de la espícula y que serían el andamiaje para que las galactinas y silicateínas modelaran la forma final de cada espícula (Müller et al. 2009).

El silicio utilizado en la espiculogénesis, se toma en su forma soluble de ácido silícico, sin

embargo, condiciones ambientales entre ellas, concentración de sílice en agua, temperatura, factores nutricionales e incluso las corrientes a las que están sometidas las esponjas pueden interferir en el proceso de espiculogénesis (Cárdenas & Rapp, 2013).

Cada tipo de esclerocito (micro- o megasclerocito) requiere una concentración de sílice particular, necesaria para poder producir la espícula correspondiente (Uriz et al. 2003). Se piensa que el umbral de concentración de sílice sería mayor para los microesclerocitos (Maldonado et al. 1999) y de hecho esta sería la razón de por qué en algunas ocasiones hay diferencias muy marcadas en la cantidad de microscleras entre individuos de una misma especie (Eckert et al. 2006).

También se ha observado como en función del ambiente la misma especie puede formar o no un tipo de espícula hipersilificada denominada desma y en otras especies aparecen esferas de sílice como respuesta a la concentración de ácido silícico en el ambiente (Uriz et al. 2003). La polimerización del sílice en condiciones bióticas o abióticas, origina micro y nanoesferas que han sido observadas en espículas en crecimiento de la familia Clionidae (Uriz et al. 2003). Bibiloni (1990) observó como especies del Mediterráneo que viven en aguas pobres en silicio producen espículas notablemente más pequeñas y delgadas que sus contrapartes en el Atlántico. La forma de las espículas también puede variar con el ambiente, por ejemplo la variación entre tilostilos y subtilostilos puede depender de la concentración de silicio (Boury-Esnault & Rützler, 1997). Comúnmente el tamaño de las espículas es utilizado para distinguir entre especies del mismo género (Corriero et al. 2006), a pesar de que condiciones ambientales pueden afectar este rasgo como ya se ha mencionado.

Por último, se da la formación del andamiaje esquelético. Una vez concluido el proceso de silificación en el mesohilo (interior del “tejido” de la esponjas), las espículas son transportadas hasta el lugar donde se les requiere recorriendo cientos de micras (Eckert et al. 2006). Las espículas ya ensambladas constituirían una barrera para el transporte de otras espículas, por lo que se ha sugerido que la síntesis también ocurre “in situ” (Uriz et al. 2003).

La evolución ha permitido la formación y el mantenimiento de muchas formas de espículas y estructuras espiculares que pueden tener una función esquelética análoga; sin embargo, esta diversidad de formas, mezcladas en pocos géneros como es el caso de *Cliona* hace pensar que lo que se tienen son grupos polifiléticos. En la figura 1.1 se ilustra parte de esta variedad espicular.

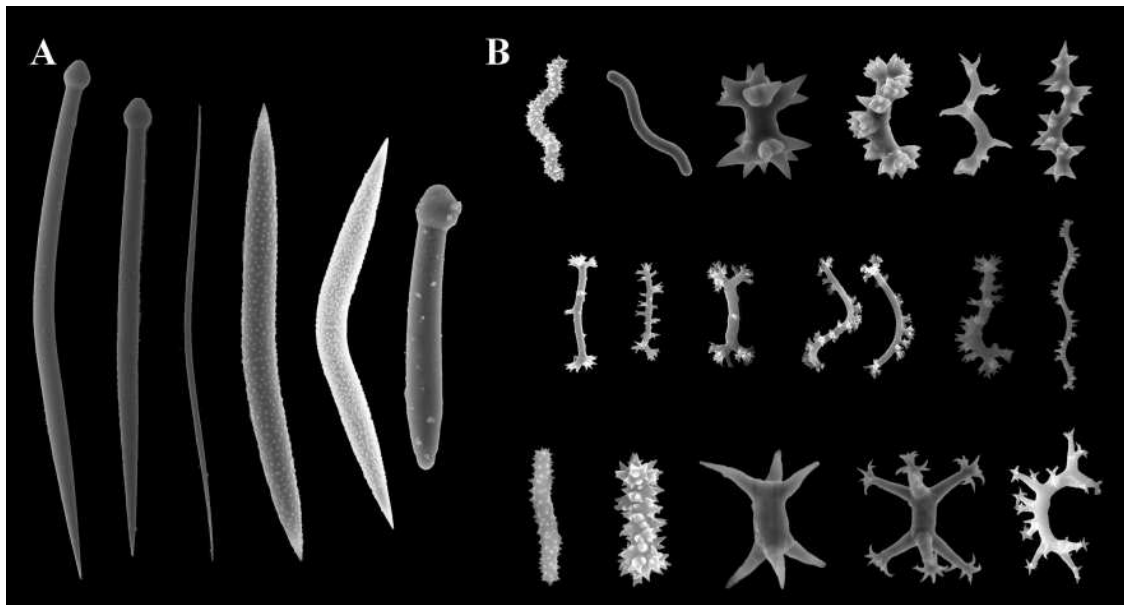


Figura 1.1: Variedad de espículas en la familia Clionaidae. A. Megascleras; B. Microscleras.

1.4. Patrón de perforación y huella de erosión

La capacidad de las esponjas para perforar carbonato de calcio y los mecanismos asociados a este proceso generaron controversias en la sociedad científica y aún hoy día no se entiende por completo. La primera esponja de este grupo fue descrita por Bosc en 1802 con el nombre de *Spongia peziza*. Actualmente se piensa que fue un miembro del complejo *Cliona celata*. Para 1808 se descubrieron trazos fósiles de perforación que sin embargo, fueron reportados como trazos hechos por organismos similares a cnidarios (Schönberg, 2008). A pesar de estos precedentes, no fue hasta 1826 que R. E. Grant describe la bioerosión de estos organismos y crea el género *Cliona*. Por otro lado, él también pensó que se trataba de organismos que estaban entre las esponjas y los cnidarios (Schönberg, 2008).

Para mediados de 1800s este grupo de esponjas atrajo la atención por las interrogantes que se generaban sobre las cavidades en las que se encontraban. ¿Excavan las esponjas sus propias cavidades o simplemente viven en cavidades realizadas por otros organismos?

Para finales del siglo XIX estaba extendida la propuesta de que las esponjas erosionaban activamente el carbonato de calcio (Schönberg, 2008). Este proceso de perforación, fue tratado

por Nassonow (1883), quien propuso que la excavación se llevaba a cabo a través de un proceso tanto químico como físicos. La combinación de un proceso físico-químico daría como resultado una reducción en la energía requerida para la excavación (Nassonow, 1883). Ya para esta fecha la existencia de partículas producto de erosión física (chips en inglés) — que se lanzan al exterior — estaba demostrado, sin embargo, la sustancia química que pudiese producir la esponja como parte de la erosión química aún era desconocida a pesar de que surgen seis estudios desde 1849 hasta 1973 para encontrar el agente erosivo.

Cobb (1969) fue el primero en acuñar la expresión “sponge chip” (partícula de carbonato producidas por las esponjas durante el proceso de erosión) y sus datos sugerían que *Cliona celata* generaba una partícula de carbonato a partir de un célula excavadora, mientras que en *Pione lampa* las partículas de carbonato eran producidos por múltiples células que formaban una red de filopodios con los que formaban una especie de canasta permitiendo desprender el fragmento de sustrato que posteriormente era expulsado al exterior.

Las observaciones de Cobb (1969) coincidían con las ya realizadas por Warburton (1958) y fueron las que condujeron a Rützler & Rieger (1973) a sugerir la posibilidad de que tipos celulares, organelos y productos de secreción involucrados en la erosión, fueran diferentes entre especies. Esto explicaría el valor taxonómico que posee el patrón de perforación.

En Pomponi (1977) y Pomponi (1979b) se estudian las células perforadoras de las esponjas, las cuales contienen un núcleo sin nucléolos, aparato de Golgi, mitocondrias, un retículo endoplasmático rugoso muy bien desarrollado, fagosomas, gránulos de glicógeno y numerosas vacuolas, además de tener la capacidad de sintetizar proteínas, secreción, absorción y digestión intracelular. Pomponi (1979a) también encontró actividad de anhidrasa carbónica asociada a las células excavadoras así como actividad de fosfatasa ácida, la primera asociada a la disolución de material mineral y la fosfatasa involucrada en la digestión de componentes orgánicos tanto extra como intracelulares.

Hatch (1980) sugirió la posibilidad de que la anhidrasa carbónica fuera la responsable de i) transportar iones hidrógeno a través de la membrana; o ii) intercambiar iones hidrógeno por iones bicarbonato, reduciendo el pH y consecuentemente disolviendo el sustrato; o iii) Proveer un pH óptimo para procesos químicos posiblemente involucrando agentes quelantes u otras enzimas.

La anhidrasa carbónica y la fosfatasa ácida se sintetiza en el retículo endoplasmático y complejo de Golgi formando lisosomas para ser transportada al espacio extracelular de la célula excavadora donde disuelven el material disociando los iones Ca^{+2} y CO_3^{-2} (Pomponi, 1979a), para ser reincorporados a la columna de agua donde podrán ser reutilizado por los organismos fijadores.

Ahora se sabe que existen células excavadoras en las partes periféricas de túneles y galerías dentro del coral que son las responsables de generar numerosos procesos filopodiales que perforan y forman grietas hasta formar una malla alrededor de pequeños fragmentos de la estructura cálcica que posteriormente serán liberados al medio (Pomponi, 1980). La célula excavadora inicial es desplazada por una nueva que ocupa el nuevo espacio por excavar (Pomponi, 1980).

En el área de excavación confluyen otras células como los amebocitos, células totipotentes que poseen las esponjas y que se ha sugerido que regulan la población de células a través de su diferenciación (Rützler & Rieger, 1973). Es muy probable que las células excavadoras también se hayan diferenciado a partir de amebocitos (Rützler & Rieger, 1973).

1.5. Delimitación de especies

Little (1963, 1968) señaló los intentos que se hacían para clarificar y resolver los problemas taxonómicos dentro del género *Cliona*. Él intentó definir qué características pueden delimitar una especie en este grupo. Ferrario et al. (2010) subrayan que algunos géneros son fácilmente distinguibles debido a su espiculación, por ejemplo el género *Pione*, pero la identificación entre especies es un reto mayor, ya que muchas características se traslapan, como es el caso del complejo *Pione vastifica*.

Lejos de encontrar una clasificación taxonómica adecuada, los desacuerdos en la comunidad científica intentaron ser esclarecidos por Rosell & Uriz (1997), quienes presentan uno de los trabajos más completos en relación a la sistemática de esponjas perforadoras. Las autoras utilizaron un análisis cladístico basado principalmente en la micromorfología de las espículas y su organización en el esqueleto. En sus conclusiones proponen los géneros *Volzia* y *Bernatia* como nuevos y reorganizan especies del género *Cliona* en los géneros: *Scantilletta*, *Pione*, *Volzia* y *Bernatia*. A partir del trabajo de Rosell & Uriz (1997) la familia Clionidae quedó integrada por los géneros *Cliona*, *Cliothesa*,

Clionopsis, *Pione*, *Dotona*, *Sphaciospongia*, *Volzia*, *Scantilletta* y *Bernatia*.

Posteriormente el género *Bernatia*, fue sinonimizado con *Cliona* (Rützler, 2002); el género *Scantilletta* pasaría a ser *Spiroxya* por prioridad; se describe como nuevo el género *Cervicornia* (Rützler & Hooper, 2000); y el género *Scolopes* que se tenía como incierto, pasó a la familia Clionaidae (Borchiellini, Alivon & Vacelet, 2004), y especies de la familia Alectonidae se dividieron entre Clionaidae y Astrophorida (Morrow & Cárdenas, 2015).

Gran parte del trabajo de Rosell & Uriz (1997) incluyendo géneros nuevos (ej. *Bernatia*), no ha sido suficientemente robusto debido a que solo se contó con la evidencia de espículas. Se hace necesaria la información molecular para poder proponer una filogenia más robusta. Además, la calidad de las descripciones disponibles para la fecha 1997 y la carencia de especies de la región del Pacífico dificultan la capacidad del estudio para concluir al respecto (Schönberg, 2000).

1.6. Marcadores moleculares para la delimitación de especies

La importancia de los marcadores moleculares radica en que ayudan a delimitar especies así como poblaciones y establecer patrones filogenéticos. Estudios que implementen esta herramienta tienen el poder de ver en el pasado así como en el presente y generar posibles procesos evolutivos (Mathews, 2006).

Los primeros estudios genéticos en esponjas se realizaron utilizando aloenzimas para discriminar entre poblaciones (Solé-Cava & Torpe, 1986). En el 2006 las aloenzimas se utilizaron para estudiar la capacidad de dispersión asexual de la especie excavadora *Cliona delitrix*, y fue posible encontrar una estructura poblacional, confirmando el buen desempeño a nivel intraespecie (Zilberberg et al. 2006).

En los noventa surgieron estudios que esclarecen las relaciones filogenéticas entre géneros, familias y órdenes, principalmente utilizando como marcadores moleculares la subunidad pequeña 18S y la subunidad grande 28S de los genes de ARN ribosomal (Cárdenas, 2010). A partir de aquí los estudios filogenéticos unidos a la taxonomía tradicional basada en morfología han permitido

tener mayor resolución para poder establecer una sistemática más sólida (Cárdenas, 2010).

Barucca et al. (2007) realizaron la única filogenia molecular de la familia Clionaidae, donde analizaron 13 especies utilizando los marcadores D2 y D3 del 28S ADN_r, y observaron que el D3 era menos informativo para explorar relaciones filogenéticas entre esponjas perforadoras. El análisis no soportó la separación entre los géneros *Cliona* y *Cliothisa*. Por otro lado, mostró que *Cliona viridis* y *Ciona nigricans*, a pesar de las diferencias morfológicas, no se separan genéticamente. Mientras que una especie morfológicamente similar a *Cliona celata*, a excepción de su coloración, hizo pensar que se trataba de un complejo de especies hermanas (Barucca et al. 2007). Por último estos marcadores mostraron que no hay separación entre los especímenes de *Cliona schmidtii* del Mediterráneo y del Indo-Pacífico (Barucca et al. 2007).

Los Espaciadores de Transcripción Interna (ITS por su abreviación en inglés) han sido utilizados con éxito en algunos estudios filogenéticos demostrando la existencia de complejos de especies (Wörheide et al. 2002), así como en análisis de estructura de poblaciones (Duran et al. 2004).

Se ha reportado que la subunidad uno que sintetiza el Citocromo Oxidasa C (COI) puede ser un buen marcador filogenético (Erpenbeck & Wörheide, 2007; Erpenbeck et al. 2007), esto aún a pesar de que los metazoos primitivos como Porifera y Cnidaria tienen una lenta evolución en su ADN mitocondrial (Duran et al. 2004), que impide obtener información útil para resolver problemas a nivel poblacional. Un caso particular es el fragmento Folmer (Folmer et al. 1994) de COI que ha mostrado ser exitoso en algunos casos al usarse en estudios interespecie e intraespecie (Duran & Rützler, 2006). Otro marcador mitocondrial utilizado ha sido el ATP sintetasa que ha dado clados coincidentes con los marcadores COI y 28S en las esponjas perforadoras *Cliona celata* y *Cliona vermifera* (Xavier et al. 2010; León-Pech et al. 2015).

En los últimos años han surgido trabajos que implementan análisis filogenéticos con un gran impacto en la sistemática del filo Porifera. Es el caso de Gazave et al. (2011) que muestran que Homoscleromorpha, tradicionalmente agrupado dentro de la clase Demospongiae, es en realidad una clase distinta. Homoscleromorpha agrupa alrededor de 100 especies de esponjas marinas y la evidencia para sugerirlo como una nueva clase surge del análisis molecular de los marcadores 18S y 28S ADN_r de 20 especies (Gazave et al. 2010).

Otro trabajo pionero que aplicó la herramienta molecular a la sistemática de un grupo taxonómico fue el trabajo de Cárdenas et al. (2011) en el que se desarrolla la filogenia molecular del orden Astrophorida, además de trazar la evolución de las espículas y la importancia de la homoplasia en el grupo. Astrophorida estaba constituido por unas 820 especies antes del estudio que ellos desarrollan y donde se propone una nueva clasificación. Su metodología se basó en el análisis molecular de 153 especímenes que representaron 89 especies (Cárdenas et al. 2011).

Morrow & Cárdenas (2015) propusieron una reestructuración de la sistemática de la clase Demospongiae y crearon nuevos órdenes incluyendo el orden Clionaida. Además sugirieron la revisión de los taxa en Demospongiae a través de análisis moleculares para poder establecer grupos monofiléticos.

En el caso de las esponjas perforadoras, actualmente se contabilizan siete trabajos en los que se utilizan marcadores moleculares para especies de la familia Clionaidae. La mayoría han sido con número de especies muy limitadas y para analizar complejos de especies más que el grupo como tal. Los trabajos se enumeran en la tabla 1.3.

Tabla 1.3: Trabajos que incluyen marcadores moleculares en especies de la familia Clionaidae.

Artículos	Marcadores	Especies
Bavestrello et al. (1996)	Aloenzymas	<i>Cliona</i>
Zilberberg et al. (2006)	Aloenzymas	<i>Cliona delitrix</i>
Barucca et al. (2007)	28S	Clionaidae
Xavier et al. (2010)	COI, 28S	<i>Cliona celata</i>
Ferrario et al. (2010)	COI	<i>Pione vastifica</i> & <i>Pione lampa</i>
de Paula et al. (2012)	COI, ITS	<i>Cliona celata</i>
Escobar et al. (2012)	ITS	<i>Cliona viridis</i> complejo
León-Pech et al. (2015)	COI, ATP6, ITS	<i>Cliona vermifera</i>
Leal et al. (2016)	28S	<i>Cliona viridis</i> complejo
Pacheco et al. (2020)	COI, 28S	<i>Cliona mucronata</i> complejo

Referencias

- Barucca, M., Azzini, F., Bavestrello, G., Biscotti, M. A., Calcinai, B., Canapa, A., Cerrano, C. & Olmo, E. (2007). The systematic position of some boring sponges (Demospongiae, Hadromerida) studied by molecular analysis. *Marine Biology*. 151 (2), 529-535.
- Bavestrello, G., Calcinai, B., Cerrano, C., Pansini, M. & Sarà, M. (1996). The taxonomic status of some Mediterranean clionids (Porifera: Demospongiae) according to morphological and genetic characters. *Bulletin van het Koninlijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen-Biologie*. 66, 185-195.
- Bibiloni, M. A. (1990). Fauna de esponjas de las islas Baleares. Variación cualitativa y cuantitativa de la población de esponjas en un gradiente batimétrico. Comparación Baleares-costa catalana (Tesis Doctoral no publicada). Universitat de Barcelona.
- Borchiellini, C., Alivon, E. & Vacelet, J. (2004). The systematic position of *Alectona* (Porifera, Demospongiae): a tetractinellid sponge. *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*. 68, 209-217.
- Boury-Esnault, N. & Rützler, K. (1997) Thesaurus of Sponge Morphology. *Smithsonian Contributions to Zoology*. 596: 1-55.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., Cerrano, C. & Sarà, M. (2001). Boring sponges living into precious corals from the Pacific Ocean. *Italian Journal of Zoology*. 68 (2), 153-160.
- Cárdenas, P. (2010). Phylogeny, taxonomy and evolution of the Astrophorida (Porifera, Demospongiae) (Tesis Doctoral no publicada). University of Bergen.
- Cárdenas, P. & Rapp, H. T. (2013). Disrupted spiculogenesis in deep-water geodiidae (Porifera, Demospongiae) growing in shallow waters. *Invertebrate Biology*. 132(3), 173-194.

- Cárdenas, P. Xavier, J. R., Reveillaud, J., Schander, C. & Rapp, H. T. (2011). Molecular phylogeny of the Astrophorida (Porifera, Demospongiae) reveals an unexpected high level of spicule homoplasy. *PLOS One*. 6 (4), e18318.
- Cobb, W. R. (1969). Penetration of calcium carbonate substrates by boring sponge, *Cliona*. *American Zoologist*. 9 (3), 783-790.
- Corriero, G. & Marzano, C. N. (2006). A new species of *Cliona* (Demospongiae, Hadromerida) from the Mediterranean Sea. *Italian Journal of Zoology*. 73(2), 191-195.
- de Paula, T. S., Zilberberg, C., Hajdu, E. & Lôbo-Hajdu, G. (2012). Morphology and molecules on opposite sides of the diversity gradient: four cryptic species of the *Cliona celata* (Porifera, Demospongiae) complex in South America revealed by mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62 (1), 529-541.
- Desqueyroux-Faúndez, R. & Valentine, C. (2002). Family Phloeodictyidae Carter, 1882. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 893-905.
- Duran, S., Pascual, M. & Turon, X. (2004). Low levels of genetic variation in mtDNA sequences over the western Mediterranean and Atlantic range of the sponge *Crambe crambe* (Poecilosclerida). *Marine Biology*. 144 (1), 31-35.
- Duran, S. & Rützler, K. (2006). Ecological speciation in a Caribbean marine sponge. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 40, 292-297.
- Eckert, C., Schröder, H. C., Brandt, D., Perovic-Ottstandt, S. & Müller, W. E. (2006). Histochemical and electron microscopic analysis of spiculogenesis in the demosponge *Suberites domuncula*. *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*. 54 (9), 1031-1040.
- Erpenbeck, D., Duran, S., Rützler, K., Paul, V., Hooper, J. N. & Wörheide, G. (2007). Towards

- a DNA taxonomy of caribbean demosponges: a gene tree reconstructed from partial mitochondrial COI gene sequences supports previous rDNA phylogenies and provides a new perspective on the systematics of Demospongiae. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87 (6), 1563-1570.
- Erpenbeck, D. & Wörheide, G. (2007). On the molecular phylogeny of sponges (Porifera). *Zootaxa*. 1668 (1), 107-126.
- Escobar, D., Zea, S. & Sánchez, J. A. (2012). Phylogenetic relationships among the Caribbean members of the *Cliona viridis* complex (Porifera, Demospongiae, Hadromerida) using nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 64 (2), 271-284.
- Ferrario, F., Calcinai, B., Erpenbeck, D., Galli, P. & Wörheide, G. (2010). Two *Pione* species (Hadromerida, Clionaidae) from the Red Sea: a taxonomical challenge. *Organisms diversity and Evolution*. 10 (4), 275-285.
- Folmer, O., Blanck, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for the amplification of mitochondrial Cytochrome C Oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5), 294-299.
- Gazave, E., Lapébie, P., Ereskovsky, A. V., Vacelet, J., Renard, E., Cárdenas, P. & Borchiellini, C. (2012). No longer Demospongiae: Homoscleromorpha formal nomination as fourth class of Porifera. *Hydrobiologia.*, 687, 3-10.
- Gazave, E., Lapébie, P., Renard, E., Vacelet, J., Rocher, C., Ereskovsky, A. V., Lavrov, D. V. & Borchiellini, C. (2010). *PLOS One*. 5 (12), e14290.
- Hajdu, E. & Vacelet, J. (2002) Family Cladorhizidae Dendy, 1922. *In*: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 636-641.

- Hatch, W. I. (1980). The implication of carbonic anhydrase in the physiological mechanism of penetration of carbonate substrata by the marine burrowing sponge *Cliona celata* (Demospongiae). *The Biological Bulletin*. 159 (1), 135-147.
- Hennig, W. (1965). Phylogenetic systematics. *Annual Review of Entomology*. 10 (1), 97-116.
- Hooper, J. N. (2002). Family Acarnidae Dendy, 1922. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 412-431.
- Hooper, J. N. & van Soest, R. W. (2002). Systema Porifera. A guide to the classification of sponges. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 1-7.
- Hooper, J. N., van Soest, R. W. & Debrenne, F. (2002). Phylum Porifera Grant, 1836. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 9-13.
- Leal, C. V., de Paula, T. S., Lôbo-Hajdu, G., Schönberg, C. H. & Esteves, E. L. (2016). Morphological and molecular systematics of the *Cliona viridis* complex from South-Eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 96 (2), 313-322.
- León-Pech, M., Cruz-Barraza, J. Carballo, J., Calderon-Aguilera, L. & Rocha-Olivares, A. (2015). Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific. *Coral Reefs*. 34 (3), 887-897.
- Little, F. J. (1963). An experimental or tentative revision of the genus *Cliona* utilizing the principles of the numerical taxonomy (Tesis Doctoral no publicada). University of Texas.
- Little, F. J. (1968). An experimental or tentative revision of the genus *Cliona* utilizing the principles

- of numerical taxonomy. *Proceedings of the Pennsylvania Academy of Science*. 42, 38-48.
- Macgeachy, J. K. & Stearn, C. W. (1976). Boring by macro-organisms in the coral *Montastrea annularis* on Barbados reefs. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie*. 61 (6), 715-745.
- Mathews, L. M. (2006). Cryptic biodiversity and phylogeographical patterns in a snapping shrimp species complex. *Molecular Ecology*. 15 (13), 4049-4063.
- Morrow, C. & Cárdenas, P. (2015). Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Frontiers in Zoology*. 12 (7).
- Müller, W. E., Wang, X., Cui, F. Z., Jochum, K. P., Tremel, W., Bill, J., Schöder, H. C., Natalio, F., Schlobmacher, U. & Wiens, M. (2009). *Applied Microbiology and Biotechnology*. 83 (3), 397-413.
- Nassonow, N. (1883). Zur biologie und anatomie der *Cliona*. *Zeitschrift für Wissenschaftliche Zoologie*. 39, 295-308.
- Pacheco, C., Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A. Schönberg, C. H. L. & Calcinaï, B. (2020). Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to *Cliona mucronata* (Demospongiae). *Systematics and Biodiversity*. 18 (6), 573-591.
- Pomponi, S. A. (1977). Etching cells of boring sponges: on ultrastructural analysis. *Proceedings of the 3rd International Coral Reef Symposium*. 2, 485-490.
- Pomponi, S. A. (1979a). Cytochemical studies of acid phosphatase in etching cells of boring sponges. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 59 (3), 785-789.
- Pomponi, S. A. (1979b). Ultrastructure of cells associated with excavation of calcium carbonate

substrates by boring sponges. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 59 (3), 777-784.

Pomponi, S. A. (1980). Cytological mechanisms of calcium carbonate excavation by boring sponges. *International Review of Cytology*. 65, 301-319.

Rosell, D. (1996). A diagnosis of the genus *Delectona* (Porifera, Demospongiae), with a description of a new species from the Alboran Sea (Western Mediterranean). *Helgoländer Meeresuntersuchungen*. 50 (4), 425-432.

Rosell, D. & Uriz, M. (1997). Phylogenetic relationships within the excavating Hadromerida (Porifera), with a systematic revision. *Cladistics*. 13 (4), 349-366.

Rützler, K. (2002). Family Clionaidae D'Orbigny, 1851. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 173-185.

Rützler, K. & Hooper, N. (2000). Two new genera of hadromerid sponges (Porifera, Demospongiae). *Zoosystema*. 22 (2), 337-344.

Rützler, K. & Macintyre, I. G. (1978). Siliceous sponge spicules in coral reef sediments. *Marine Biology*. 49 (2), 147-159.

Rützler, K. Rieger, G. (1973). Sponge burrowing: fine structure of *Cliona lampa* penetrating calcareous substrata. *Marine Biology*. 21 (2), 144-162.

Schönberg, C. (2000). Sponges of the 'Cliona viridis complex' - a key for species identification. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium*. 1, 23-27.

Schönberg, C. H. (2008). A history of sponge erosion: from past myths and hypotheses to recent approaches. In: Wisshak, M. & Tapanila, L. (Eds.), *Current Developments in Bioerosion*,

Springer-Verlag, Berlin Heidelberg. pp. 165-202.

- Schönberg, C. H. L., Grass, S. & Heiermann, A. T. (2006). *Cliona minuscula* sp. nov. (Hadromerida: Clionaidae) and other bioeroding sponges that only contain tylostyles. *Zootaxa*. 1312 (1), 1-24.
- Solé-Cava, A. & Thorpe, J. (1986). Genetic differentiation between morphotypes of the marine sponge *Suberites ficus* (Demospongiae: Hadromerida). *Marine Biology*. 93 (2), 247-253.
- Spencer, T. & Viles, H. (2002). Bioconstruction, bioerosion and disturbance on tropical coasts: coral reefs and rocky limestone shores. *Geomorphology*. 48 (1), 23-50.
- Thacker R. W., Hill, A. L., Hill, M. S., Redmond, N. E., Collins, A. G., Morrow, C. C., Spicer, L., Carmack, C. A., Zappe, M. E., Pohlmann, D., Hall, C., Díaz, M. C. & Bangalore, P. V. (2013). Nearly complete 28S rRNA gene sequences confirm new hypotheses of sponge evolution. *Integrative and Comparative Biology*. 53 (3), 373-387.
- Uriz, M. J., Turon, X., Becerro, M. A. & Agell, G. (2003). Siliceous spicules and skeleton frameworks in sponges: origin, diversity, ultrastructural patterns and biological functions. *Microscopy Research and Technique*. 62 (4), 279-299.
- van Soest, R., Boury-Esnault, N., Hooper, J., Rützler, K., de Voogd, N. J., Alvarez de Glasby, B., Hajdu, E., Pisera, A. B., Manconi, R., Schönberg, C., Klautau, M., Kelly, M., Vacelet, J., Dohrmann, M., Díaz, M. C., Cárdenas, P., Carballo, J. L., Ríos, P., Downey, R., Morrow, C. C. (2020). World Porifera Database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/porifera> on 2020-02-01.
- van Soest, R. W. & Hooper, J. N. (2002). Family Samidae Sollas, 1888. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 99-101.

- Warburton, F. E. (1985). The manner in which the sponge *Cliona* bores in calcareous objects. *Canadian Journal of Zoology*. 36 (4), 555-562.
- Wörheide, G., Degnan, B., Hooper, J. & Reitner, J. (2002). Phylogeography and taxonomy of the Indo-Pacific reef cave dwelling coralline demosponge *Astrosclera willeyana*, new data from nuclear internal transcribed spacer sequences. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium*. 339-346.
- Wörheide, G., Dohrmann, M., Erpenbeck, D., Larroux, C., Maldonado, M., Voigt, O., Borchiellini, C. & Lavrov, D. V. (2012). Deep phylogeny and evolution of sponges (Phylum Porifera). *Advances in Marine Biology* 61, 1-78.
- Xavier, J., Rachello-Dolmen, P., Parra-Velandia, F., Schönberg, C., Breeuwer, J. & van Soest, R. (2010). Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolita” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionaidae). *Molecular phylogenetics and evolution*. 56 (1), 13-20.
- Zilberberg, C., Maldonado, M. & Solé-Cava, A. (2006). Assessment of the relative contribution of asexual propagation in a population of the coral-excavating sponge *Cliona delitrix* from the Bahamas. *Coral Reef*. 25 (2), 297-301.

Capítulo 2

Objetivos de la Tesis

Generar una nueva propuesta sistemática a través de filogenias moleculares y morfológicas que permitan observar grupos monofiléticos dentro de la familia Clionidae. Además evaluar el valor taxonómico de características como: tipo de espiculación, patrones de perforación y huella de erosión, presentes en las esponjas perforadoras.

Comprobar si el género *Cliona* con gran número de especies entre las que se hayan especies con presencia y ausencia de microscleras, con presencia y ausencia de espirásteres, distintos tipos de espirásteres, y especies con presencia y ausencia de amfiásteres y tipos distintos de amfiásteres, podría separarse en géneros distintos que reflejen la relación evolutiva entre las especies que los integren.

Para cumplir con estos objetivos se realizó un trabajo de campo que permitió coleccionar un importante número de esponjas excavadoras representantes de la variabilidad del grupo. Las especies proceden del Pacífico Oriental, mar Caribe, océano Atlántico, mar Mediterráneo e Indo Pacífico. Se elaboró una descripción detallada de caracteres morfológicas que sirvió para probar el valor taxonómico de estas especies. Se realizó un análisis genético con los marcadores COI, 28S y 18S que además de incluir las especies obtenidas, también contó con las secuencias disponibles en

las bases de datos del GenBank.

Este es el primer estudio en esponjas excavadoras que integra las características morfológicas y la filogenia molecular. Además de ser el estudio con mayor representación de especies de la familia Clionaidae.

Capítulo 3

Materiales y Métodos

3.1. Obtención de material biológico

Las esponjas excavadoras junto al sustrato calcáreo fueron recolectadas entre los años 2013 y 2018 por medio de buceo autónomo SCUBA. Las esponjas se encontraban en coral vivo, fragmentos de coral muerto, matriz de carbonato de calcio arrecifal, algas calcáreas, tubos de poliquetos, conchas de moluscos y piedra caliza. En algunos casos fue necesario extraer el material con martillo y cincel. Se tomaron datos de: sustrato, ubicación, profundidad y coloración en vivo. Posteriormente a la identificación y cuando la cantidad de material lo permitió, se preservó materia en alcohol absoluto tanto para el análisis genético como para el morfológico junto con el sustrato en el que se encontraba.

Se utilizó material del Pacífico mexicano que se encuentra en la colección del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, unidad académica Mazatlán, México así como material Indo Pacífico de la colección de la Universidad Politécnica de las Marcas, Ancona, Italia y de la región de Australia a través de la colaboración con la Dra. Calcinai y la Dra. Schönberg.

3.2. Sitios de muestreo

Los sitios muestreados para esta tesis son en el Pacífico de México, isla Isabel e isla María Cleofas (islas Marías), en el estado de Nayarit; zona costera de la bahía de Mazatlán y bahía de Topolobampo, en el estado de Sinaloa; Heróica Guaymas de Zaragoza, en el estado de Sonora, mar de Cortés. Otras muestras de colección provinieron de las siguientes localidades isla Socorro, Revillagigedo; San Lucas, Baja California; islas Marietas, estado de Nayarit; San Agustín Oaxaca. Del Pacífico Este Tropical, fuera de México se recolectó material en las costas de Costa Rica, bahía Salinas y bahía Culebra, playa Blanca-Matapalo y playa Blanca de Puntarenas, isla del Caño y la isla del Coco.

El mar Caribe se muestreó en las costas de Costa Rica específicamente en el Parque Nacional Cahuita, Punta Cocles, y Manzanillo, todas localizadas en la provincia de Limón.

Con el fin de tener la mayor variabilidad representada en los análisis, se muestreó las siguientes zonas del Mediterráneo, Portonovo, Las Marcas, Italia, mar Adriático; Portofino, Génova, Italia, mar de Liguria; Alassio, Savona, Italia, mar de Liguria; Isla Tarifa, España, mar de Alborán; Ceuta, España, mar de Alborán. Otras muestras revisadas de colección o enviadas a través de colaboraciones incluyen regiones de Australia, Indonesia y Mozambique, en el Océano Indo-Pacífico.

3.3. Caracteres morfológicos

La esponja se extrajo del coral con un alfiler entomológico o con pinzas finas. Para identificarla se colocó en un portaobjetos y se añadió hipoclorito de sodio para disolver la materia orgánica y observar los tipos de espículas a través del microscopio de luz (CH30RF100, Olympus, Japón).

Para detallar la microestructura que presentan las espículas se utilizó la microscopía elec-

trónica de barrido (MEB). En la preparación de la muestra para MEB (JSM6360LV, JEOL, Japón) se seguirán los siguientes pasos:

1. La muestra se colocó en un tubo de ensayo.
2. Se agregó ácido nítrico al 37 % y se llevó a ebullición a flama directa. Posteriormente se dejó en reposo toda la noche.
3. Se centrifugó a 1000 rev/min durante 3 minutos para separar las espículas y se decantó el sobrenadante. Centrífuga Centra CL2, International Equipment Company, United States of America.
4. Se realizó dos lavados con agua destilada, centrifugando y decantando; y otro lavado con agua des-ionizada. Cuando el material fue muy escaso se redujo el número de lavados.
5. Se dejó las espículas en alcohol al 100 %.
6. Se agitó y toma una muestra homogénea que se colocó en un cubreobjetos circular ajustado y adherido al porta-muestras del MEB.
7. Se dejó secar totalmente la preparación.
8. Se cubrió con un baño de oro utilizando una ionizadora específica del MEB.

De la preparación de espículas, parte se tomó para preparar láminas fijas y en caso necesario, para la descripción de nuevas especies. En estos últimos casos se realizó mediciones de 25 o 30 espículas para cada tipo espicular que tenga la especie analizada. Las mediciones se realizaron a través de una escala en el ocular del microscopio.

Otras especies que se incluyen en los análisis son tomadas de la literatura por su importante variación morfológica a representar en el grupo. En el capítulo de Sistemática Morfológica las "descripciones breves" pueden ser más o menos detalladas en ocasiones dependiendo de si se trabajó directamente con los especímenes o con láminas fijas de colección, o con la literatura.

Estas descripciones van más allá de una diagnosis ya que incluyen en algunos casos el patrón de perforación. En muchas de las especies las tallas de espículas se toman de la literatura en lugar de las mediciones del individuo analizado debido a que en las descripciones, se toma en cuenta varios especímenes y esto muestra la variabilidad de la especie.

A partir de las descripciones de las especies, se realizó una matriz de datos morfológicos. Los caracteres y estados de carácter se decidieron tomando en cuenta las características que mostraron valor taxonómico a lo largo de este estudio. La matriz se analizó a través de criterios de parsimonia con el programa TNT (Goloboff et al. 2003). Se obtuvo valores bootstrap con una búsqueda heurística y 10 000 iteraciones para estimar el apoyo de las ramas. Los árboles de consenso estricto y de mayoría se trabajaron con el programa FigTree v 1.4.

3.4. Morfología del patrón de erosión

Para analizar los distintos patrones de erosión, se limpiaron fragmentos de carbonato de calcio que albergaron la esponja con hipoclorito de sodio para eliminar la materia orgánica restante. Después de 24 horas en la solución, se realizaron lavados con agua destilada y se realizaron cortes finos en la zona donde se encontraba la esponja. Estos cortes se realizaron con una sierra de diamante a baja velocidad (IsoMet™: Low Speed Saw / Diamond Wafering Blades). En algunos casos el tamaño del fragmento era tan pequeño que no permitió hacer cortes.

Una vez procesados los cortes, estos se llevaron a una sonificadora por 5 min para limpiar el fragmento y posteriormente lavar con agua destilada nuevamente. Finalmente se colocó en un portamuestras del MEB y se realizaron fotografías.

Se utilizó ImageJ para realizar mediciones de las huellas de erosión en las imágenes y posteriormente hacer comparaciones. Se consideró la clasificación de patrones que realizó Calcinaï (2004) en la que se distinguen cinco tipos de patrones.

3.5. Análisis molecular

Las muestras recolectadas para análisis genético se procesaron para extracción y purificación de ADN, amplificación y secuenciamiento. El ADN total genómico se extrajo con el kit Wizard SV Genomic DNA Purification System (Promega®). Se realizó verificación de la extracción con geles de agarosa (1.5%) y el ADN extraído se mantuvo en congelación a -20 °C para evitar su degradación.



Figura 3.1: Fragmento del 28S utilizado en el marcador C1D2.

Se realizó la amplificación y la secuenciación de los genes: nucleares 28S C1D2 (figura 3.1) y mitocondrial COI. Además se tomó el 18S en algunos casos. Se ha demostrado que la combinación de 28S y COI puede dar buena resolución a nivel inter-especie (Barucca et al. 2007). Los cebadores que flanquean estas secuencias se presentan en la tabla 3.1.

Tabla 3.1: Cebadores utilizados en este estudio

Nombre de cebadores	Secuencia	Referencia
<i>Región mitocondrial CO I</i>		
LCO1490	5' - GGTC AAC AAA TCA TAA AGA TAT TGG - 3'	Folmer et al. (1994)
dgHCO2198	5' - TAA ACT TCA GGG TGA CCA AAR AAY CA - 3'	Meyer et al. (1993)
Tm: 54 C		
<i>Región 28s - C1D2</i>		
C1.F	5' - ACC CGC TGA ATT TAA GCA T - 3'	Le et al. (1993)
D2.R	5' - TCC GTG TTT CAA GAC GGG TC - 3'	Le et al. (1993)
Tm: 60 C		
<i>Región 18S</i>		
SP18aF	5' - CCT GCC AGT AGT CAT ATG CTT - 3'	Redmond et al. (2013)
SP18gR	5' - CCT TGT TAC GAC TTT TAC TTC CTC - 3'	Redmond et al. (2013)

Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en volúmenes de 12.5 μ l y consistió en 6.4 μ l de agua destilada (MilliQ), 0.75 μ l de trifosfato desoxiribonucleótido (0.2 mM), 0.75 μ l MgCl₂ (8 mM), 0.50 μ l de cada cebador (10 μ M), 2.50 μ l 5X PCR buffer (Promega, USA), 0.1 μ l Taq ADN polimerasa y 1 μ l de ADN genómico (c. 50-100 ng).

Las condiciones del termociclador para el COI fueron de un ciclo interno con una fase de desnaturalización de 5 min a 94 °C, 5 ciclos a 94 °C por 30 s, 45 °C por 1:30 min, seguido por una extensión de 72 °C por 1 min. Posterior al ciclo interno se realizaron 35 ciclos a 94 °C por 30 s, 54 °C por 1:30 min, 72 °C por 1 min y una extensión final a 72 °C por 7 min. Para el 28S el ciclo térmico consistió en 94 °C por 5:30 min y 30 ciclos a 94 °C por 30 s, 58 °C por 30 s, 72 °C por 1:30 min y una extensión final de 72 °C por 10 min.

Los productos de PCR se verificaron en un gel de agarosa al 1.5% para corroborar la amplificación positiva. Posteriormente los productos fueron amplificados usando Wizard purification kit (Promega, USA) y secuenciados utilizando Applied Biosystems 3730xl DNA analyzer de Macrogen, Korea. Las secuencias obtenidas se compararon en bases de datos a través del National Center for Biotechnology Information/Blast) para verificar la identidad de las secuencias. Así mismo y a través de búsqueda activa, se obtuvieron secuencias cercanas de otras especies de esponjas excavadoras, además de secuencias que se utilizaron como grupo externo.

La edición de las secuencias se realizó con el programa Codon Code Aligner 2.0.1 (CodonCode Cooperation). Para alinear las secuencias se utilizó el algoritmo ClustalW y Muscle, en los programas MEGA (Kumar et al. 2018) y Mesquite v.2.75 (Maddison & Madisson, 2015). Se seleccionó el mejor alineamiento entre los dos, basado en aquel que redujera de la mejor forma la inserción de espacios (gaps). Posteriormente se seleccionó el mejor modelo evolutivo a través del programa JModelTest 2.0.1 (Philippe et al. 2009).

El modelo seleccionado se utilizó en el programa MrBayes 3.2.1 (Ronquist & Huelsenbeck, 2003) para el análisis bayesiano, que se corrió con un total de 10 000 000 de generaciones y se realizó un descarte (burn-in) del 25% para asegurarse que la totalidad de los datos analizados

habían llegado al equilibrio. Los estadísticos se analizaron con el programa Tracer (Rambaut et al. 2018) para corroborar la calidad de los datos obtenidos. El análisis de máxima verosimilitud se realizó a través de RAxML, Randomized Axelerated Maximum Likelihood (Stamatakis, 2014) en la plataforma Cipres (Miller et al. 2010), que ayudó a reducir el tiempo de análisis informático. Se utilizó la herramienta de RAxML-HPC BlackBox con los parámetros predeterminados. El análisis de Parsimonia se realizó a través de TNT (Goloboff & Catalano, 2016). El algoritmo utilizado para realizar el reajuste de las ramas (swapping algorithm) fue el TBR (Tree Bisection Reconnection) y el número de repeticiones realizadas para encontrar los árboles más parsimoniosos fue de 1 000 000. Por último se realizó un análisis bootstrap con 10 000 repeticiones para obtener el porcentaje de soporte de las ramas de la filogenia.

Referencias

- Barucca, M., Azzini, F., Bavestrello, G., Biscotti, M. A., Calcinai, B., Canapa, A., Cerrano, C. & Olmo, E. (2007). The systematic position of some boring sponges (Demospongiae, Hadromerida) studied by molecular analysis. *Marine Biology*. 151 (2), 529-535.
- Calcinai, B. (2004). Bioerosion micro-patterns as diagnostic characteristics in boring sponges. *BMIB-Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici*. 68, 229-238.
- Folmer, O., Blanck, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for the amplification of mitochondrial Cytochrome C Oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3 (5), 294-299.
- Goloboff, P. & Catalano, S. A. (2016). TNT version 1.5, including a full implementation of phylogenetic morphometrics. *Cladistics*. 32, 221-238.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K. (2018). MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*. 35 (6), 1547-1549.
- Le, V. H. L., Lecointre, G. & Perasso, R. (1993). A 28S rRNA-based phylogeny of the gnathostomes: first steps in the analysis of conflict and congruence with morphologically based cladograms. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2 (1), 31-51.
- Maddison, W. P. & Maddison, D. R. (2015). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis. Version 2.75. <http://www.mesquiteproject.org>.
- Meyer, C. P., Geller, J. B. & Paulay, G. (2005). Fine scale endemism on coral reefs: archipelagic differentiation in turbinid gastropods. *Evolution*. 59 (1), 113-125.
- Miller, M. A., Pfeiffer, W. & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for

inference of large phylogenetic trees. *Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*. 1-8

Mote, S., Schönberg, C. H., Samaai, T., Gupta, V. & Ingole, B. (2019). A new clionaid sponge infests live corals on the west coast of India (Porifera, Demospongiae, Clionaida). *Systematics and Biodiversity*. 17 (2), 190-206.

Philippe, H., Derelle, R., Lopez, P., Pick, K., Borchiellini, C., Boury-Esnault, N., Vacelet, J., Renard, E., Houliston, E., Quéinnec, E., da Silva, C., Wincker, P., Guyader, H. L., Leys, S., Jackson, D. J., Schreiber, F., Erpenbeck, D., Morgenstern, B., Wörheide, G. & Manuel, M. (2009). Phylogenomics revives traditional view on deep animal relationships. *Current Biology*. 19 (8), 706-712.

Rambaut, A., Drummond, A. J., Xie, D., Baele, G. & Suchard, M. (2018). Posterior summarization in bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology*. 67 (5), 901-904.

Redmond, N. E., Morrow, C. C., Thacker, R. W., Díaz, M. C. Boury-Esnault, N., Cárdenas, P., Hajdu, G., Lôbo-Hajdu, G., Picton, B. E., Pomponi, S. A., Kayal, E., Collins, A. G. (2013). Phylogeny and systematics of Demospongiae in light of new small-subunit ribosomal DNA (18S) sequences. *Integrative and Comparative Biology*. 53 (3), 388-415.

Ronquist, F. & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*. 19, (12), 1572-1574.

Rosell, D. & Uriz, M. (1997). Phylogenetic relationships within the excavating Hadromerida (Porifera), with a systematic revision. *Cladistics*. 13 (4), 349-366.

Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics*. 30 (9), 1312-1313.

Capítulo 4

Taxonomía de Esponjas Excavadoras

En el siguiente capítulo se describen las especies utilizadas en los análisis de este estudio, así como algunas otras especies que se incluyen para representar la variación morfológica dentro de la familia Clionidae. Dentro de estas descripciones están las especies tipo y otras elegidas arbitrariamente para mostrar la variación espicular dentro de un mismo género. Este es el caso del género *Dotona* que de una a otra especie incluidas aquí hay distintos tipos de espículas. También se incluyen otras esponjas perforadoras de distintos órdenes por estar presentes en las regiones estudiadas, y para mostrar la variación entre distintas familias y órdenes.

La tabla 4.1 muestra las especies de este trabajo clasificadas dependiendo de si se trabajó directamente al menos con un espécimen o si las descripciones se obtuvieron de la literatura. En algunos casos se trabajó únicamente con secuencias genéticas del GenBank y por ello también se incluye su diagnóstico y se marca como tal en las especies enlistadas.

Se procuró homogenizar la información contenida en las diagnósticos sin embargo, esto no fue posible en ocasiones porque no todas las especies poseen el mismo detalle de descripción en la literatura. Como resultado, algunas tallas de espículas se especifican en rangos y otras en promedios. Se incluye en los diagnósticos la descripción de las huellas de erosión producto de la bioerosión,

Tabla 4.1: Especies descritas en este capítulo clasificadas como: este estudio, aquellas con las que se trabajó con especímenes recolectados; molecular, aquellas que se incluyeron en el análisis genético por secuencias del GenBank; literatura, aquellas que se describen de la literatura pero no se trabajaron directamente.

Especies	Clasificación	Especies	Clasificación
<i>Cliona adriatica</i>	Este estudio	<i>Cliona varians</i>	Literatura
<i>Cliona albimarginata</i>	Literatura	<i>Cliona vermifera</i>	Este estudio
<i>Cliona amplicavata</i>	Este estudio	<i>Cliona viridis</i>	Este estudio
<i>Cliona caledonia</i>	Literatura	<i>Cliona yorkin</i>	Este estudio
<i>Cliona californiana</i>	Este estudio	<i>Clionaopsis platei</i>	Molecular
<i>Cliona caribbaea</i>	Literatura	<i>Cliothisa aurivilli</i>	Este estudio
<i>Cliona celata</i>	Este estudio	<i>Cliothisa hancocki</i>	Literatura
<i>Cliona chilensis</i>	Molecular	<i>Cliothisa tylostrongylata</i>	Este estudio
<i>Cliona delitrix</i>	Molecular	<i>Cervicornia cuspidifera</i>	Molecular
<i>Cliona desimoni</i>	Literatura	<i>Pione carpenteri</i>	Este estudio
<i>Cliona dissimilis</i>	Literatura	<i>Pione lampa</i>	Este estudio
<i>Cliona dioryssa</i>	Literatura	<i>Pione mazatlanensis</i>	Este estudio
<i>Cliona ensifera</i>	Este estudio	<i>Pione robusta</i>	Literatura
<i>Cliona euryphyllae</i>	Este estudio	<i>Pione spirilla</i>	Literatura
<i>Cliona favus</i>	Literatura	<i>Pione truitti</i>	Literatura
<i>Cliona flavifodina</i>	Este estudio	<i>Pione vastifica</i>	Este estudio
<i>Cliona janitrix</i>	Este estudio	<i>Pione velans</i>	Literatura
<i>Cliona liangae</i>	Literatura	<i>Dotona davidis</i>	Literatura
<i>Cliona lobata</i>	Literatura	<i>Dotona pulchella</i>	Literatura
<i>Cliona mariae</i>	Este estudio	<i>Spiroxya acus</i>	Literatura
<i>Cliona medinae</i>	Literatura	<i>Spiroxya corallophila</i>	Literatura
<i>Cliona microstrongylata</i>	Este estudio	<i>Spiroxya heteroclita</i>	Este estudio
<i>Cliona mucronata</i>	Este estudio	<i>Spiroxya levispira</i>	Molecular
<i>Cliona orientalis</i>	Molecular	<i>Spiroxya pruvoti</i>	Literatura
<i>Cliona papillae</i>	Este estudio	<i>Spiroxya sarai</i>	Literatura
<i>Cliona pocillopora</i>	Este estudio	<i>Sphaciospongia vesparium</i>	Literatura
<i>Cliona raromisclera</i>	Literatura	<i>Sphaciospongia incrustans</i>	Este estudio
<i>Cliona rhodensis</i>	Literatura	<i>Sphaciospongia ndabazithe</i>	Este estudio
<i>Cliona schmidtii</i>	Este estudio	<i>Sphaciospongia ruetzleri</i>	Literatura
<i>Cliona spissaspira</i>	Literatura	<i>Siphonodictyon coralliirubri</i>	Este estudio
<i>Cliona thomasi</i>	Literatura	<i>Siphonodictyon crypticum</i>	Este estudio
<i>Cliona tropicalis</i>	Este estudio	<i>Thoosa calpulli</i>	Este estudio
<i>Cliona utricularis</i>	Literatura	<i>Thoosa mismalolli</i>	Este estudio
<i>Cliona vallartense</i>	Este estudio	<i>Thoosa purpurea</i>	Literatura

para las pocas especies que cuentan con este dato.

Familia Clionidae d'Orbigny, 1851

Diagnosis. Esponjas exclusivamente con capacidad perforadora. Las megascleras son principalmente tilostilos, que pueden estar acompañados por oxas o estilos. Las microscleras cuando están presentes, incluyen espirásteres, amfiásteres, microoxas, microrhabdes o ráfides. Algunos espirásteres presentan espinas con dos o más ramificaciones. Los microrhabdes pueden ser lisos o espinados, rectos, curvos o en espiral (Rützler, 2002).

***Cliona* Grant, 1826**

Especie tipo: *Cliona celata* Grant, 1826.

Sinonimia: *Cliona* Grant, 1826. *Vioa* Nardo, 1833. *Poterion* Schlegel, 1858. *Raphyrus* Bowerbank, 1862. *Raphiophora* Gray, 1867. *Taguilla* Bowerbank, 1874. *Euryphylla* Duchassain & Michelotti, 1864. *Euryphyllle* Duchassaing & Michelotti, 1864. *Hymeniacidon* sensu Bowerbank, 1866. *Idomon* Gray, 1867. *Myle* Gray, 1867. *Pronax* Gray, 1867. *Sapline* Gray, 1867. *Osculina* Schmidt, 1868. *Spirastrella* sensu Ridley, 1884. *Papillella* Vosmaer, 1885. *Papillissa* Lendenfeld, 1888. *Anthosigmella* Topsent, 1918. *Rhaphiophora* Laubenfels, 1936. *Delaubenfelsia* Dickinson, 1945. *Bernatia* Rosell & Uriz, 1997. *Cliona* Rützler, 2002.

Diagnosis. Esponjas principalmente en forma alfa (endolíticas y conectadas al exterior a través de papilas), algunas son predominantemente forma beta recubriendo la superficie del sustrato que perforan y otras son epilíticas en forma gamma. Algunas especies con formas gamma tienen tamaños grandes y pueden ser masivas de forma irregular o con forma de copa. Las espículas megascleras son tilostilos y sus derivados (estilos, rafides, tilostrongilos). Las microscleras, si están presentes, pueden ser microstrongilos, espirásteres, amfiásteres o microrhabdes. La excavación en el sustrato forma galerías con una huella de erosión lisa en las paredes.

Cliona adriatica* Calcinai, Bavestrello, Cuttone & Cerrano, 2011*Diagnosis**

Esponja perforadora en forma alfa. Las papilas son circulares u ovoides. La coloración de la esponja en vivo es amarilla (figura 4.1). El esqueleto está formado solo por megascleras, i) tilostilos delgados y rectos o ligeramente curvos, con tilo globular, irregular o subtilostilo (figura 4.2). La longitud es de 215 μm a 385 μm ; grosor de 2.5 μm a 10 μm . ii) estilos rectos con longitud de 205 μm a 360 μm ; grosor de 5 μm a 10 μm . Ambos tipos de espículas se encuentran en el coanosoma y en el ectosoma.

Distribución: Mar Adriático. (Calcinai et al. 2011).

Proveniencia del material examinado: Mar Adriático, Italia (Portonovo).

Cliona albinmarginata* Calcinai, Bavestrello & Cerrano, 2005*Diagnosis**

Esponja excavadora en forma beta, con papilas bien distinguibles. La coloración en vivo es café-olivo oscuro (causada por las zooxantelas), un aro blanco es característico alrededor de cada ósculo. El esqueleto está formado por megascleras i) tilostilos con cabeza pronunciada, y en ocasiones un segundo crecimiento anular bajo la cabeza. Las longitud promedio es de 288 μm y el grosor de 4.6 μm . Las microscleras son de dos categorías, ii) espirásteres curvos con forma de -C o -S con espinas agrupadas en rosetas. La longitud promedio es de 12.8 μm y el grosor promedio de 1 μm . El segundo tipo son ii) amfiásteres con ejes recto y terminaciones en roseta. La longitud promedio es de 12.9 μm . Ver imágenes en Calcinai et al. (2005). Cuando el eje es curvo, las espinas se concentran en el lado cóncavo. En el ectosoma los tilostilos se agrupan perpendicularmente con



Figura 4.1: Papilas y cámaras de *Cliona adriatica*.
Foto cortesía de Carlo Cerrano.



Figura 4.2: Epículas tilostilos de *Cliona adriatica*.

las puntas hacia afuera de la superficie. En el coanosoma, las espículas se ordenan paralelamente. Datos tomados de Calcinaï et al. (2005).

Distribución: Indo-Pacífico (Calcinaï et al. 2005).

Cliona ampliacavata Rützler, 1974

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas circulares pequeñas. La coloración de la esponja en vivo es amarilla. Las megascleras son i) tilostilos curvos con cabeza esférica o subterminal. La longitud y grosor promedio son 262.5 μm y 7.1 μm respectivamente. ii) Ráfides con longitud promedio de 129.8 μm y grosor promedio de 0.8 μm . Los tilostilos están orientados perpendicularmente a la superficie en las papilas y sin orden aparente en el coanosoma. En las galerías son comunes los grupos de ráfides. Tomado de Rützler (1974).

Distribución: Atlántico (Bermuda) y mar Caribe (van Soest et al. 2020).

Cliona aff. *ampliacavata* (Pacífico Oriental Tropical)

Descripción breve

Esponja excavadora en forma alfa con papilas circulares pequeñas. La coloración en vivo es ocre (figura 4.3). Esqueleto formado por tres tipos de megascleras. i) Tilostilos ligeramente curvos con longitudes de 115 μm a 282 μm ; grosor de 1 μm a 7,5 μm y diámetro de tilo de 3.5 μm a 10.5 μm (figura 4.4 A, B). ii) Estilos con longitud de 80 μm a 156 μm , y grosor de 2.5 μm a 4.5 μm (figura 4.4 C). iii) Ráfides con longitud de 65 μm a 140 μm ; grosor de 1 μm a 2 μm (figura 4.4 D). Las huellas de perforación son áreas poligonales lisas (Pacheco et al. 2018).

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2018).

Proveniencia del material examinado: Pacífico sur de Nicaragua (San Juan del Sur) y Pacífico norte de Costa Rica (Guanacaste).

Observaciones: Tradicionalmente se ha llamado a esta especie como *Cliona amplicavata* por su similitud con la especie del Atlántico. Sin embargo, la Base de Datos de Porifera no incluye en la distribución de la especie el Pacífico Oriental y se distinguen ciertas diferencias entre los especímenes de ambas regiones. La más significativa es la forma y tamaño de los estilos, ya que los ejemplares citados en el Atlántico no tienen esta espícula y el rango de longitud de los estilos no está comprendido dentro de los tilostilos que posee *Cliona amplicavata* sensu stricto.

***Cliona caledonia* Soest & Beglinger, 2009**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas que sobresalen de la superficie. La coloración de la esponja en vivo es amarilla o anaranjado-amarillo. Las megascleras son i) tilostilos robustos, rectos y usualmente con tilo subterminal. La longitud promedio es de 360 μm el grosor de 9.8 μm y el diámetro de tilo es de 12.3 μm . Las microscleras son ii) espirásteres gruesos, con actinas cortas, ocasionalmente rectos y con actinas concentradas en los extremos. La longitud y grosor promedios son 24.3 μm y 6.8 μm respectivamente. Ver imágenes en van Soest & Beglinger (2009). Los tilostilos forman empalizada junto con las microscleras en el ectosoma. Estas últimas están ausentes en el coanosoma. Tomado de van Soest & Beglinger (2009).

Distribución: Océano Atlántico (van Soest et al. 2020).

***Cliona californiana* Laubenfels, 1932**

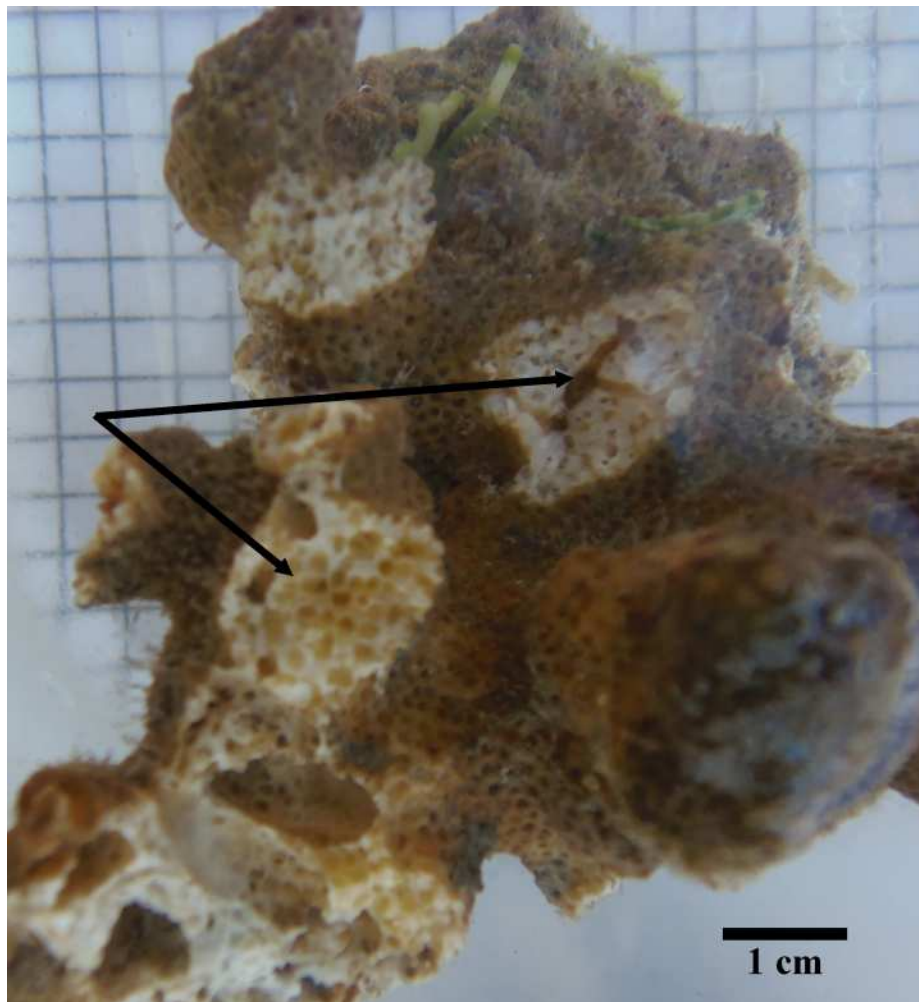


Figura 4.3: Perforación de *Cliona amplicavata* en el interior de coral pocilopórido.
La esponja de coloración amarillo (flechas) se identifica con facilidad.

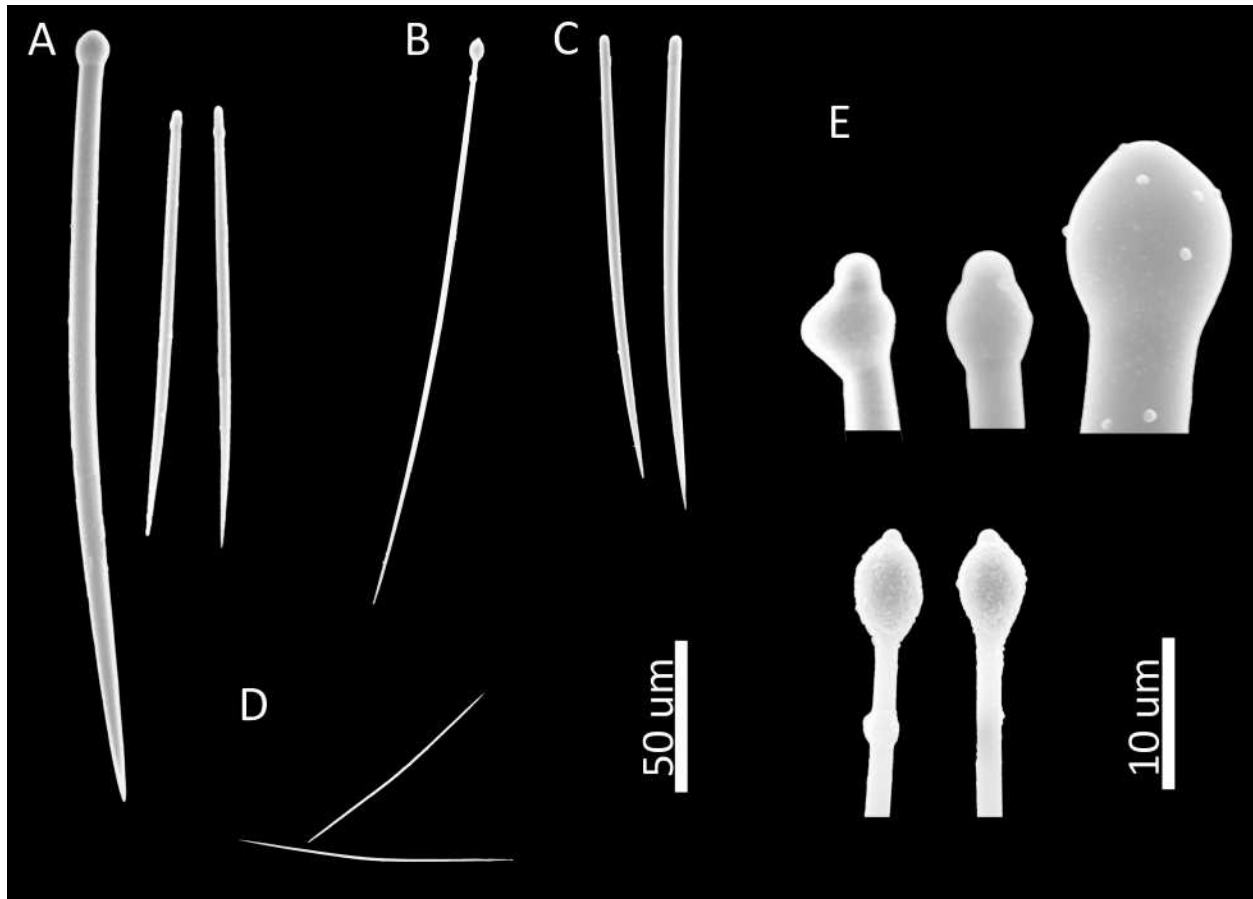


Figura 4.4: Espículas de *Cliona* cf. *amplicavata*, espécimen del Pacífico oriental.
A. Tilostilos; B. Tilostilo inmaduro; C. Estilos; D. Ráfides; E. Tilos.

Diagnosis

Esponja excavadora en formas alfa, beta y gamma. Las papilas van desde pequeñas y circulares a abultadas sobresaliendo del sustrato. La coloración en vivo es ocre, amarilla o purpura (figura 4.5). Posee dos tipos de megascleras. i) Tilostilos rectos o curvos, con longitudes de 125 μm a 306 μm y grosor de 2 μm a 10 μm (figura 4.6 A). ii) Subtilostilos y estilos con longitudes de 100 μm a 205 μm y grosor de 3.8 μm a 8 μm (figura 4.6 B). Ambos tipos de espículas se distribuyen en el ectosoma y coanosoma. Las huellas de perforación son áreas poligonales y lisas o con líneas circulares muy tenues.

Distribución: Pacífico este tropical (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Golfo de California, México (Guaymas, Sonora y Topolobampo). Pacífico sur de Nicaragua (San Juan del Sur) y Pacífico de Costa Rica (Guanacaste y Puntarenas).

Observaciones: La coloración en las esponjas de Guaymas es púrpura mientras que en Topolobampo los especímenes son amarillos. También se han observado especímenes en Baja California que presentan una coloración rosada. Estos últimos solo se trabajaron desde especímenes de colección. Las diferentes formas (alfa, beta y gamma) fueron comparadas genéticamente y la evidencia sugiere que son la misma especie. Cuando se comparan los especímenes de México y Centro América, estos últimos tienen una coloración amarilla, solo tienen forma alfa y sus papilas son más conspicuas. Las tallas de espículas en la descripción original de Laubenfels (1932) y en Carballo et al. (2004) presentan rangos similares al de los especímenes revisados en este trabajo. Sin embargo, se encontró diferencias genéticas que sugieren la posibilidad de que hayan varias especies entre los individuos del Pacífico mexicano y los de Centro América.

***Cliona caribbaea* Carter, 1882**

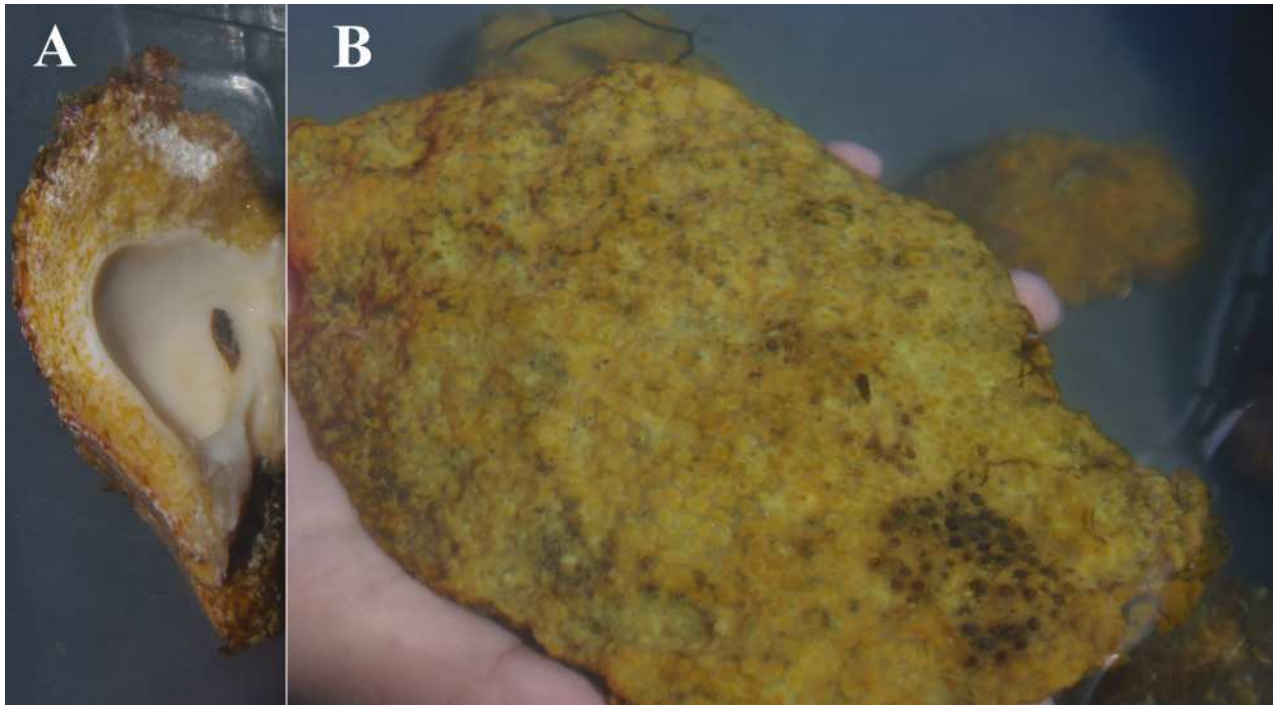


Figura 4.5: *Cliona californiana*.

A. Forma alfa, invadiendo una concha de molusco; B. Forma masiva gamma.

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares u ovaladas con tendencia a fusionarse. La esponja presenta una coloración en vivo que es amarilla-ocre. La espiculación presenta megascleras que son i) tilostilos lisos, curvos con un tilo esférico, la longitud es de 204 μm a 410 μm y el grosor de 2.6 μm a 8.1 μm . Las microscleras son ii) espirásteres espinados con cinco o seis curvas, la longitud es de 9.6 μm a 38.4 μm y el grosor es de 0.8 μm a 3 μm . Ver imágenes en Rützler (1974). Los tilostilos están presentes tanto en ectosoma como en coanosoma pero con una orientación perpendicular al sustrato en las primeras. Los espirásteres son escasos en el ectosoma y abundantes en el coanosoma. Los datos son tomados de Rützler (1974) por el detalle de su descripción y comparados con Carter (1882).

Distribución: Mar Caribe (van Soest et al. 2020).

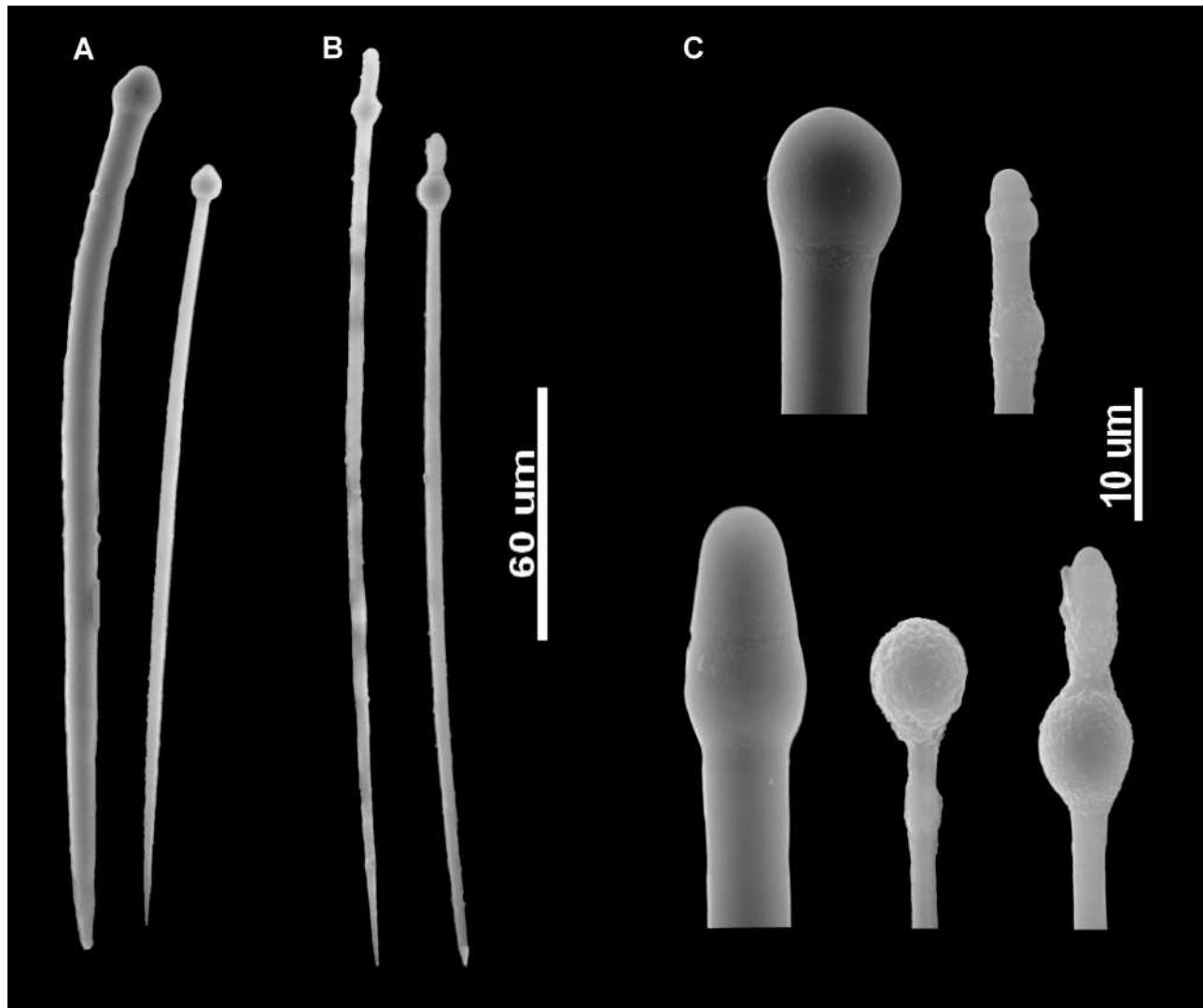


Figura 4.6: Espículas de *Cliona californiana*.
A. Tilostilos; B. Subtilostilos; C. Tilos de tilostilos.

Cliona celata* Grant, 1826*Diagnosis**

Esponja excavadora en forma alfa, beta o gamma. Las papilas inhalantes y exhalantes son circulares y diferenciables entre sí. La coloración de la esponja en vivo es amarilla - anaranjada. (figura 4.7). La espiculación consiste solo en megascleras, i) tilostilos rectos o levemente curvos, con el característico canal axial visible en microscopio de luz. Su longitud es de 225 μm a 315 μm y el grosor de 2.5 μm a 7.5 μm (figura 4.8). Algunas espículas como tilostrongilos son escasos. Las espículas se distribuyen en ecto- y coanosoma por igual.

Distribución: Océano Atlántico y mar Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar de Liguria (Portofino, Italia); mar de Alborán (isla Tarifa y Ceuta, España); Indo-Pacífico frente a la costa de Mozambique.

Observaciones: Xavier et al. (2010), describen el complejo *Cliona celata*, mostrando que la morfología es muy conservada y distintos miembros de este complejo solo son reconocibles por la evidencia molecular.

Cliona chilensis* Thiele, 1905*Diagnosis**

Esponja excavadora masiva, de forma globular con papilas grandes y diferenciables. La coloración va de amarilla a anaranjado. La espiculación consiste de megascleras i) tilostilos con longitudes de 213 μm a 356 μm y grosor de 8 μm a 14 μm . Estos se distribuyen formando empalizada con las puntas hacia el exterior en el ectosoma y en el coanosoma están en arreglos formando los canales del sistema acuífero (Desqueyroux-Faundez et al. 1997).

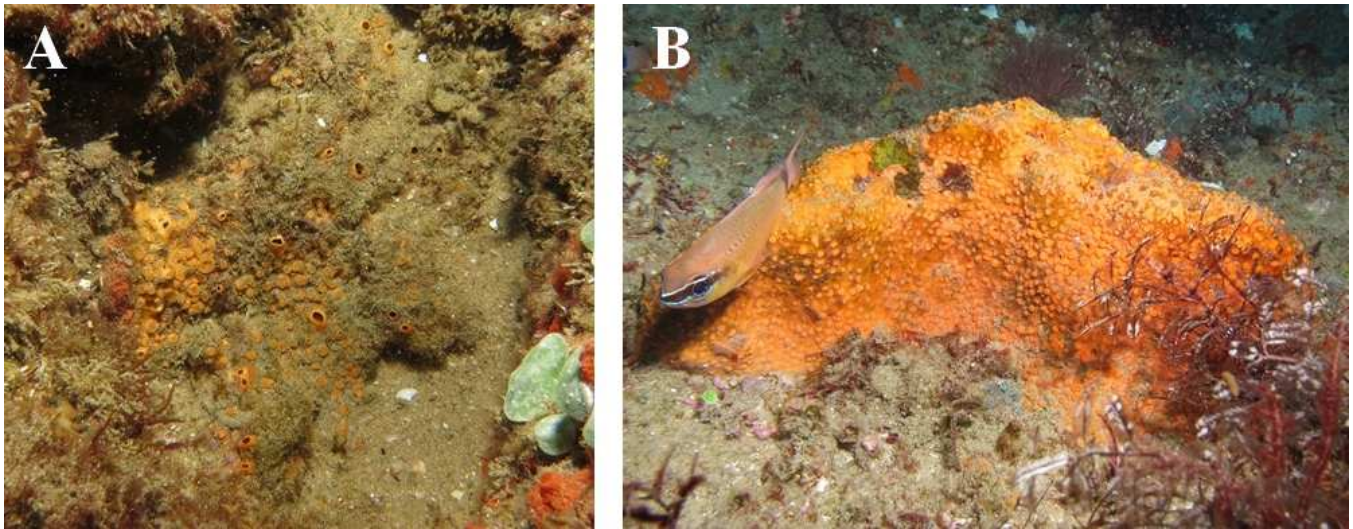


Figura 4.7: Fotografía de *Cliona celata*.
Cortesía de Carlo Cerrano. A. Forma beta; B. Forma gamma.

Distribución: Golfo de California, Galápagos, Pacífico sur y Atlántico sur (van Soest et al. 2020).

Observaciones: La localidad del golfo de California se incluye en la Base de Datos de Porifera (van Soest et al. 2020) debido a un reporte realizado por Dickinson (1945). Esta región ha sido muy estudiada en los últimos años y no hay ningún reporte de *C. chilensis*. Se pone en duda este punto de distribución.

Cliona delitrix Pang, 1973

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con ósculos que sobresalen del sustrato. La coloración en vivo es rojo - anaranjado. Solo presenta megascleras en forma de i) tilostilos. Estos son largos y rectos o levemente curvos y presentan tilo subterminal. Las tallas promedio son de 279 μm longitud y 8.9 μm de grosor. Las espículas están presentes en el ectosoma y coanosoma. Los datos se tomaron de Pang (1973).

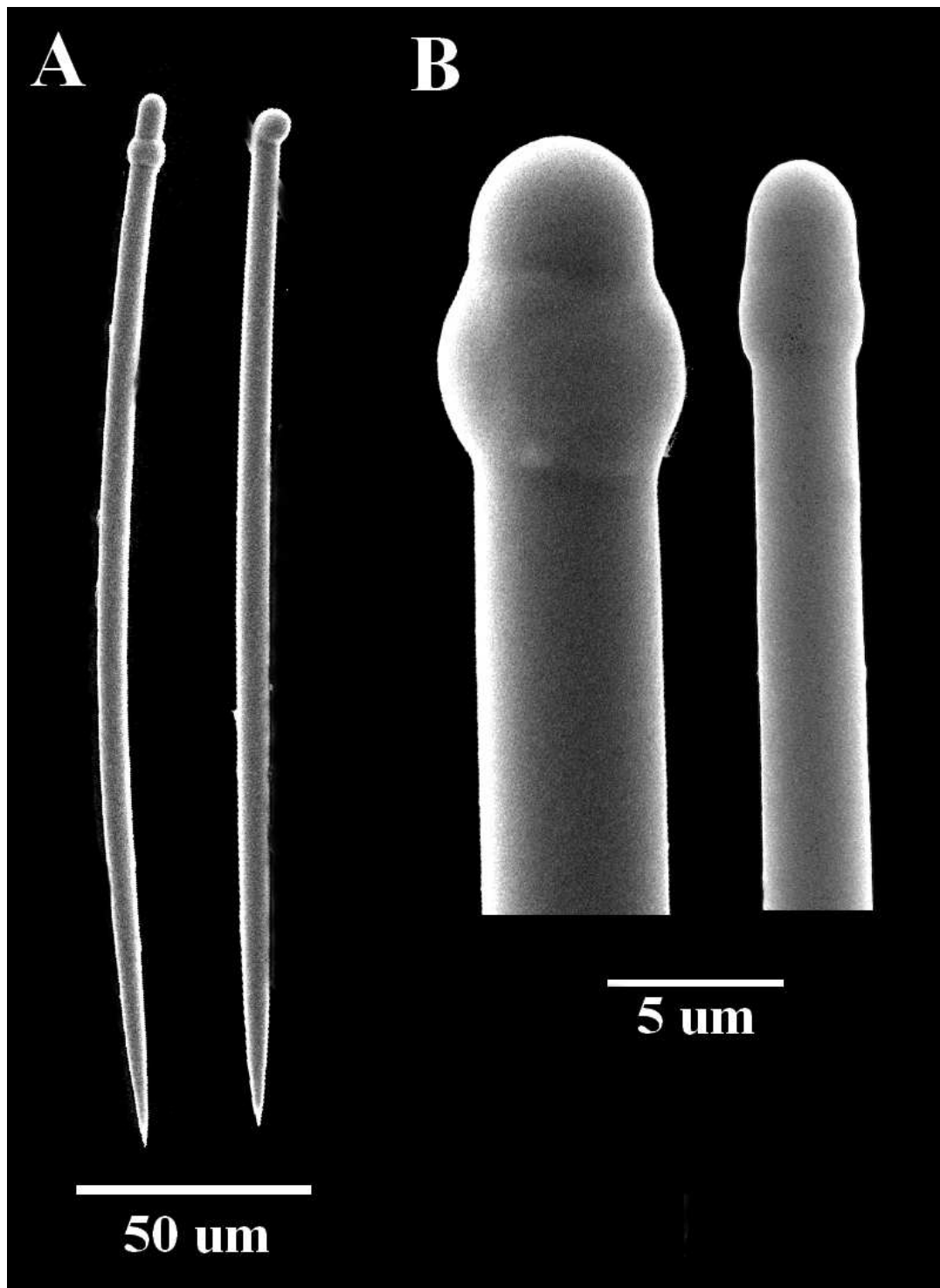


Figura 4.8: Espículas tilostilos de *Cliona celata*.
A. Tilostilos; B. Ampliación de los tilos.

Distribución: Mar Caribe y océano Atlántico (Pang, 1973).

***Cliona desimoni* (Bavestrello, Calcinaï & Sarà 1995)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares. Las megascleras son i) tilostilos cortos y curvos. Se expanden para llegar a ser fusiformes. El tilo es globular, ocasionalmente subtilostilo. La longitud es de 110 μm a 225 μm , el grosor de 5 μm a 11 μm y el diámetro de tilo de 11 μm a 18 μm . Se presentan ii) tilostrongilos cortos, gruesos y rectos; la longitud va de 45 μm a 145 μm y el grosor de 7 μm a 19 μm . Las microscleras son iii) microrhabdes espinados, cilíndricos, cortos y delgados. La longitud es de 13 μm a 25 μm y el grosor de 3 μm a 4.5 μm . También se presentan iv) espículas esferulosas que se describen como residuos de tilos. Los datos se toman de Bavestrello et al. (1995). No hay información disponible sobre la distribución de las espículas en el cuerpo de la esponja.

Distribución: Indo-Pacífico central (van Soest et al. 2020).

***Cliona dissimilis* Ridley & Dendy, 1886**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas pequeñas y circulares. La coloración en vivo es anaranjada (Fromont et al. 2005). Las megascleras son i) tilostilos con tilo oval subterminal. La longitud es de 253 μm , el grosor de 6.8 μm y el diámetro de tilo de 7.8 μm en promedio. No presenta microscleras (Ridley & Dendy, 1886; Fromont et al. 2005). Los tilostilos forman empalizadas típicas en la superficie; en el coanosoma a veces se observan agrupaciones de tilostilos (Fromont et al. 2005).

Distribución: Indo-Pacífico oriental (Hawai) e Indo-Pacífico central (Australia) (van

Soest et al. 2020).

***Cliona dioryssa* (de Laubenfels, 1950)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, las papilas son pequeñas. La coloración en vivo es anaranjado. Las megascleras son i) tilostilos con longitudes de 265 μm a 325 μm . Los tilos son esféricos, con un diámetro promedio de 12 μm . Las microscleras son ii) espirásteres de dos tamaños 24 μm y 12 μm en promedio (Laubenfels, 1950) . Los espirásteres forman una corteza dermal externa y el coanosoma está formado por ambos tipos de espículas.

Distribución: Mar Caribe y océano Atlántico (van Soest et al. 2020).

***Cliona ensifera* Sollas, 1878**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas circulares pequeñas (Thomas, 1972). Las megascleras son i) tilostilos rectos o curvos con el tallo fusiforme y tilo globular. La longitud promedio es de 241 μm , el grosor de 5 μm y el diámetro de tilo de 15 μm (figura 4.9 A). Existe un segundo tipo, ii) tilostilos rectos o curvos, no fusiformes, con tilo esférico o elipsoide y longitud promedio de 190 μm y grosor promedio de 10 μm (figura 4.9 B). Las microscleras son iii) espirásteres con actinas cónicas y longitud de 15 μm . Tiene diafragma compuesto por las espículas ensiformes que se empaquetan con los tilos hacia la superficie externa del diafragma (Sollas, 1878).

Distribución: Indo-Pacífico central y Indo-Pacífico oeste (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Australia (Gran Barrera Arrecifal).

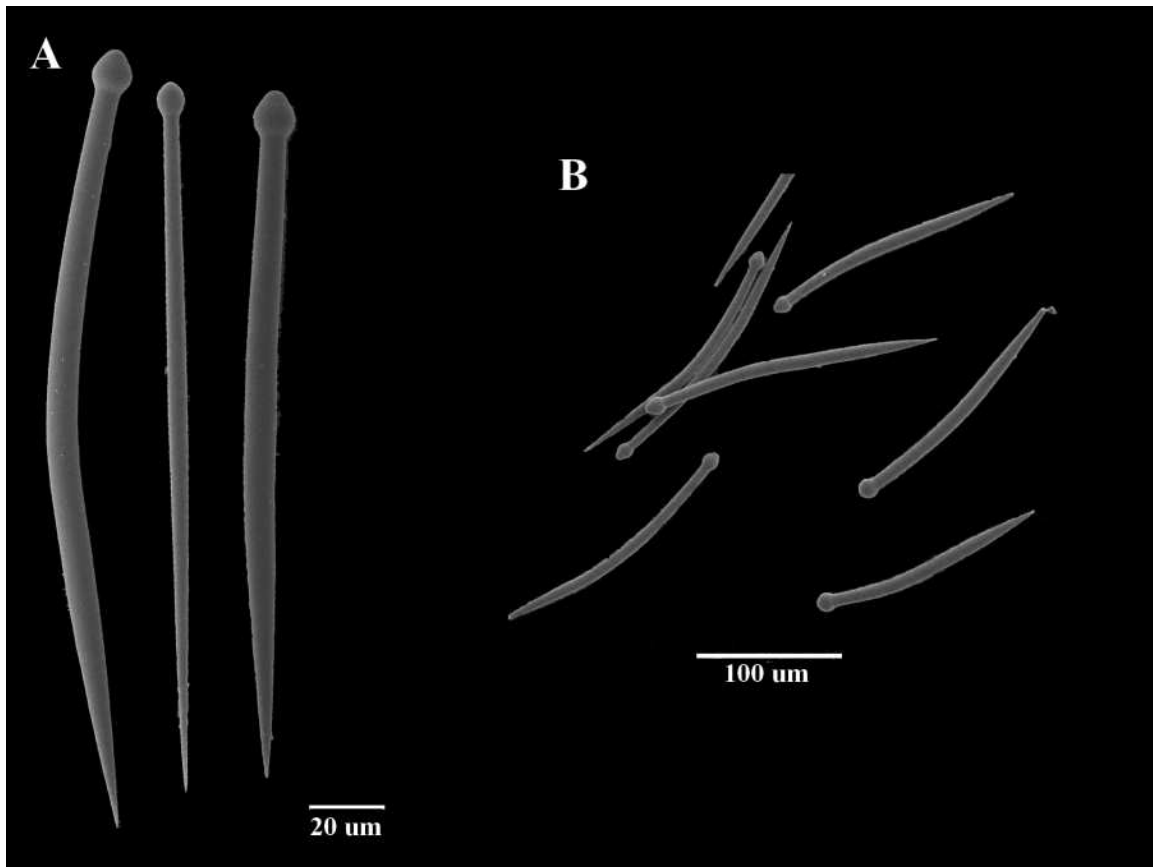


Figura 4.9: Espículas de *Cliona* cf. *ensifera*.
A. Tilostilos; B. Vista general de las espículas.

Observaciones: El material analizado y previamente identificado como *Cliona ensifera* fue escaso y solo se observó un tipo de tilostilos sin espirásteres. Los tilostilos están en la longitud de 180 µm a 200 µm. Por estas diferencias se utilizó la literatura para hacer la diagnosis y las espículas del espécimen analizado se le nombra como *Cliona* cf. *ensifera*.

Cliona euryphylle Topsent, 1887

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son abultadas y de forma irregular. La coloración de la esponja en vivo es anaranjado. Tiene un tipo de megascleras que son i) tilostilos

con longitud de 120 μm a 300 μm ; grosor de 5 μm a 7.5 μm ; diámetro de tilo de 6 μm a 10 μm (figura 4.10 A). Las microscleras están conformadas por ii) espirásteres robustos con longitud de 12 μm a 24 μm (figura 4.10 B). Ambos tipos de espículas se encuentran en ectosoma y coanosoma. Las huellas de excavación en las paredes de las cámaras son poligonales lisas.

Distribución: Golfo de México (Topsent, 1888), Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2018), Indo-Pacífico central (Kelly et al. 2009) e Indo-Pacífico oeste (Laubenfels, 1954). Estas tres últimas regiones son dudosas (van Soest et al. 2020).

Proveniencia de material examinado: Pacífico de México y Costa Rica.

Observaciones: Los especímenes en el Pacífico Tropical Oriental tiene la coloración naranja y amarilla. El análisis molecular aunque se realizó con solo tres especímenes, sugiere que hay separación de flujo génico entre los especímenes anaranjados y amarillos recolectados en la misma localidad.

Cliona favus Calcinai, Bavestrello & Cerrano, 2005

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares y pequeñas. La coloración de la esponja en vivo es rojo-anaranjado en el ectosoma y anaranjado-amarillo en el coanosoma. Las megascleras son i) tilostilos rectos con el tilo oval trilobado, la longitud es de 200 μm a 350 μm y el grosor de 5 μm a 11.2 μm . Las microscleras son ii) espirásteres con espinas largas y cónicas, la longitud es de 15 μm a 37.5 μm y el grosor de 2.5 μm a 3.8 μm . Muchas son rectas, tipo iii) amfiásteres con espinas concentradas en las extremidades. En el ectosoma los tilostilos se disponen en empalizada con las puntas al exterior y en el coanosoma las espículas se encuentran irregularmente. Los datos son tomados de Calcinai et al. (2005).

Distribución: Indo-Pacífico (Calcinai et al. 2005).

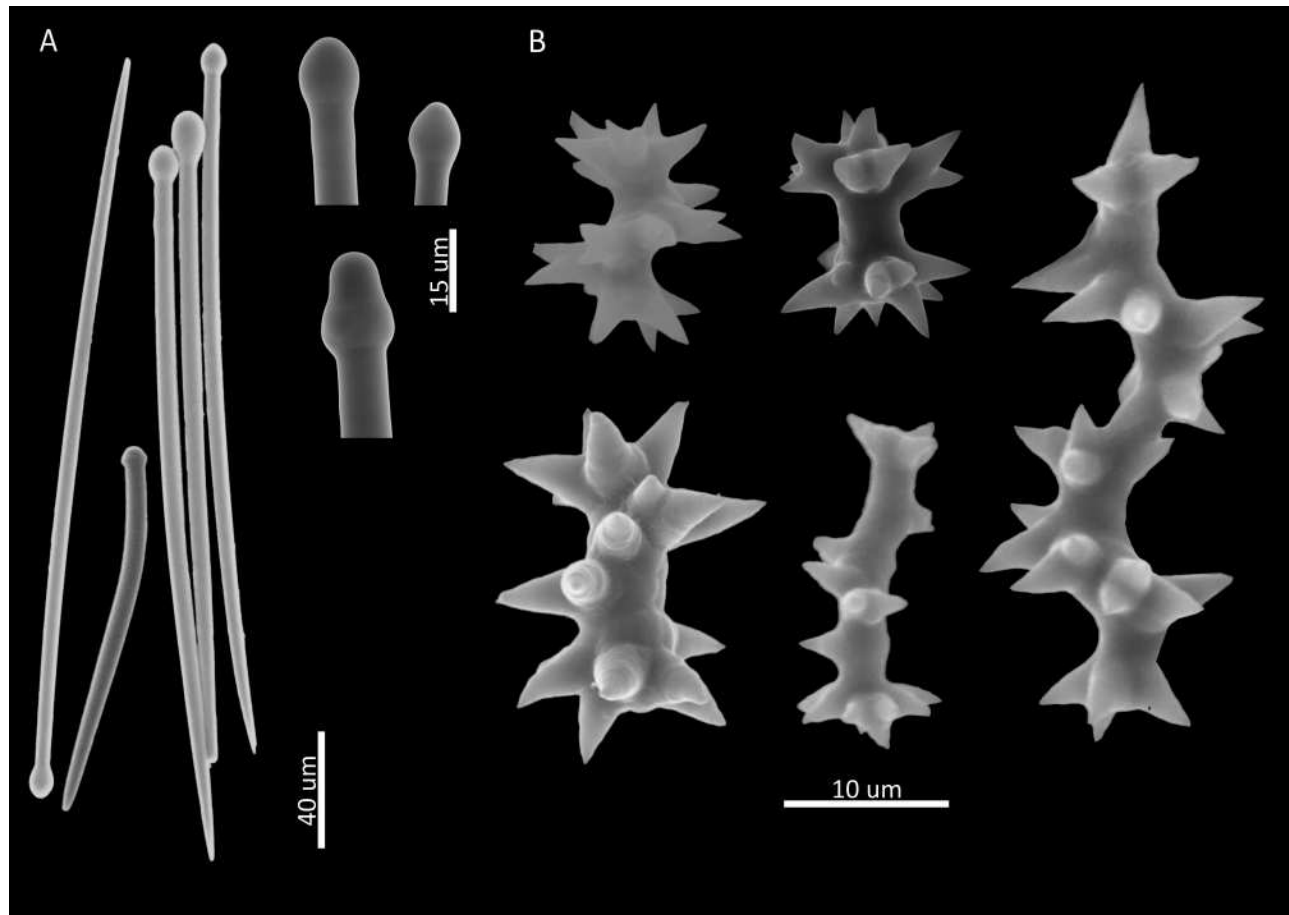


Figura 4.10: Espículas de *Cliona euryphylle*.
A. Tilostilos. B. Espirásteres.

Cliona flavifodina* Rützler, 1974*Diagnosis**

Esponja excavadora en forma alfa, la coloración en vivo es amarillo-café. Las papilas son circulares, ovaladas o más comúnmente irregulares. Posee megascleras i) tilostilos, estos son rectos o curvos y poseen tilo alargado u ovoide. Tienen longitud promedio de 318 μm y grosor promedio de 7.4 μm . Las microscleras son ii) espirásteres con tres o cuatro curvaturas. La longitud y grosor promedio de los espirásteres son 36.9 μm y 1.6 μm respectivamente. Los tilostilos se disponen perpendicularmente en las papilas, el coanosoma está formado por tilostilos y espirásteres. Datos tomados de Rützler (1974).

Distribución: Océano Atlántico (Rützler, 1974).

Cliona* aff. *flavifodina* (Pacífico Oriental Tropical)*Descripción breve**

Esponja excavadora en forma alfa, con tendencia a recubrir el sustrato. La coloración en vivo es amarilla en las papilas y amarilla-café en el coanosoma. Las megascleras son tilostilos en su mayoría rectos o levemente curvos con tilos usualmente esféricos y con longitud y grosor promedio de 295 μm y 7.5 μm respectivamente (figura 4.11 A). Las microscleras son espirásteres con tres o cuatro curvaturas y con pocas espinas prominentes. Las actinas en ocasiones, son bifurcadas en las puntas (figura 4.11 B). Según Carballo et al. (2004), los tilostilos están organizados en empalizadas en el ectosoma y formando paquetes dispersos en el coanosoma.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical. Esta localidad se tiene como dudosa en van Soest et al. (2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico mexicano.

Observaciones: No parece que existan diferencias muy marcadas entre los individuos del Atlántico y Pacífico. Sin embargo, la imposibilidad de flujo génico sugiere un complejo de especies en *C. flavifodina*. Futuros estudios con marcadores moleculares serán necesarios para aclarar si los individuos del Pacífico Oriental Tropical y los del Atlántico son la misma especie.

***Cliona janitrix* Topsent, 1932**

Diagnosis

Esponja excavadora en crecimiento alfa. No se observaron papilas. La coloración de la esponja en vivo es blanca o amarillo pálido. El esqueleto está formado por un tipo de megascleras, i) tilostilos robustos y cortos, con tilo lobulado y bien formado, su longitud es de 180 μm a 210 μm ; grosor de tallo de 8 μm a 12 μm (figura 4.12). Las huellas de excavación son áreas poligonales lisas.

Distribución: Mar Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar de Liguria (Portofino, Italia).

***Cliona liangae* Calcinai, Bavestrello & Cerrano, 2005**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, las papilas son circulares y pequeñas. La coloración de la esponja en vivo es amarillo-café. Las megascleras presentes son de tipo i) tilostilos rectos o levemente curvos con tilo variable, esférico, trilobado o subterminal. La longitud promedio es de 296 μm y el grosor promedio de 7.7 μm . Las microscleras son ii) espirásteres curvos delgados con

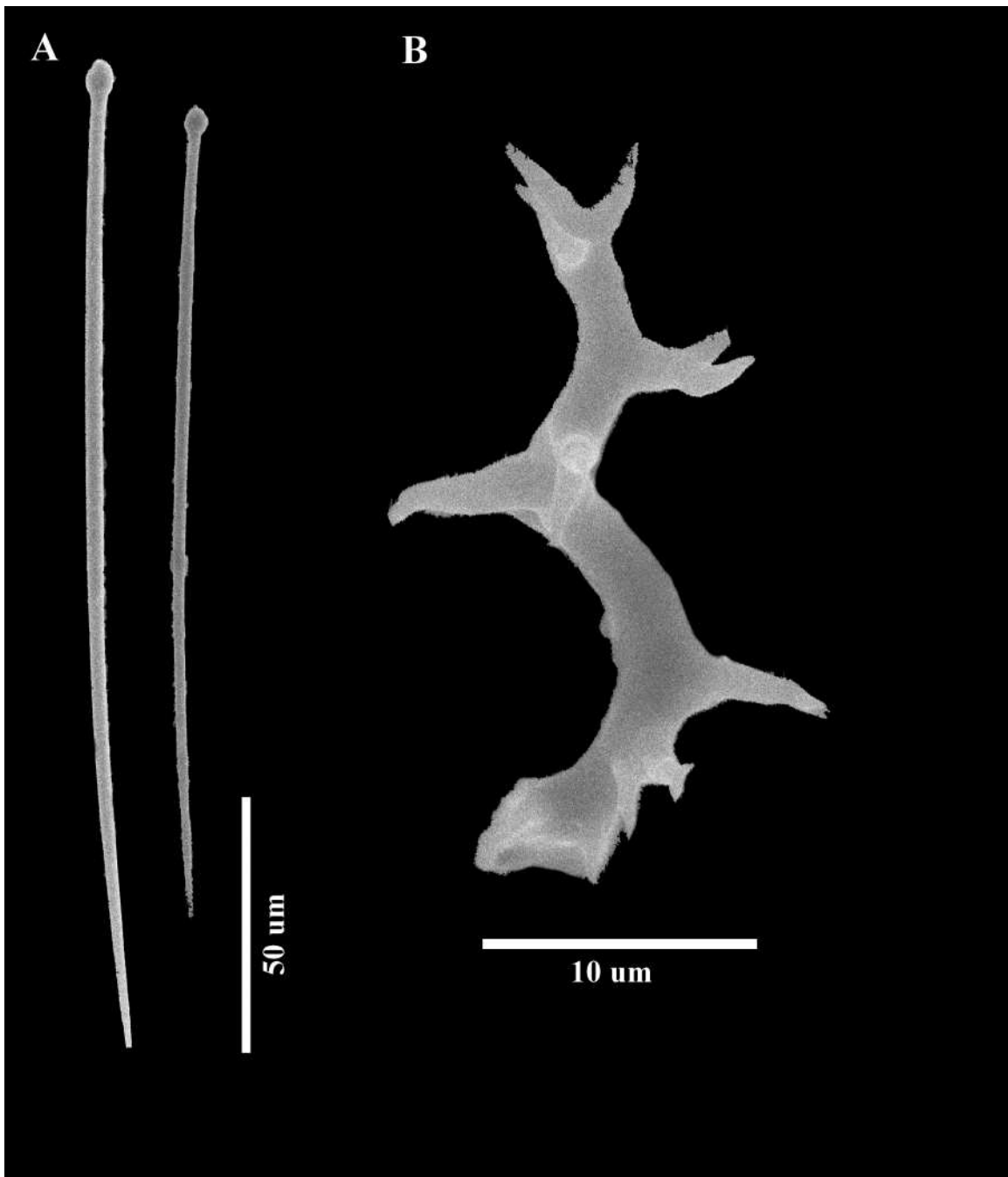


Figura 4.11: Espículas de *Cliona flavifodina*.
A. Tilostilos; B. Espiráster.



Figura 4.12: Espículas de *Cliona janitrix*.

espinas cónicas largas, raramente bifurcadas en la punta. La longitud y grosor promedio son de 37.2 μm y 2 μm respectivamente. También se presentan formas rectas tipo amfiásteres con espinas alargadas en los extremos de los ejes. Las formas espiraladas presentan espinas comúnmente en la parte convexa. Los tilostilos se encuentran en empalizada en las papilas y de manera irregular en el coanosoma. Los datos son tomados de Calcinai et al. (2005).

Distribución: Indo-Pacífico (van Soest et al. 2020).

***Cliona lobata* Hancock, 1849**

Diagnosis

Esponja perforadora en crecimiento alfa. Papilas pequeñas y numerosas. El esqueleto está formado por megascleras que son i) tilostilos levemente curvos y con cabeza redondeada, aunque en ocasiones es ovalada, generalmente subterminal; la longitud y grosor promedio es de 200 μm y 5 μm respectivamente. Las microscleras son ii) microrhabdes espinados y con curvaturas, posee las terminaciones obtusas, aparentemente de dos clases, unas con longitud de 50 μm y grosor promedio de 4 μm ; otras con longitud promedio de 15 μm y grosor promedio de 3 μm . Tomando en cuenta la foto de Rützler & Stone (1986) estas espículas se consideran espirásteres en este trabajo. Los datos se tomaron de la descripción de Rützler & Stone (1986).

Distribución: Indo - Pacífico central y oeste, Sur África templado, Atlántico tropical y Atlántico norte templado (van Soest et al. 2020).

Observaciones: Ha habido sugerencias para sinonimizar con *Cliona celata* pero la mayoría de autores consideran que es una especie válida (ej. Hancock, 1849; Rützler & Stone, 1986).

***Cliona mariae* Pacheco, Carballo, Cruz-Barraza, Schönberg & Calcinai, 2020**

Diagnosis

Esponja excavadora en crecimiento alfa, con papilas circulares y coloración en vivo naranja (figura 4.13). Posee dos tipos de megascleras. i) Tilostilos con longitud de de 110 μm a 150 μm ; grosor de tallo de 2.5 μm a 3.8 μm ; diámetro de tylo de 5 μm a 7.5 μm . ii) Tilostilos ensiformes que pueden ser rectos o curvos y tienden a ensanchar con forme se alejan del tilo para posteriormente terminar en una punta alargada. La longitud es de 65 μm a 105 μm ; grosor de 2.5 μm a 6.3 μm y diámetro de tilo de 5 μm a 10 μm (figura 4.14). También se dan algunas espículas raras y escasas: tilostilos ensiformes con el tilo desplazado, tilostilos pequeños como hongos y oxas mucronadas, ver en Pacheco et al. (2020). Los dos tipos de tilostilos están presentes en ectosoma y coanosoma. Los tilostilos ensiformes están en empalizada formando los diafragmas. Su huella de erosión tiene un patrón de áreas poligonales lisas.

Distribution: Pacífico Tropical Oriental (Pacheco et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México y Costa Rica.

Cliona medinae Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava 2011

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, las papilas son muy pequeñas, circulares u ovaladas. La coloración de la esponja en vivo es amarilla. El esqueleto está formado por megascleras i) tilostilos delgados y levemente curvos con cabeza globular. De acuerdo con Cruz-Barraza et al. (2011) la longitud es de 152 μm a 195 μm ; el grosor de 2.5 μm a 7.5 μm y el diámetro de tilo es de 7 μm a 13 μm . Las microscleras son ii) espirásteres pequeños levemente curvos con espinas largas y robustas, en ocasiones bi- o tri-furcadas. En las papilas los tilostilos están orientados con las puntas hacia el exterior, mientras que en el coanosoma son comunes los tilostilos y espirásteres. La huella de perforación es poligonal y lisa. Tomado de Cruz-Barraza et al. (2011).

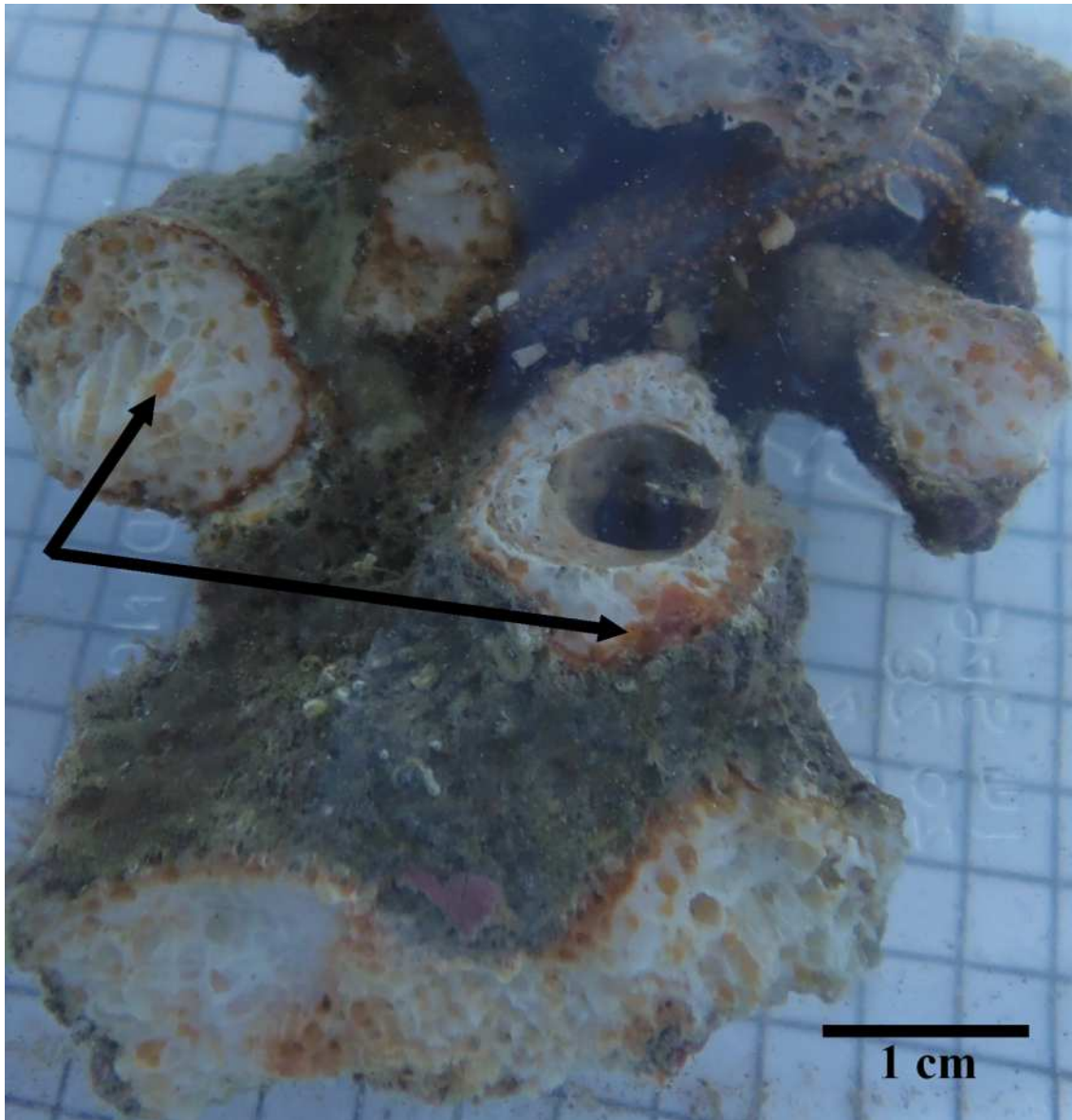


Figura 4.13: Esponja *Cliona mariae* perforando un coral pocilopórido. La esponja (flechas) se distingue fácilmente por su coloración anaranjada que contrasta en el blanco del carbonato de calcio.

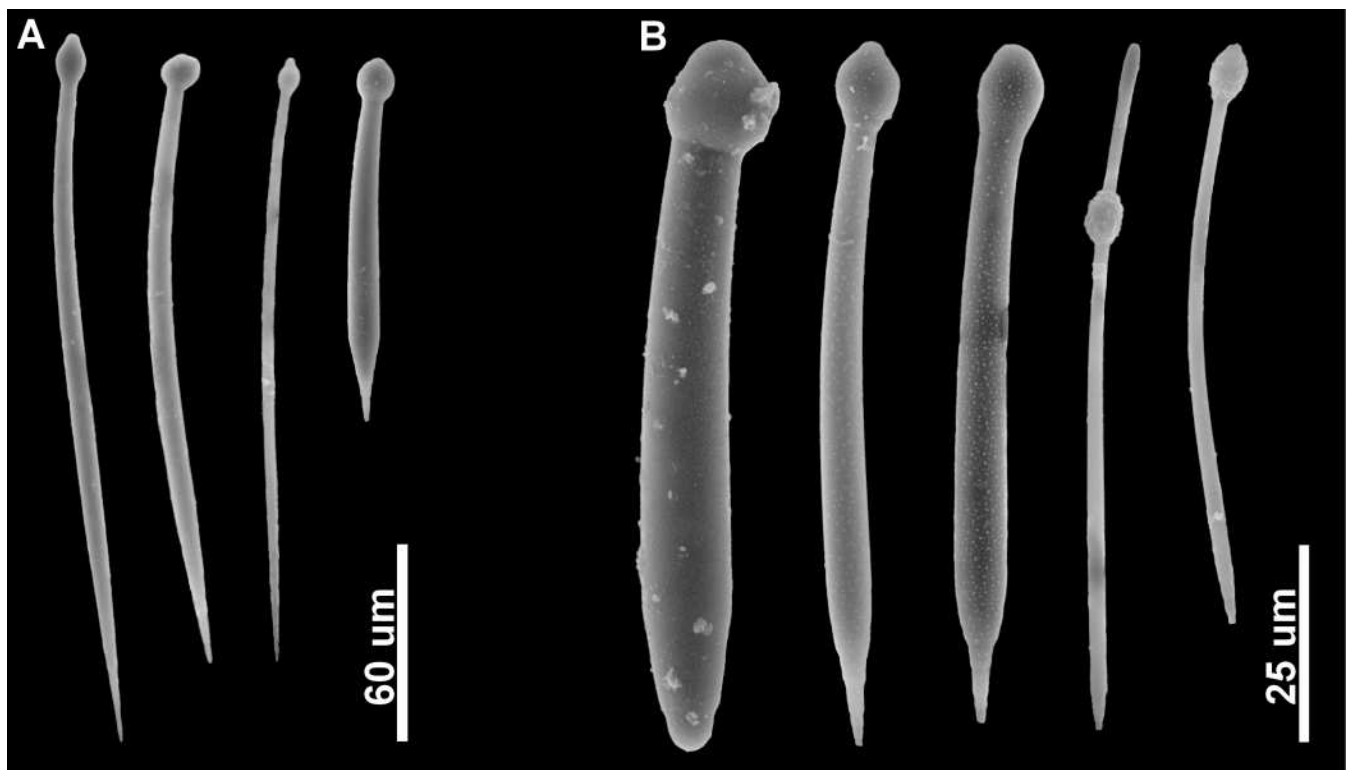


Figura 4.14: Espículas de *Cliona mariae*.
A. Tilostilos y un tilostilo ensiforme en la misma escala; B. Detalle y variación de tilostilos ensiformes.

Distribución: Isla Clarión, archipiélago de Revillagigedo, Pacífico de México (van Soest et al. 2020).

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

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas circulares. La coloración en vivo es roja. Su esqueleto está formado por un tipo de megascleras, i) tilostilos delgados o ensiformes, la mayoría rectos y algunos levemente curvos. Longitud entre 122 μm a 248 μm ; grosor de 3.2 μm a 8.7 μm ; diámetro de tilo de 5.5 μm a 12 μm (figura 4.15 A). Las microscleras son ii) microstrongilos, en forma ariñonada o esférica, su longitud es de 14.9 μm a 29.7 μm ; diámetro entre los 2.6 μm y 16.6 μm (figura 4.15 B). Las papilas están formadas por una corteza densa de microstrongilos y escasos tilostilos. El coanosoma está formado por tilostilos y pocos microstrongilos.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico norte de Costa Rica (bahía Salinas).

Observaciones: Carballo & Cruz-Barraza (2005) reportan además la presencia ocasional de iii) tilostrongilos con longitudes entre 100 μm y 113 μm ; grosor de 20 μm a 23 μm ; diámetro de tilo de 21 μm a 24 μm .

***Cliona mucronata* Sollas, 1878**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, las papilas son circulares. La coloración en vivo es anaranjada. Su esqueleto está conformado por dos tipos de megascleras: i) tilostilos rectos o curvos

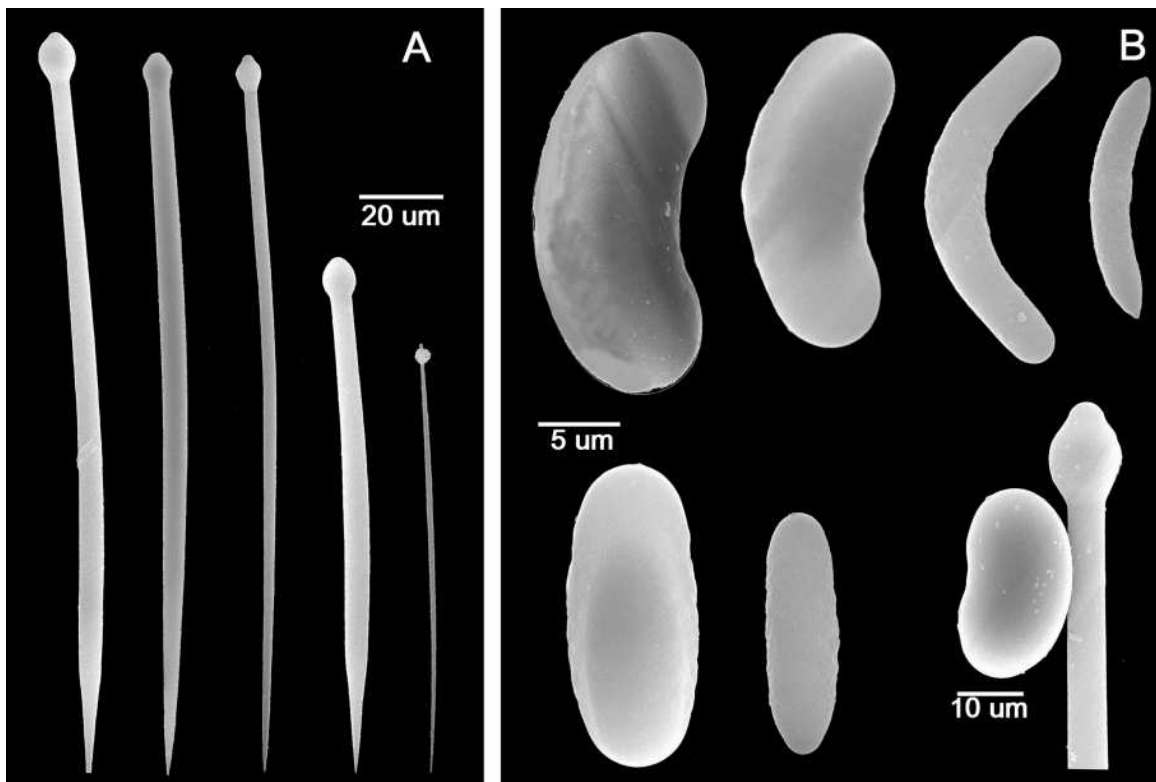


Figura 4.15: Espículas de *Cliona microstrongilata*.
A. Tilostilos; B. Microstrongilos.

con longitudes de 130 μm a 392.5 μm ; grosor de 2.5 μm a 17.5 μm ; diámetro de tilo de 2.5 μm a 17.5 μm (figura 4.16 A). ii) Tilostilos mucronados, rectos o curvos con tallo terminando en un mucrón (punta fina). Longitud de 52.5 μm a 175 μm ; grosor de 5 μm a 20 μm ; diámetro de tilo de 5 μm a 20 μm (figura 4.16 B). En algunos especímenes ocasionalmente se observan microscleras iii) espirásteres con dos ondulaciones y terminaciones en punta. La longitud es de 12.5 μm a 20 μm . Ambos tipos de megascleras están presentes en ectosoma y coanosoma, los tilostilos mucronados están en empalizada formando los diafragmas. El patrón de erosión tiene la forma de áreas poligonales lisas.

Distribución: Indo-Pacífico (Pacheco et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Indo-Pacífico, Indonesia; Gran Barrera Arrecifal, Australia.

Observaciones: Los espirásteres se encuentran ocasionalmente y solo en algunos especímenes. Esto podría sugerir que en el Indo-Pacífico podrían coexistir dos especies distintas con y sin microscleras. Será necesario obtener marcadores moleculares para clarificar si esta variación corresponde a variación intra- o inter-especie.

***Cliona orientalis* Thiele, 1900**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, la coloración es café. Las megascleras son i) tilostilos, con tilo redondeado y punta afilada. La longitud promedio es de 230 μm y el grosor de 9 μm (Thiele, 1900). Fromont et al. (2005) reportan promedio de longitud de 344 μm . Las microscleras son ii) espirásteres curvos con microespinación a lo largo del eje; su longitud promedio es de 25 μm . Los tilostilos están orientados con las puntas hacia el exterior en las papilas. Los espirásteres se encuentran casi exclusivamente en el coanosoma y más concretamente en los canales de unión

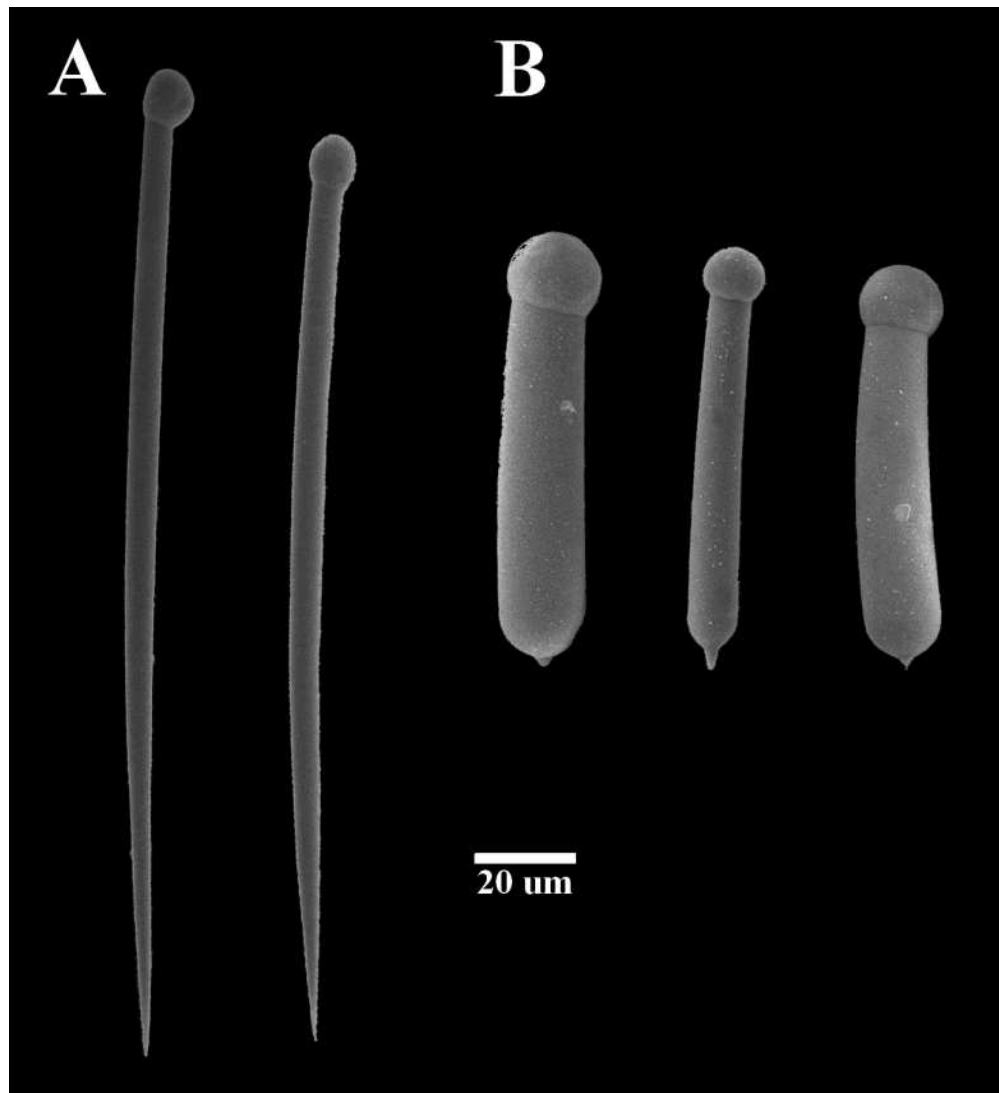


Figura 4.16: Espículas de *Cliona mucronata*.
A. Tilostilos; B. Tilostilos mucronados.

de las galerías. Los datos son tomados de Thiele (1900).

Distribución: Indo-Pacífico y Mar rojo (van Soest et al. 2020).

***Cliona papillae* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas que pueden llegar a sobresalir de la superficie. La esponja en vivo tiene una coloración amarillo pálido. Las megascleras son i) tilostilos, la mayoría son rectos o ligeramente curvos y con tilo esférico u oval. La longitud es de 240 μm a 300 μm , el grosor de 3 μm a 8 μm y el diámetro del tilo es de 7 μm a 11 μm (figura 4.17 A). ii) Tilostrongilos escasos. Las microscleras son iii) espirásteres delgados y de espinación moderada. La longitud es de 14 μm a 30 μm (figura 4.17 B). El ectosoma está formado por tilostilos que dirigen sus puntas hacia afuera de la esponja. El coanosoma tiene tilostilos dispersos irregularmente y ocasionalmente tractos de espículas. Los espirásteres son escasos en las papilas pero abundantes en el coanosoma. La erosión forma un patrón poligonal y liso.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México.

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

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares. La coloración de la esponja en vivo es café claro. Su esqueleto está conformado únicamente por un tipo de megascleras, i) tilostilos que presentan variación en la posición del tilo principalmente. Estos tilostilos tienen una

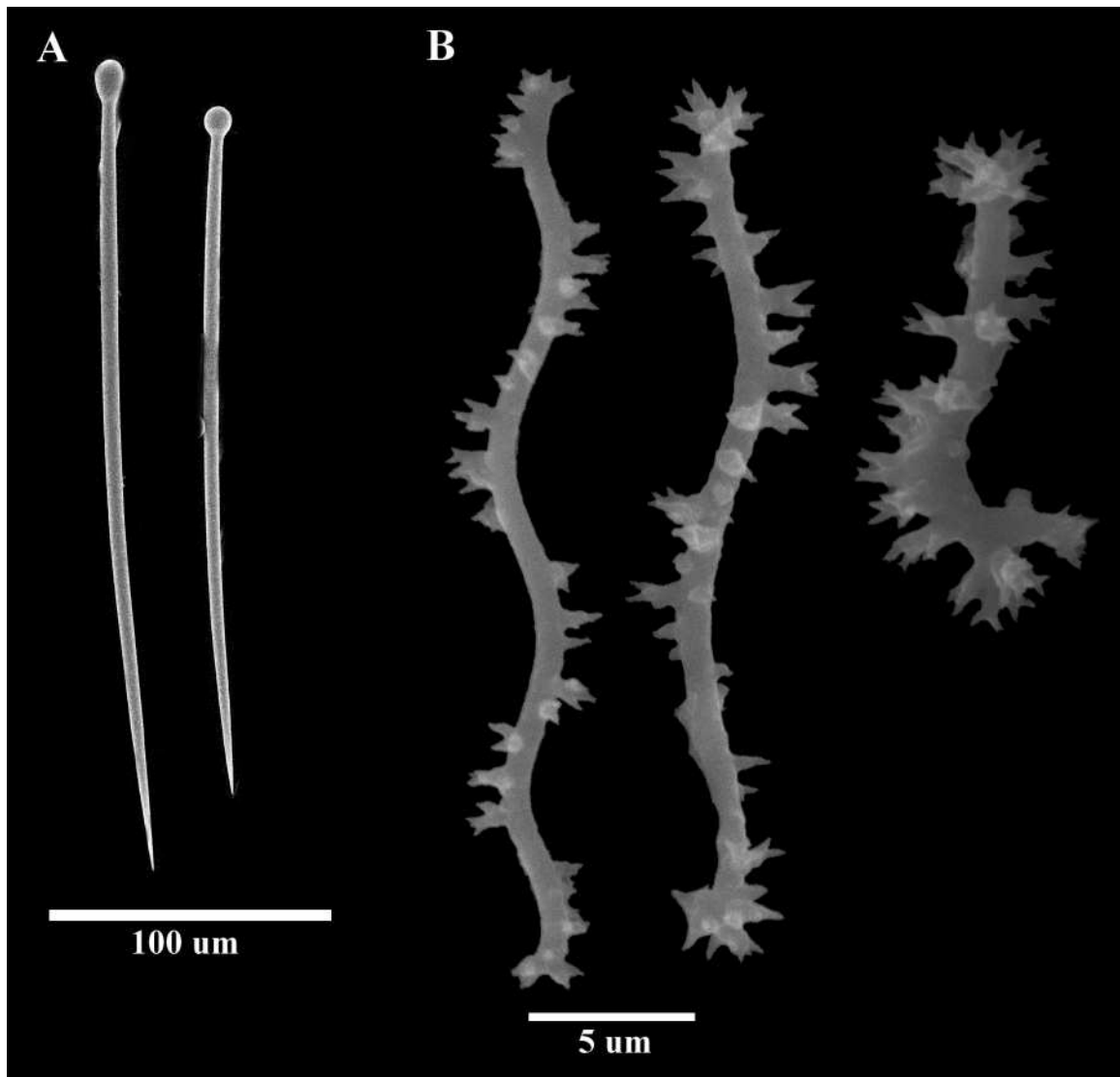


Figura 4.17: Espículas de *Cliona papillae*.
A. Tilostilos; B. Espirásteres.

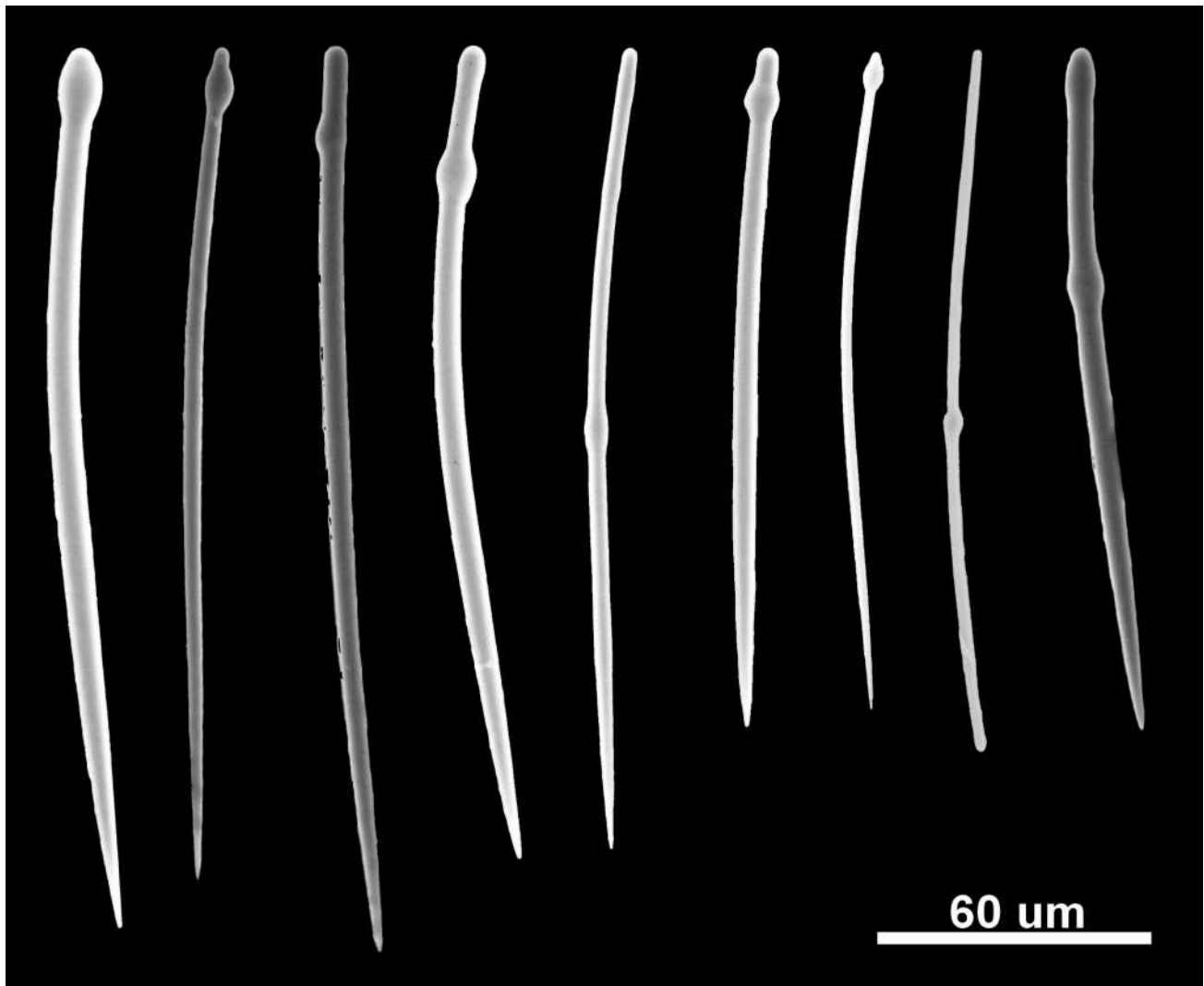


Figura 4.18: Espículas tilostilos de *Cliona pocillopora*.

longitud entre 82 y 216 μm ; grosor de 1.5 a 7 μm ; diámetro de tilo de 3 a 9 μm (figura 4.18). Espículas distribuidas en el ectosoma y coanosoma. La huella de erosión forma áreas poligonales lisas.

Distribución: Pacífico este tropical (Bautista-Guerrero et al. 2006; Pacheco et al. 2018)

Proveniencia del material examinado: Pacífico de Costa Rica (isla del Coco), y de El Salvador (Los Cóbano).

Cliona raromicrosclera* Dickinson, 1945*Diagnosis**

Esponja excavadora con formas beta y gamma. Los ósculos son circulares u ovales y se elevan sobre el sustrato. La coloración en vivo es anaranjado o verde oscuro. Las megascleras son i) tilostilos rectos o ligeramente curvos, generalmente con la cabeza redondeada u oval. Las dimensiones promedio son 341 μm de longitud y 9 μm de grosor. También presenta ii) tilostrongilos rectos con tilo redondeado. La longitud es de 126 μm , el grosor de 20.7 μm y el diámetro de tilo de 25 μm . Las microscleras son iii) espirásteres sinuosos o rectos y algunos con forma de antosigmas con longitudes de 20 μm . Los tilostilos forman empalizadas que apuntan hacia afuera de la superficie. Los espirásteres están en el coanosoma además de detritos (conchas de moluscos, tubos de poliquetos, percebes) y arena. Datos tomados de (Dickinson, 1945).

Distribución: Pacífico mexicano y golfo de California (van Soest et al. 2020).

Proveniencia de material examinado: Pacífico de México.

Cliona rhodensis* Rützler & Bromley, 1981*Diagnosis**

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares y se distinguen las inhalantes de las exhalantes. La coloración de la esponja en vivo es rojo – anaranjado. El esqueleto está formado por megascleras del tipo i) tilostilos con tilo globular o subtilo. Longitud de 320 μm a 425 μm ; grosor de 7.5 μm a 13.8 μm ; tilo de 7.5 μm a 16.3 μm . Las microscleras son ii) amfiásteres delgados y gruesos, con longitud de 7.3 μm a 12.9 μm ; grosor de 2.8 μm a 5.9 μm y iii) espirásteres delgados y gruesos, de dos a cuatro curvaturas en el tallo; longitud de 38.7 μm a 53.5 μm ; grosor de 5.0 μm a 11.2 μm . Los tilostilos, espirásteres y amfiásteres están presentes en el ectosoma. En el coanosoma son más comunes los tilostilos y espirásteres. Datos tomados de Rützler & Bromley

(1981).

Distribución: Mar Mediterráneo (Rützler & Bromley, 1981; van Soest et al. 2020).

***Cliona schmidtii* (Ridley, 1881)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas son circulares y la coloración en vivo es púrpura (figura 4.19). Los elementos espiculares están constituidos por megascleras, i) tilostilos rectos o levemente curvos, con cabeza lobulada o subtilostilo. La longitud es de 235 μm a 286 μm y el grosor de 3 μm a 8 μm . Las microscleras son ii) espirásteres con longitud de 25 μm a 60 μm y los iii) amfiásteres con longitudes de 20 μm a 45 μm .

Distribución: Mar Mediterráneo, océano Atlántico este e Indo-Pacífico Oeste (Carballo et al. 1994).

Proveniencia del material examinado: Mar de Liguria (Alassio, Italia).

Observaciones: La descripción original de Ridley (1881) no hace distinción entre el tipo de microscleras mientras que Carballo et al. (1994) da un promedio de espirásteres 84.1 μm que es superior al rango descrito en el espécimen analizado.

***Cliona spissaspira* Corriero & Marzano, 2006**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas sobresalen del sustrato. La coloración de la esponja en vivo es rojo-anaranjado. Posee como megascleras i) tilostilos con cabeza redondeada, la longitud es de 144 μm a 264 μm , el grosor de 4 μm a 5 μm y el diámetro de tilo de 6 μm a 8.4

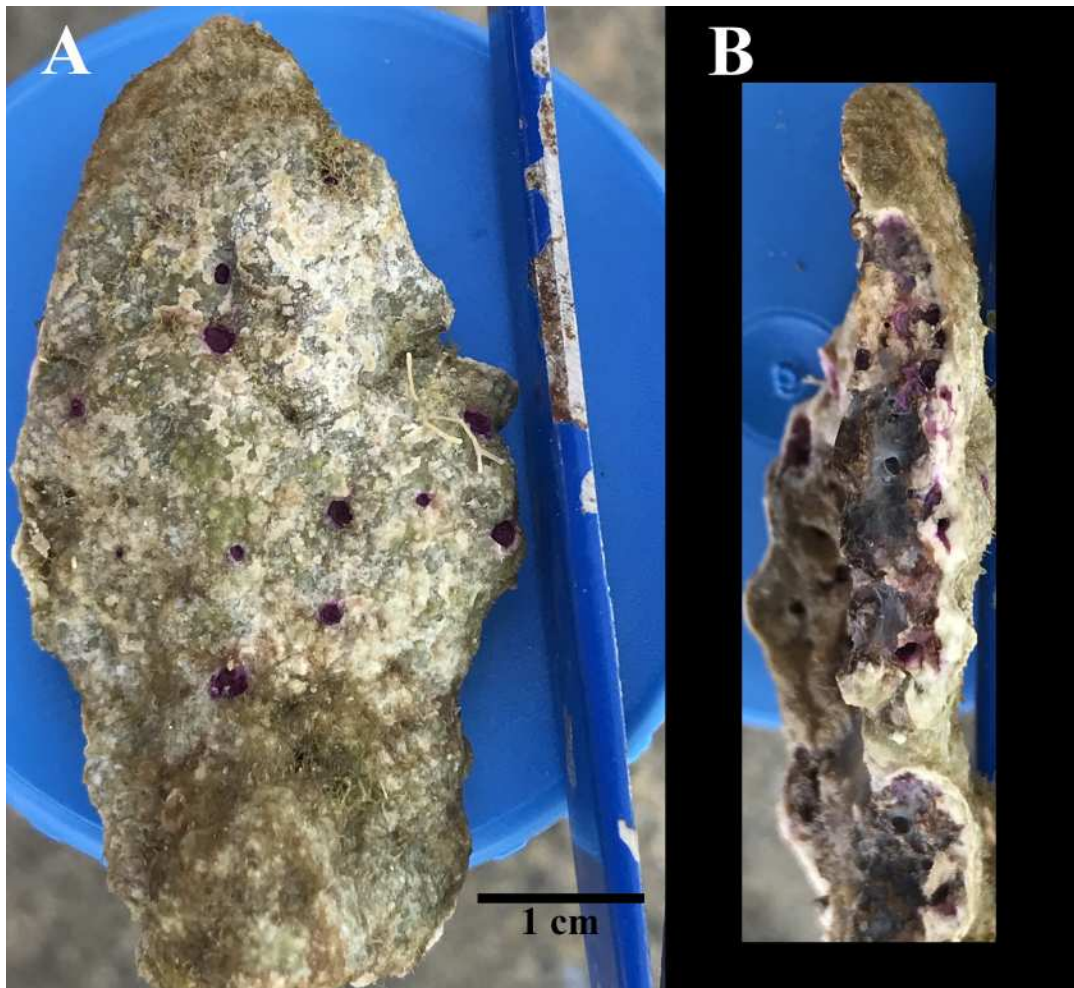


Figura 4.19: *Cliona schmidtii* perforando alga calcarea. Su color morado es muy característico. A. Se aprecian las papilas en la superficie calcarea. B. Cámaras de perforación internas.

μm . Las microscleras son ii) espirásteres lisos, con forma de C o alargados con o sin ondulaciones, presentan longitud de 65 μm a 92 μm y grosor de 8 μm a 12 μm . Las tallas la distinguen de *Cliona vermifera*. Los tilostilos sobresalen con las puntas hacia el exterior en las papilas, los espirásteres se encuentran rodeando los canales del sistema acuífero en el coanosoma. Tomado de Corriero & Manzano (2006).

Distribución: Mar Jónico, Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

***Cliona thomasi* Mote, Schönberg, Samaai, Gupta & Ingole, 2019**

Diagnosis

Esponja excavadora en formas alfa y beta con tendencia a gamma. La coloración es beige-café oscuro. Las megascleras son i) tilostilos robustos con tilos perfectamente redondeados y terminales. Se distinguen dos tallas con promedios de longitud 353 μm , grosor de 14.7 μm y diámetro de tilo de 16.5 μm . Las otras más chicas con longitud de 271 μm , grosor de 12.6 μm y diámetro de tilo de 14.9 μm . Las microscleras son ii) espirásteres predominantemente en forma-C también aparecen curvadas y en forma-S, algunos pocos con forma recta. El ectosoma está compuesto por tilostilos en empalizada. El coanosoma posee pocas espículas y los espirásteres se asocian a partes membranosas (Mote et al. 2019).

Distribución: Indo-Pacífico oeste (Mote et al. 2019).

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

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, las papilas son pequeñas y circulares. El color en vivo es

amarillo. Las megascleras son i) tilostilos con tilos esféricos u ovales, algunos con malformaciones. La longitud es de 238 μm a 333 μm , el grosor de 3 μm a 7 μm y el diámetro de tilo de 5 μm a 11 μm (figura 4.20 A). Las microscleras son espirásteres alargados o incluso casi rectos tipo amfiásteres, la espinación es fina y está a lo largo del cuerpo y en las terminaciones del tallo central. La longitud es de 16 μm a 27.6 μm (figura 4.20 B). Los tilostilos tienen las puntas hacia el exterior en el ectosoma y el coanosoma posee tilostilos y espirásteres sin ningún orden aparente.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2018).

Proveniencia del material examinado: Pacífico Mexicano y de Costa Rica.

Observaciones: Cruz-Barraza et al. (2011) presentan una longitud promedio para tilostilos de 193 μm , marcadamente más chica que la encontrada en este trabajo. (

***Cliona utricularis* Calcinai, Bavestrello & Cerrano, 2005**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas bien definidas. La coloración es rojiza-naranja. El esqueleto está formado solo por megascleras de tipo i) tilostilos, estos son moderadamente curvos y con tilo globular, son escasos los trilobados o subterminales. La longitud promedio es de 406.7 μm y el grosor de 13.5 μm . Los tilostilos se colocan en tractos en las papilas y de manera irregular en las cámaras.

Distribución: Indo-Pacífico central (van Soest et al. 2020).

***Cliona vallartense* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004**

Diagnosis

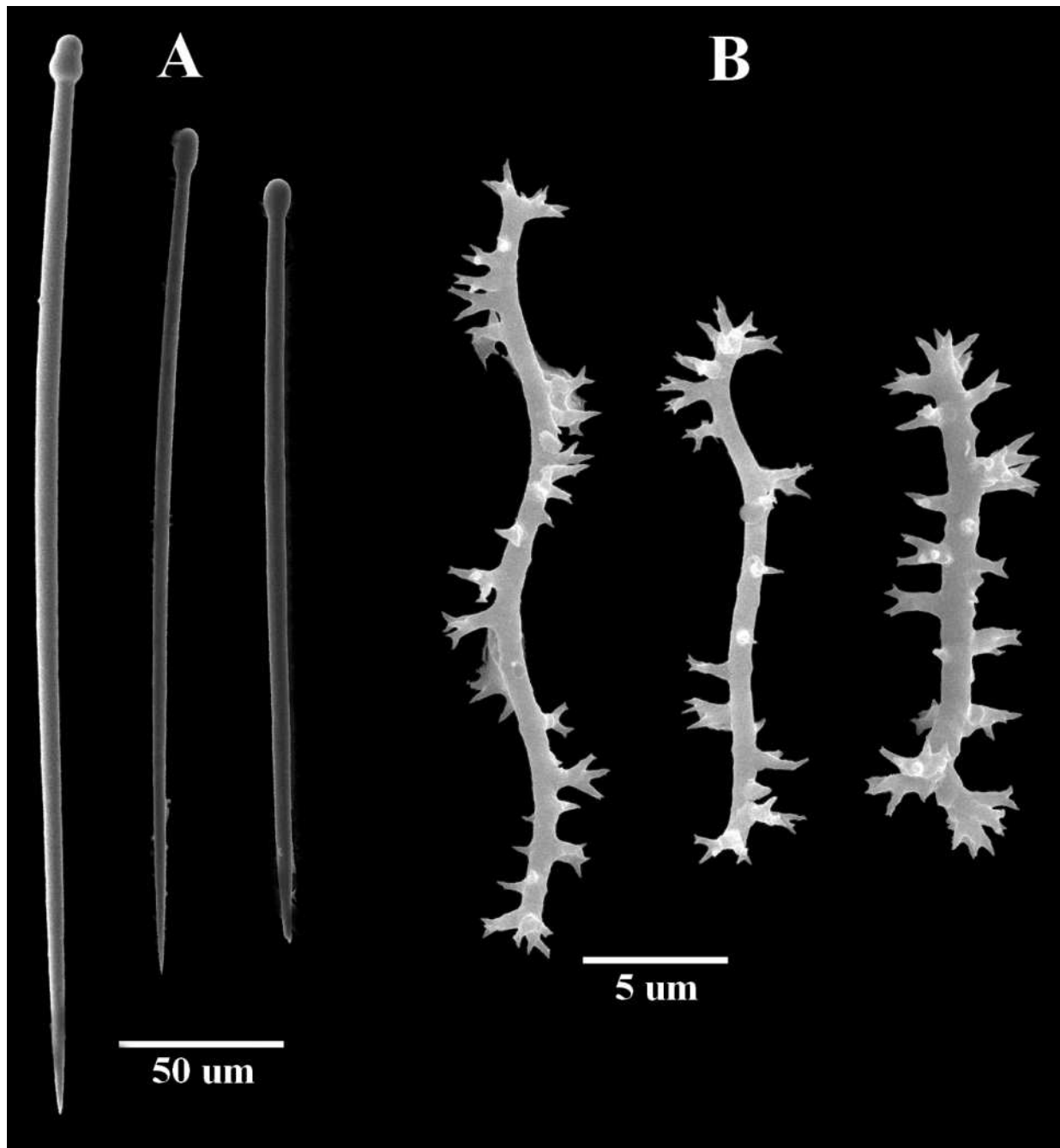


Figura 4.20: Espículas de *Cliona tropicalis*.
A. Tilostilos; B. Espirásteres.

Esponja excavadora en forma alfa y beta. La coloración es de verde olivo a amarillo pálido. El coanosoma es ocre. Las megascleras son i) tilostilos delgados y ligeramente curvos. El tilo es alargado u ovalado, las deformaciones son comunes. La longitud es de 260 μm a 345 μm y grosor de 1 μm a 8 μm . Las microscleras son ii) espirásteres con espinas pequeñas cónicas o bifurcadas en las terminales rodeando el tallo, poseen de 2 a 3 curvas. Los espirásteres son escasos en el ectosoma y papila pero abundantes en el coanosoma.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical. (Carballo et al. 2004).

Proveniencia de material examinado: Pacífico de México.

Cliona varians (Duchassaing & Michelotti, 1864)

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa, con papilas pequeñas que se levantan en forma cónica sobre el sustrato. La coloración en vivo es verde parda. El esqueleto está formado por megascleras i) tilostilos ligeramente curvos con tilo esférico u ovoide. La longitud promedio es de 319 μm y el grosor de 13 μm . Las microscleras son de dos tipos, ii) antosigmas (espirásteres), con longitud promedio de 17 μm y los iii) amfiásteres que son escasos y miden 12 μm . En el coanosoma las espículas no tienen orientación, mientras que en el ectosoma se ordenan perpendicularmente. Los datos son tomados de Rützler et al. (2014).

Distribución: Mar Caribe y océano Atlántico (van Soest et al. 2020).

Cliona vermifera Hancock, 1867

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa, con papilas escasas y tamaño variable y de coloración amarillo-ocre (Hancock, 1867). El esqueleto está formado por megascleras de tipo tilostilos rectos o ligeramente curvos, con tilo terminal ovalado o subterminal. La longitud de los tilostilos varia entre 190 μm a 338 μm (según especímenes analizados del Mediterráneo). Las microscleras son microstrongilos sinuosos con longitud de 36 μm a 39 μm . Ambos tipos de espículas son numerosas y están en el ectosoma y coanosoma (figura 4.21).

Distribución: Mar Mediterráneo, Atlántico oeste, mar Caribe y Pacífico este (van Soest et al. 2020).

Proveniencia de material examinado: Mar Adriático.

Observaciones: La diagnosis surge de los especímenes encontrados en el Mediterráneo, que es la localidad tipo. La coloración y formas de las papilas en vivo no se pudieron observar en el campo, por lo que se han tomado de la descripción original. Las tallas de los tilostilos parecen coincidir con el promedio de 254 μm reportado por Hancock (1867), mientras que los microstrongilos sinuosos revisados fueron más chicos que los reportados originalmente con un promedio de 63 μm (Hancock, 1867). La Base de Datos de Porifera reporta que este es un complejo de especies aún sin describir (van Soest et al. 2020).

***Cliona* aff. *vermifera* (Pacífico Oriental Tropical)**

Descripción breve

Esponja perforadora en forma alfa, con papilas circulares. La esponja tiene una coloración anaranjada (figura 4.22). Esqueleto formado por un tipo de megascleras y un tipo de microscleras. Las megascleras son i) tilostilos rectos o levemente curvos con longitudes entre 100 μm y 294 μm ; grosor de 1 μm a 9.5 μm ; diámetro de tilo entre 3 μm y 13.5 μm (figura 4.23 A). Las microscleras son i) microstrongilos sinuosos con longitudes entre los 25 μm y 65 μm ; grosor entre los 1.5 μm y

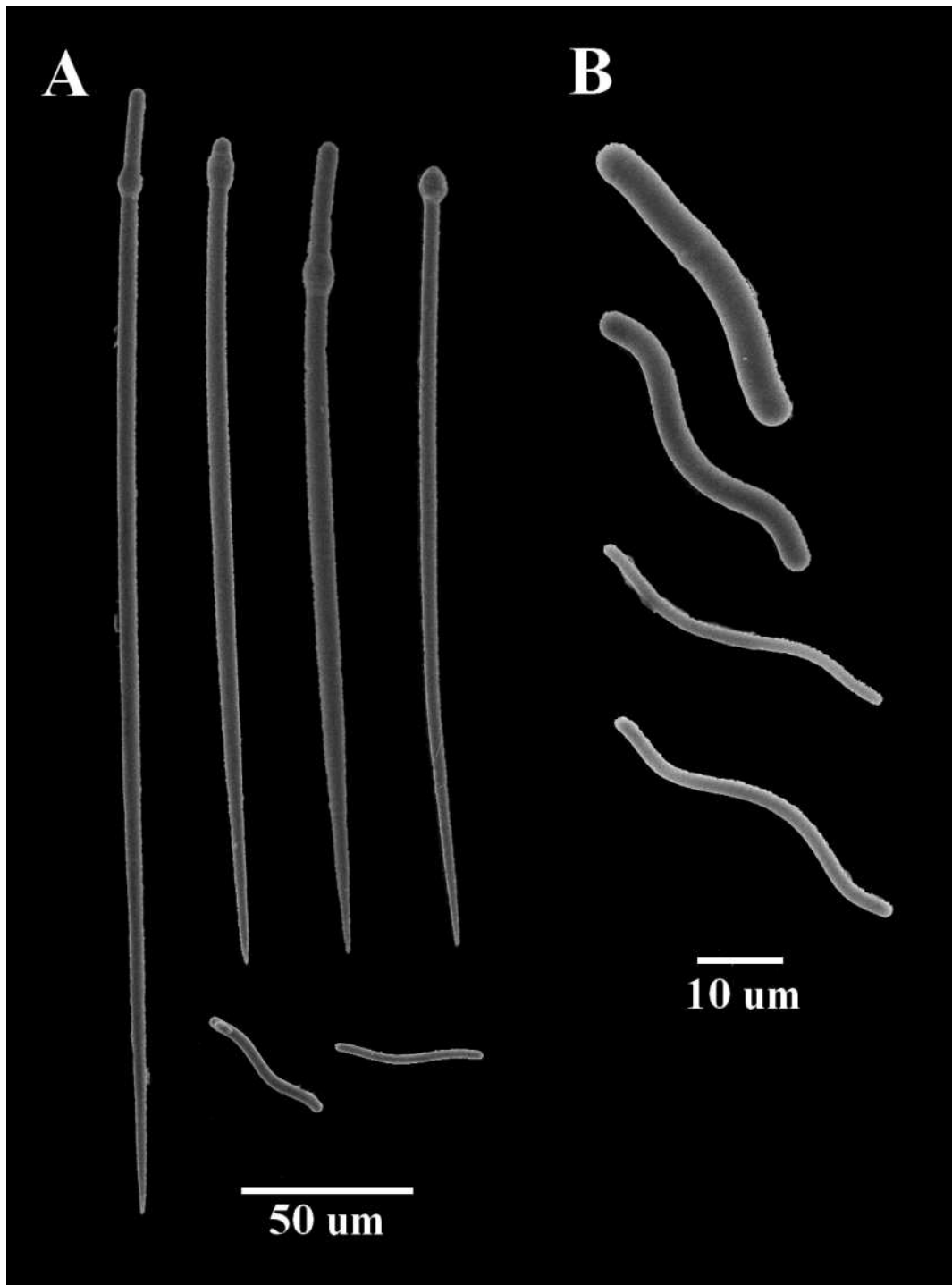


Figura 4.21: Espículas de *Cliona vermifera*.

A. Tilostilos, subtilostilos y microstrongilos en la misma escala; B. Detalle de microstrongilos sinuosos.

6 μm (figura 4.23 B). El patrón de erosión son áreas poligonales lisas.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2020).

Proveniencia de material examinado: Pacífico de México y Costa Rica.

Observaciones: Los especímenes analizados del Pacífico Oriental Tropical poseen una coloración distinta a la reportada en la descripción original, además de tener una talla menor de tilostilos. Se obtuvo material genético de especímenes del mar Mediterráneo, Pacífico Oriental Tropical y mar Caribe para incluir en el análisis molecular y resultados preliminares muestran que esta esponja es un complejo de tres especies con distinta distribución geográfica.

Cliona viridis Schmidt, 1862

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, beta y gamma. Coloración amarilla y verde oscuro en los ejemplares conservados (figura 4.24). Esqueleto formado por megascleras i) tilostilos rectos o curvos en los que el canal axial se observa desde la cabeza hasta la punta. Los tilos son esféricos, lobulados o subtilostilos. La longitud varía en rango de 275 μm – 320 μm . En muchos de los individuos revisados no se observó espirásteres, en otros, los espirásteres fueron abundantes con formas espirales y alargados o formas de C, algunos más rectos y robustos con rango de longitud de 12.5 μm – 47.5 μm .

Distribución: Océano Atlántico y Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

Proveniencia de material examinado: Mar de Liguria (Alassio, Italia); mar Adriático (Portofino, Italia).

Observaciones: En la descripción original la longitud de tilostilos reportada amplía el

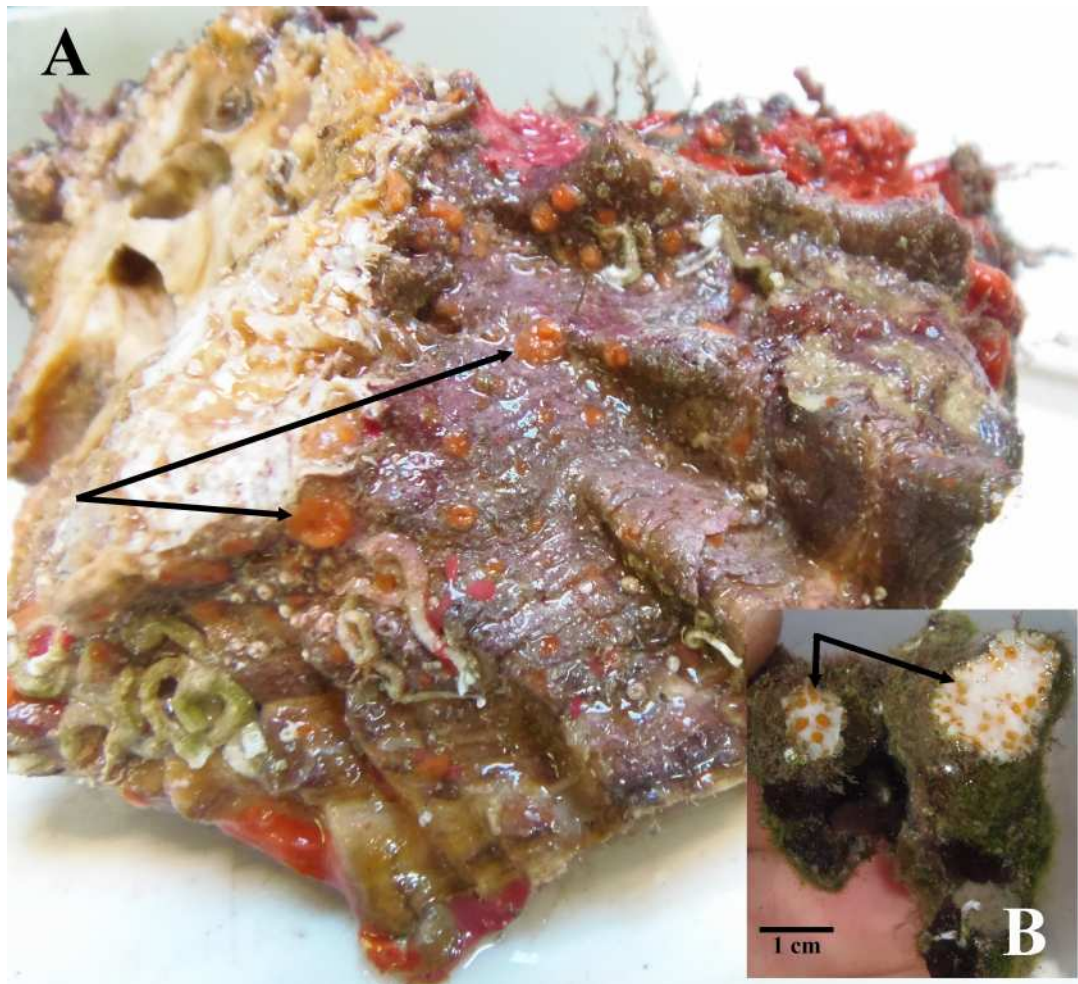


Figura 4.22: Esponja *Cliona vermifera*.

A. Fragmento de concha con las papilas de coloración naranja, sobresaliendo a la superficie (flechas); B. Esponja en el interior de un coral pociloporido.

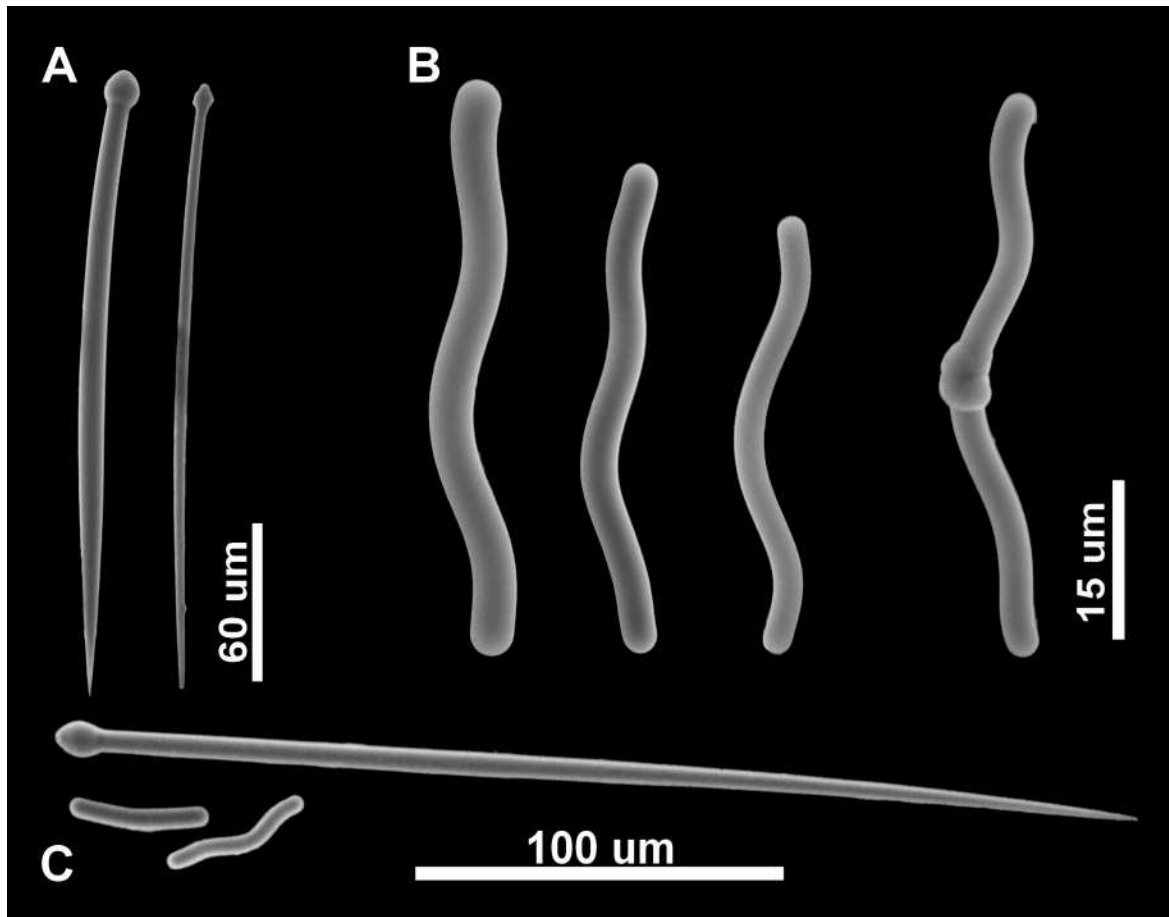


Figura 4.23: Espículas de *Cliona* aff. *vermifera*.
A. Tilostilos, B. Microstrongilos sinuosos.

rango de 200 μm a 400 μm (Schmidt, 1862). Los espirásteres se reportan en forma-C, forma-S y rectos pero no se da información sobre su talla (Schmidt, 1862).

***Cliona yorkin* Pacheco, Carballo, Cruz-Barraza, Schönberg & Calcinai, 2020.**

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa con papilas circulares pequeñas. La coloración de la esponja en vivo es anaranjada. Esqueleto formado por dos tipos de megascleras, i) Tilostilos con longitud de 142 μm a 215 μm ; grosor de 2.5 μm a 10 μm y diámetro de tilo de 5 μm a 12.5 μm (figura 4.26 A). ii) Tilostilos ensiformes, el tallo se ensancha a medida que se aleja del tilo hasta terminar el punto donde se empieza a cerrar para terminar en punta. La longitud es de 80 μm a 140 μm , grosor de tallo de 2.5 μm a 18.8 μm ; diámetro de tilo de 5 μm a 20 μm (figura 4.26 B). Presenta espículas raras o malformaciones de tilostrongilos. Ambos tipos de tilostilos están presentes en ectosoma y coanosoma. Los tilostilos ensiformes se ordenan en empalizada para formar los diafragmas. Su patrón de erosión son áreas poligonales lisas. Los datos son tomados de Pacheco et al. (2020).

Distribución: Tropical Atlántico (Pacheco et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar Caribe de Costa Rica.

***Clionaopsis* (Thiele, 1905)**

Especie tipo: *Clionaopsis platei* (Thiele, 1905).

Sinonimia: *Clionopsis* Thiele, 1905. *Clionaopsis* Rützler, 2002b.

Diagnosis. Esponjas excavadoras en forma beta o gamma. Las megascleras son tilostilos y oxas. Las microscleras son espirásteres (Thiele, 1905; Rützler, 2002).



Figura 4.24: Esponja *Cliona viridis* en forma gamma.
La esponja agrupa gran cantidad de material exógeno.

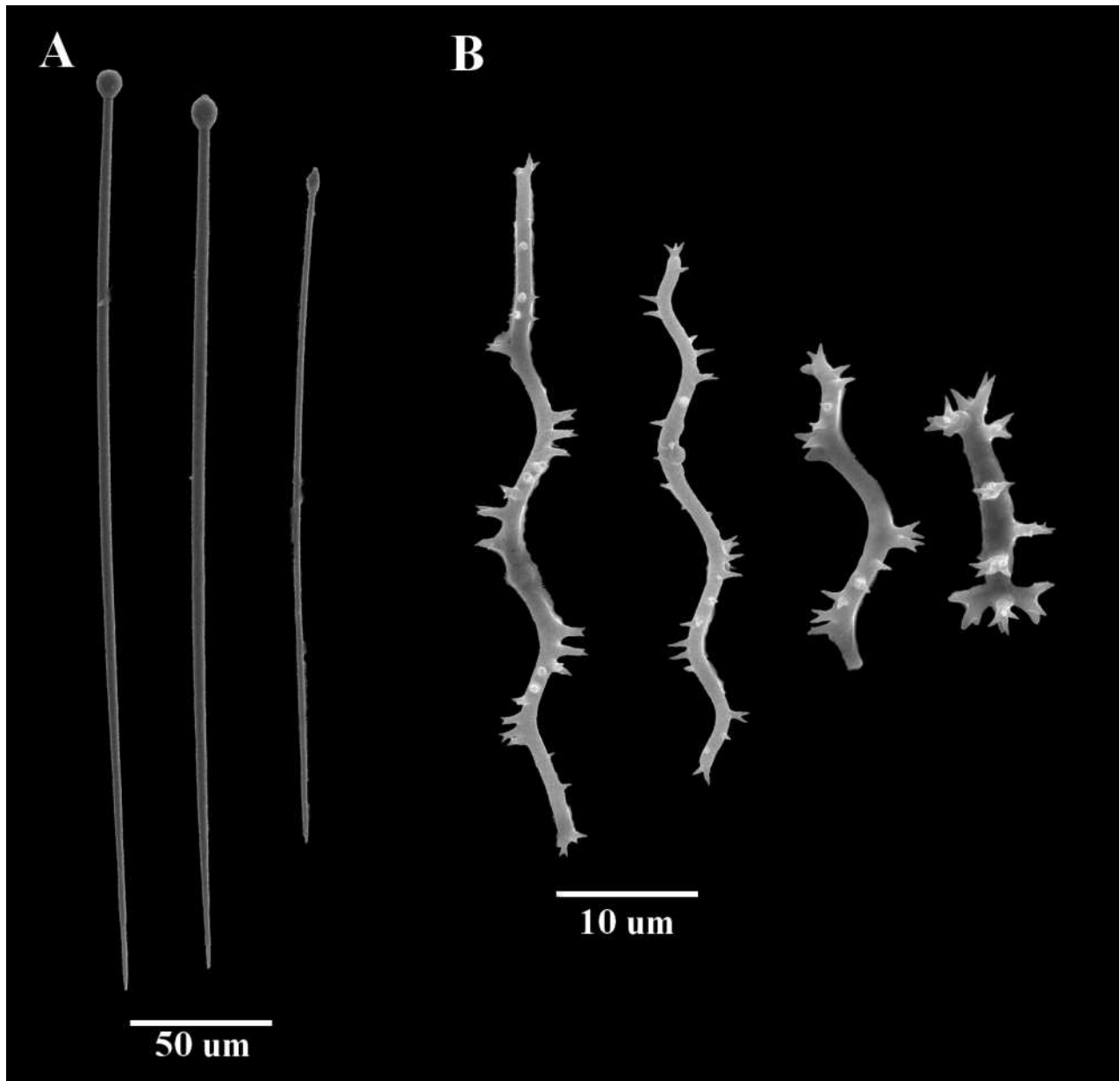


Figura 4.25: Espículas de *Cliona viridis*.
A. Tilostilos; B. Espirásteres.

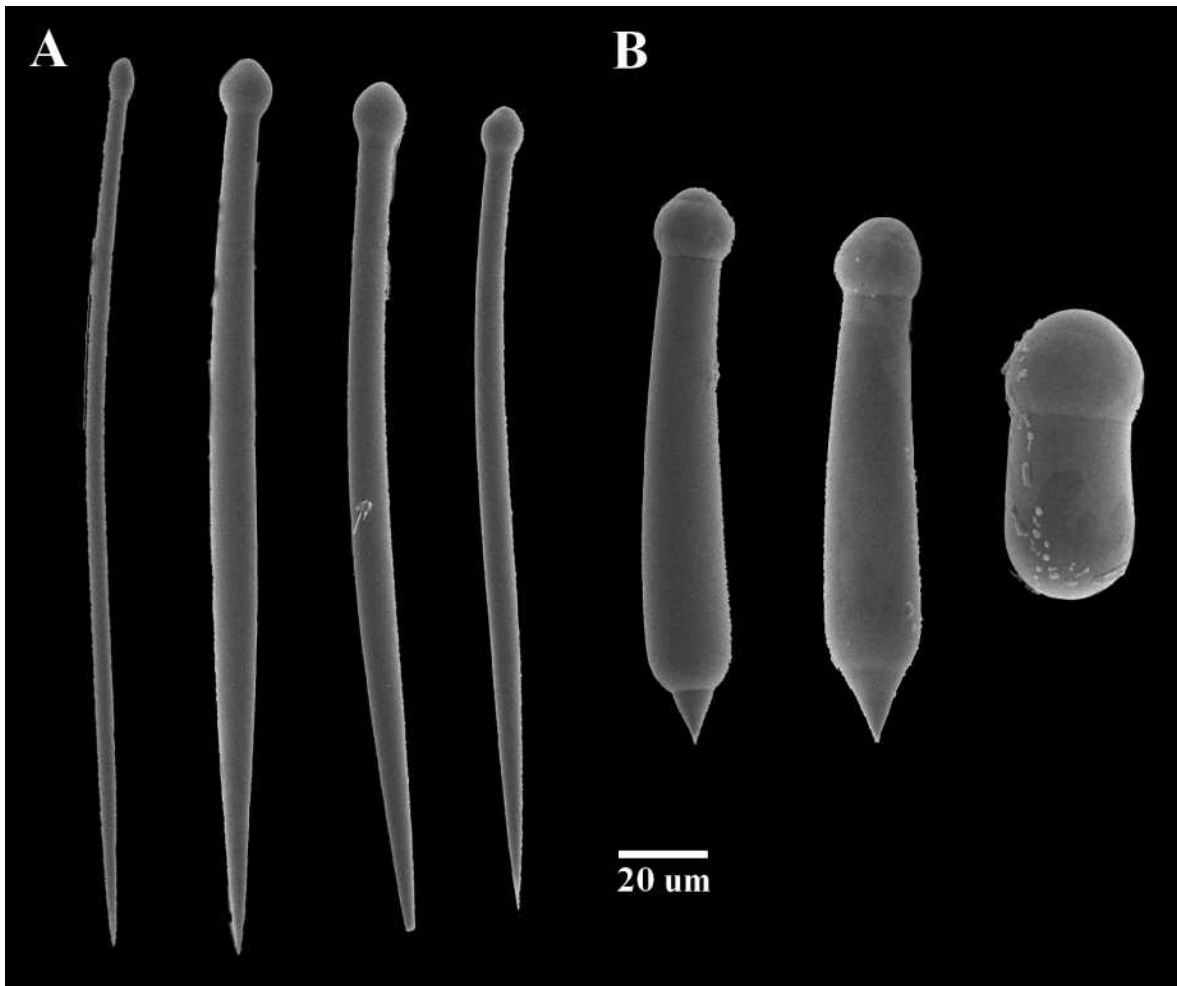


Figura 4.26: Espículas de *Cliona yorkin*.
A. Tilostilos; B. Tilostilos ensiformes.

Clionaopsis platei* Thiele, 1905*Diagnosis**

Esponja excavadora en forma beta o gamma, aplanada o con forma de cono. La coloración va de amarillo a marrón. El esqueleto consiste de megascleras que son i) oxas y ii) tilostilos. Las primeras son lisas, curvas en el centro con longitud de 440 μm a 550 μm , grosor de 17 μm a 23 μm . Los tilostilos tienen el tilo redondeado, algunos con tilo irregular o subterminal; y longitud de 300 μm a 400 μm y grosor de 11 μm a 15 μm . Las microscleras son de dos tipos, iii) espirásteres cortos y con espinación robusta, con longitudes de 15 μm a 35 μm y grosor de 7 μm a 23 μm , y iv) espirásteres largos y sinuosas con espinas finas, con longitud de 53 μm a 86 μm y grosor de 5 μm a 8 μm . El córtex está generalmente formado por densas agrupaciones de oxas acompañadas de pocos tilostilos y espirásteres. Las papilas están orientadas perpendicularmente en la superficie. En el coanosoma se encuentran los cuatro tipos de espículas distribuidos de forma irregular. Los datos son tomados de Thiele (1905) y Rützler (2002).

Distribución: Pacífico Oriental, Chile (van Soest et al. 2020).

***Cliothisa* Topsent, 1905**

Especie tipo: *Thoosa hancocki* Topsent, 1888.

Sinonimia: *Cliothisa* Topsent, 1905. *Thoosa sensu* Topsent, 1888.

Diagnosis. Esponjas excavadoras en forma alfa, con largos tilostilos y generalmente dos tipos de amfiásteres como microscleras: ramificados y nodulosos. Los primeros hallados en las cámaras y los segundos en las papilas. Los amfiásteres nodulosos pueden estar ausentes en algunas especies. Por otro lado, un tercer tipo, diplásteres muy pequeños han sido reportados en las papilas

(Rützler, 2002).

***Cliothosa aurivilli* (Lindgren, 1897)**

Diagnosis

Esponja en forma alfa con una coloración en vivo que va de rosa a anaranjado (Calcinai et al. 2006). Posee megascleras i) tilostilos gruesos y curvos por la parte media, con longitud de 362 μm a 610 μm , grosor de 4 μm a 7.2 μm y diámetro de tilo de 5.6 μm a 9.6 μm (figura 4.27 A-C). Las microscleras son ii) amfiásteres (figura 4.27 D) y iii) espirásteres levemente curvos y espinados con longitudes de 36 μm a 47 μm (figura 4.27 E-F). Según Calcinai et al. (2006) los tilostilos están distribuidos en tractos en el coanosoma, papillas y canales papilares, mientras que los espirásteres están dispersos.

Distribución: Indo-Pacífico (Calcinai et al. 2006).

Proveniencia del material examinado: Vietnam, Indo-Pacífico.

Observaciones: La descripción original de esta especie es muy pobre en contenido y sin imágenes que ayuden a tener una idea clara de las espículas. Por otro lado, separa dos grupos de tilostilos, unos con promedio de longitud de 540 μm y otros de 672 μm . El trabajo de Calcinai et al. (2006) da una descripción más completa de la especie y aporta imágenes de microscopía electrónica. Por otro lado incluye los amfiásteres que no se encuentran en la descripción original. Un trabajo más reciente es el de Ubare & Mohan, (2018) que describe e ilustra la especie sin embargo, el tipo de amfiáster varía considerablemente y no reporta los espirásteres (ver imágenes de espículas en los trabajos citados). El material utilizado en esta tesis es parte del material de colección de la Dra. Calcinai.

***Cliothosa hancocki* (Topsent, 1888)**

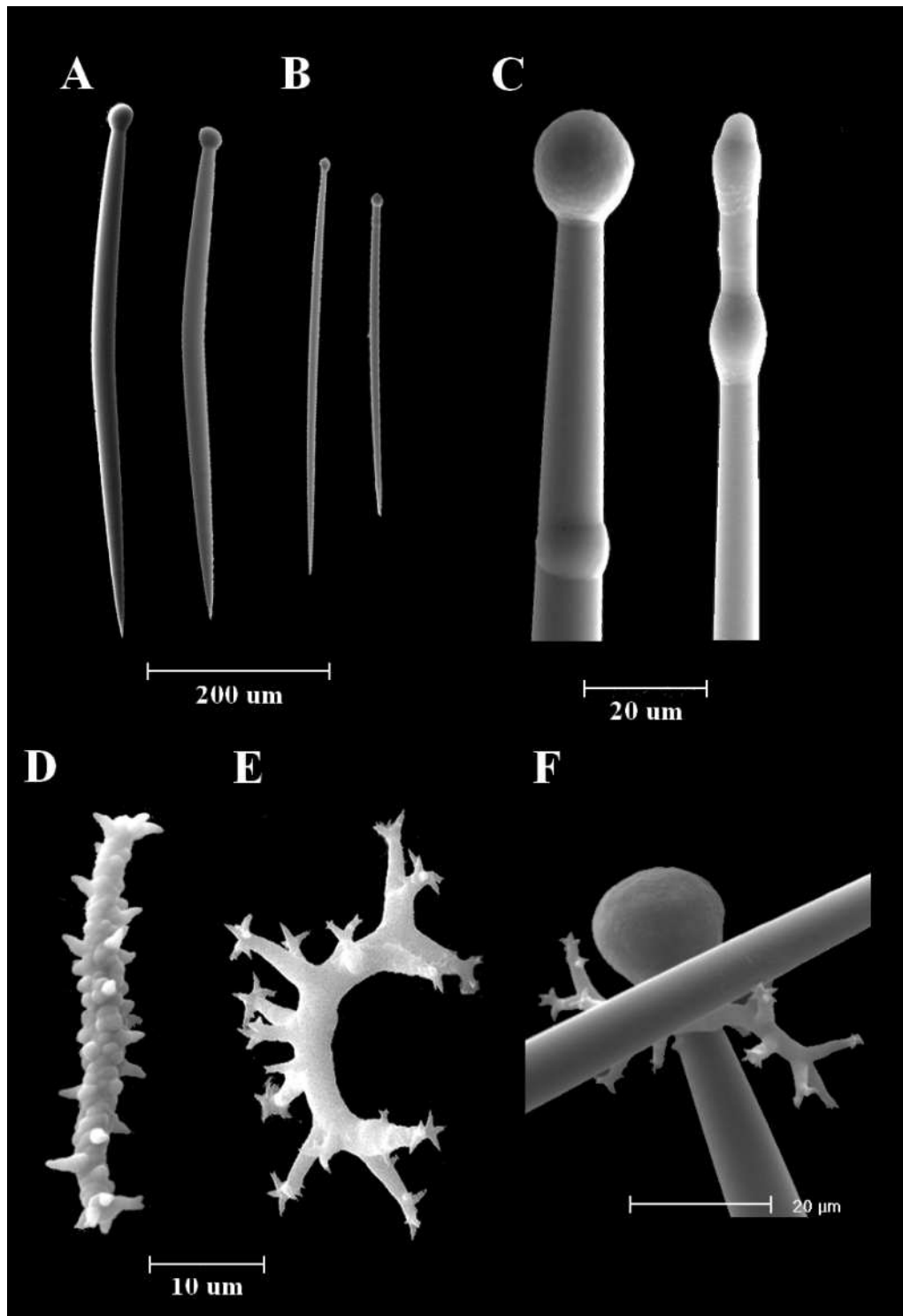


Figura 4.27: Epículas de *Cliothosa aurivilli*.

A - B. Dos tipos de tilostilos; C. Algunos tilostilos subtilostilos; D. Espiraster con tallo granulado probablemente por estar inmaduro; E. Amfiáster en forma de -C; F. Amfiáster entre dos tilostilos.

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Papilas inhalantes formando tamices tenues. La coloración es amarilla tanto en el ectosoma como en el coanosoma. Las megascleras son i) tilostilos robustos y largos, predominantemente rectos, los tilos son ovales o redondeadas, los más comunes son subterminales. Las dimensiones promedio son, longitud de 380 μm , grosor de 12 μm , y diámetro de tilo de 15 μm . Las microscleras son ii) amfiásteres de dos tipos, unos cortos que se ramifican en 3 actinas delicadas al final y las actinas se dividen en ganchos al final. El otro tipo son iii) amfiásteres nodulosos con extensiones bulbosas en lugar de actinas. Los tilostilos se empaquetan densamente en la papila. En el coanosoma los tilostilos y microscleras se distribuyen irregularmente. Los datos se toman de Schönberg (2000).

Distribución: Mar Mediterráneo e Indo-Pacífico este (van Soest et al. 2020).

***Cliothisa tylostrongylata* Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero, & Nava, 2011**

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa, con papilas circulares. La coloración de la esponja en vivo es rojo claro. Posee dos tipos de megascleras i) tilostilos rectos y curvos, su longitud va de 140 μm a 276 μm ; grosor de 6.9 μm a 12.5 μm ; diámetro de tilo de 10.2 μm a 12.5 μm . ii) tilostrongilos (menos frecuentes que los tilostilos, rectos y con longitud de 46 μm a 83 μm ; grosor de 7 μm a 9 μm ; diámetro de tilo 9.3 μm a 12 μm . Las microscleras son iii) amfiásteres lisos y nodulosos con longitudes de 10.6 μm a 12.9 μm y iv) amfiásteres ramificados en los extremos de las actinas, con longitudes de 7.7 μm a 13 μm . La figura 4.28 muestra los tipos espiculares. La huella de erosión forma áreas poligonales.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (van Soest et al. 2020).

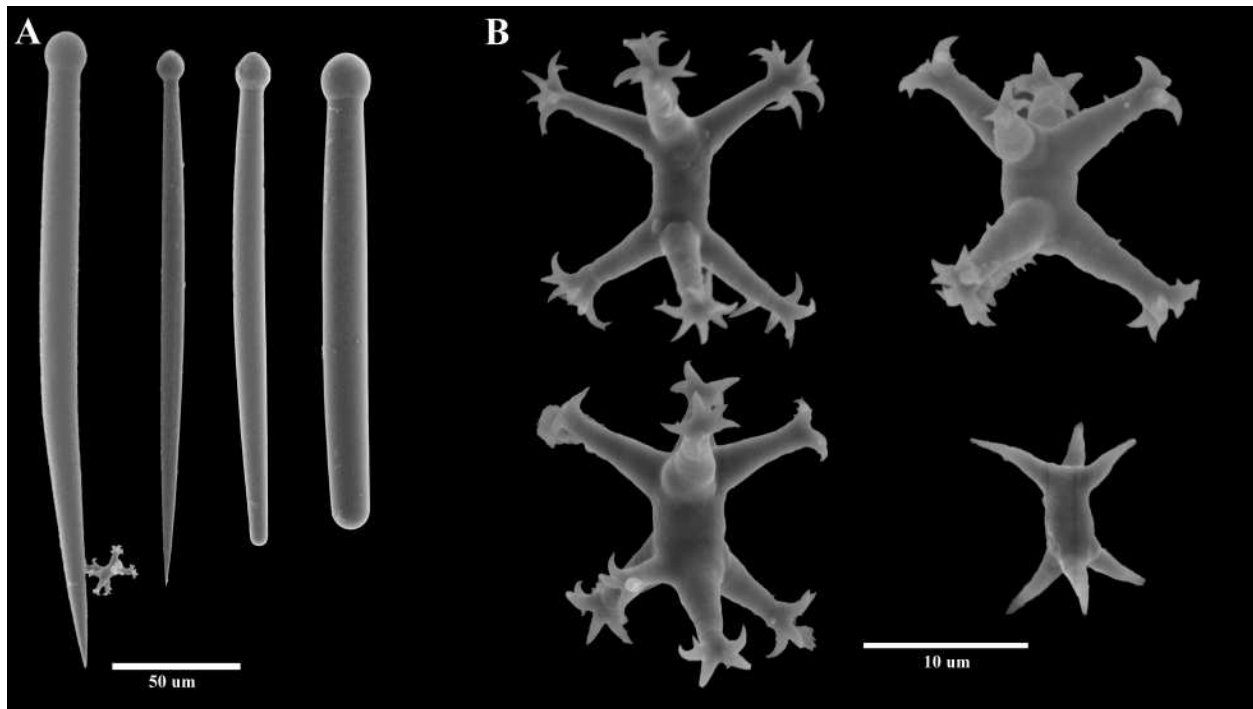


Figura 4.28: Espículas de *Cliothosa tylostrongylata*.
A. Tilostilos; B. Variación de amfiásteres.

Proveniencia del material examinado: Pacífico de El Salvador, Costa Rica y Panamá.

***Cervicornia* Rützler & Hooper, 2000**

Especie tipo: *Cervicornia cuspidifera*

Sinonimia: *Alcyonium cuspidifera* Lamark, 1815. *Spheciospongia cuspidifera* Vicente, Rützler & Carballeira, 1991.

Diagnosis. Esponja excavadora con fístulas inhalantes que se elevan en el sustrato y estolones que terminan bajo el sustrato. Con tilostilos largos distribuidos en tractos en la fístula, y desorganizados en el coanosoma. Escasos espirásteres y amfiásteres en el ectosoma. La distinción con el género *Cliona* es la carencia de papilas y en su lugar la fístula con un complejo de canales inhalantes (Rützler & Hooper, 2000).

Cervicornia cuspidifera (Lamarck, 1815)**Diagnosis**

Esponja excavadora con fístula que sobre sale del sustrato. Su coloración es café. Las megascleras son i) tilostilos, estrongilos y otros derivados. Las microscleras son espirásteres y sus derivados (entre ellos amfiásteres). Los datos son tomados de Lamarck & de Monet (1815); Vicente et al. (1991) y Rützler & Hooper (2000).

Distribución: Océano Atlántico (van Soest et al. 2020).

***Pione* Gray, 1867**

Especie tipo: *Cliona northumbrica* Hancock, 1849.

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

Diagnosis. Esponja excavadora en forma alfa. Las megascleras son i) tilostilos y las microscleras son ii) microxas microspinadas, raramente lisas y iii) microráfides microespinados. Los microráfides son normalmente rectos u ondulados pero también pueden ser centrotíloles. Las microxas no tienen una localización u orientación particular en el cuerpo de la esponja (Rützler, 2002).

Pione cf. carpenteri (Hancock, 1867)**Descripción breve.**

Esponja perforadora en forma alfa. Las papilas son circulares y tiene una coloración que

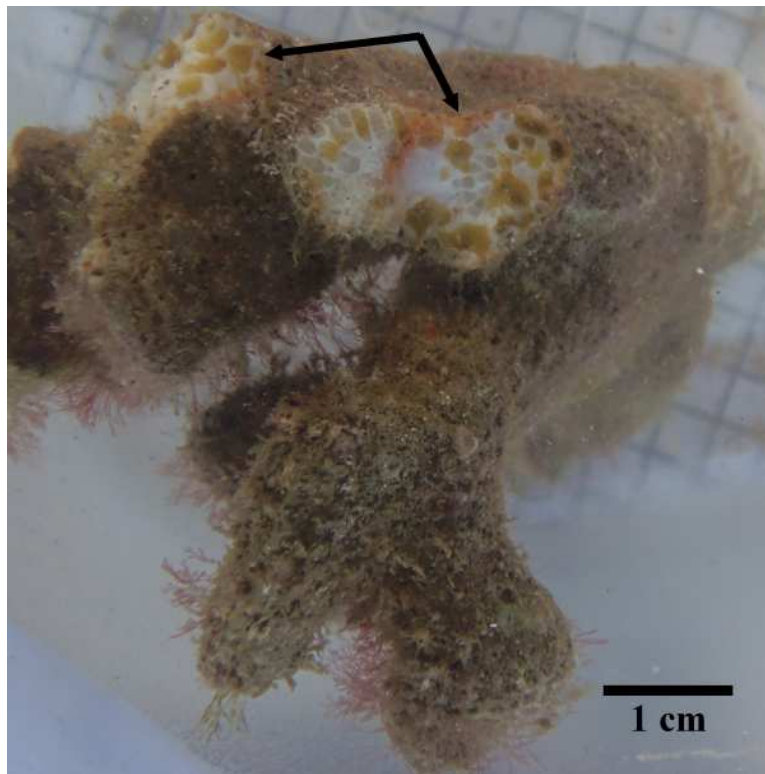


Figura 4.29: Esponja *Pione* cf. *carpenteri* (flecha) perforando el interior de un coral pociloporido.

en vivo es amarilla (figura 4.29). El esqueleto consiste en dos tipos de megascleras, i) tilostilos rectos y escasos, con longitud de 204 μm a 240 μm ; grosor de 3.8 μm promedio; diámetro de tilo de 9 μm a 12 μm (figura 4.30 A); ii) Oxas curvadas por el centro, microespinadas, con longitud de 63 μm a 115 μm ; grosor de 3 μm a 6 μm (4.30 B). Las microscleras son microrhabdes rectos y microespinados, con longitudes de 9 μm a 12 μm (4.30 C). Las huellas de erosión son áreas poligonales lisas.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical y Atlántico Tropical (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México, Costa Rica y Panamá.

Pione lampa (de Laubenfels 1950)

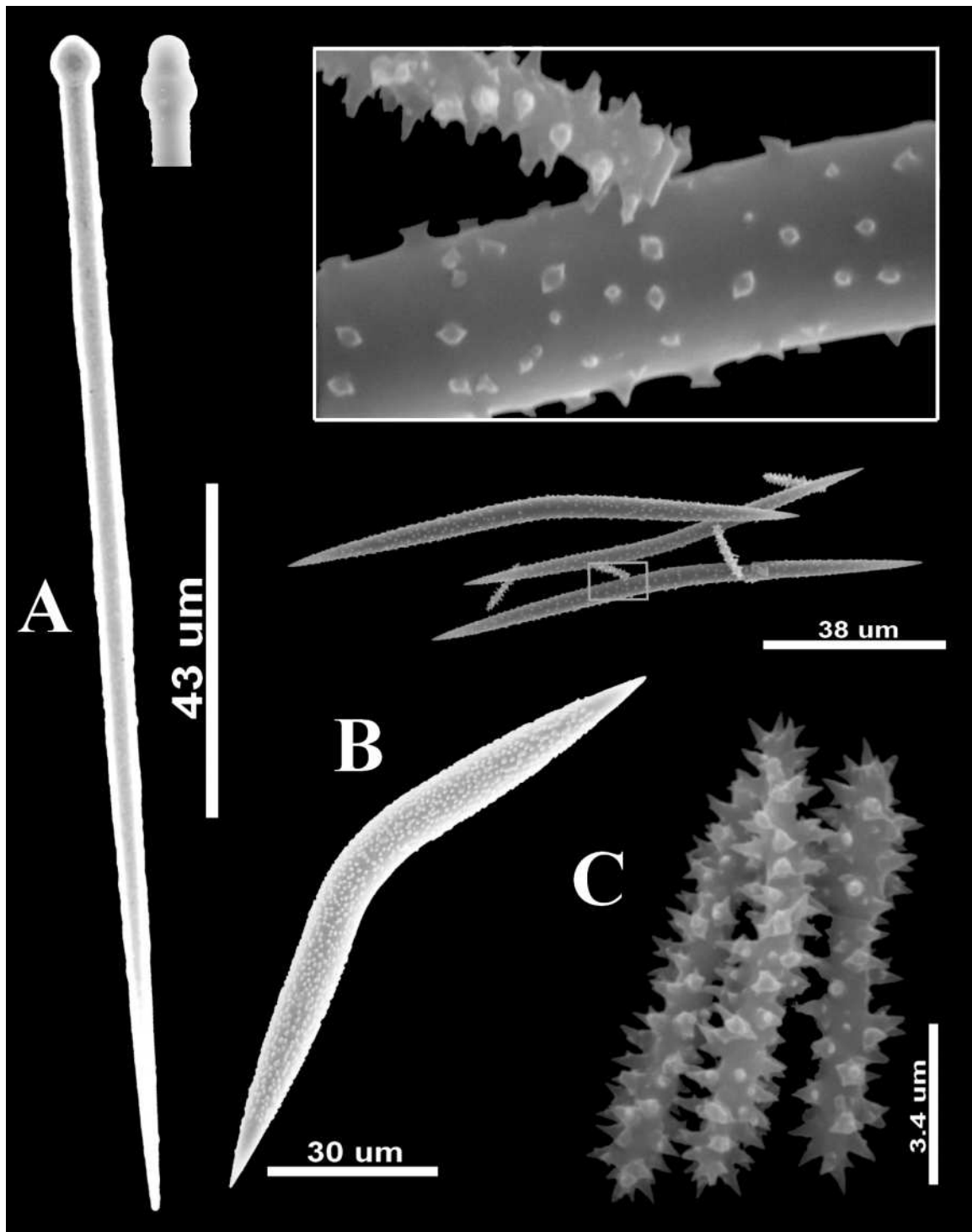


Figura 4.30: Espículas de *Pione cf. carpenteri*.
A. Tilostilos; B. Oxas microespinadas; C. Microrhabdes rectos.

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas usualmente circulares y pequeñas. La coloración de la esponja en vivo es roja. Las megascleras son de dos tipos, i) tilostilos rectos con longitud de 180 μm a 261 μm y grosor de 4 μm a 8 μm (figura 4.31 A, B). ii) Oxas microspinadas delgadas con longitud de 90 μm a 110 μm (figura 4.31 D). Las microscleras son iii) microrhabdes (descritos originalmente como estreptaster) rectos con longitud de 12 μm a 16 μm (figura 4.31 C). Los tres tipos de espículas están presentes en el ecto- y coanosoma. En el primero las puntas de los tilostilos sobresalen de la superficie.

Distribución: Mar Caribe y océano Atlántico (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar Caribe, Costa Rica.

Observaciones: Los especímenes recolectados en el Caribe de Costa Rica poseen microrhabdes que son ligeramente curvos, como se muestra en la imagen de fotografía electrónica (figura 4.31 C). Esta ligera curvatura no se asemeja a los microrhabdes presentes en *Pione vastifica* que es la diferencia señalada por Laubenfels & Hindle (1950).

Pione mazatlanensis (Hancock, 1867)

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa, con papilas circulares pequeñas. La colocación en vivo es roja. El esqueleto está formado por dos tipos de megascleras, i) tilostilos ligeramente curvados con longitud de 152 μm a 215 μm ; grosor de 2.5 μm a 5 μm ; diámetro de tilo de 5 μm a 7.5 μm (figura 4.32 A); ii) oxas microspinadas con curvatura central, en ocasiones algunas son centrotilotes, tienen longitud de 60 μm a 105 μm (figura 4.32 B). Como microscleras *P. mazatlanensis* presenta iii) microrhabdes curvos con longitud de 10 μm a 15 μm ; grosor de 1 μm a 2.5 μm (figura 4.32 D) y en rara ocasión rectos (figura 4.32 E). La huella de excavación presenta un patrón poligonal liso.

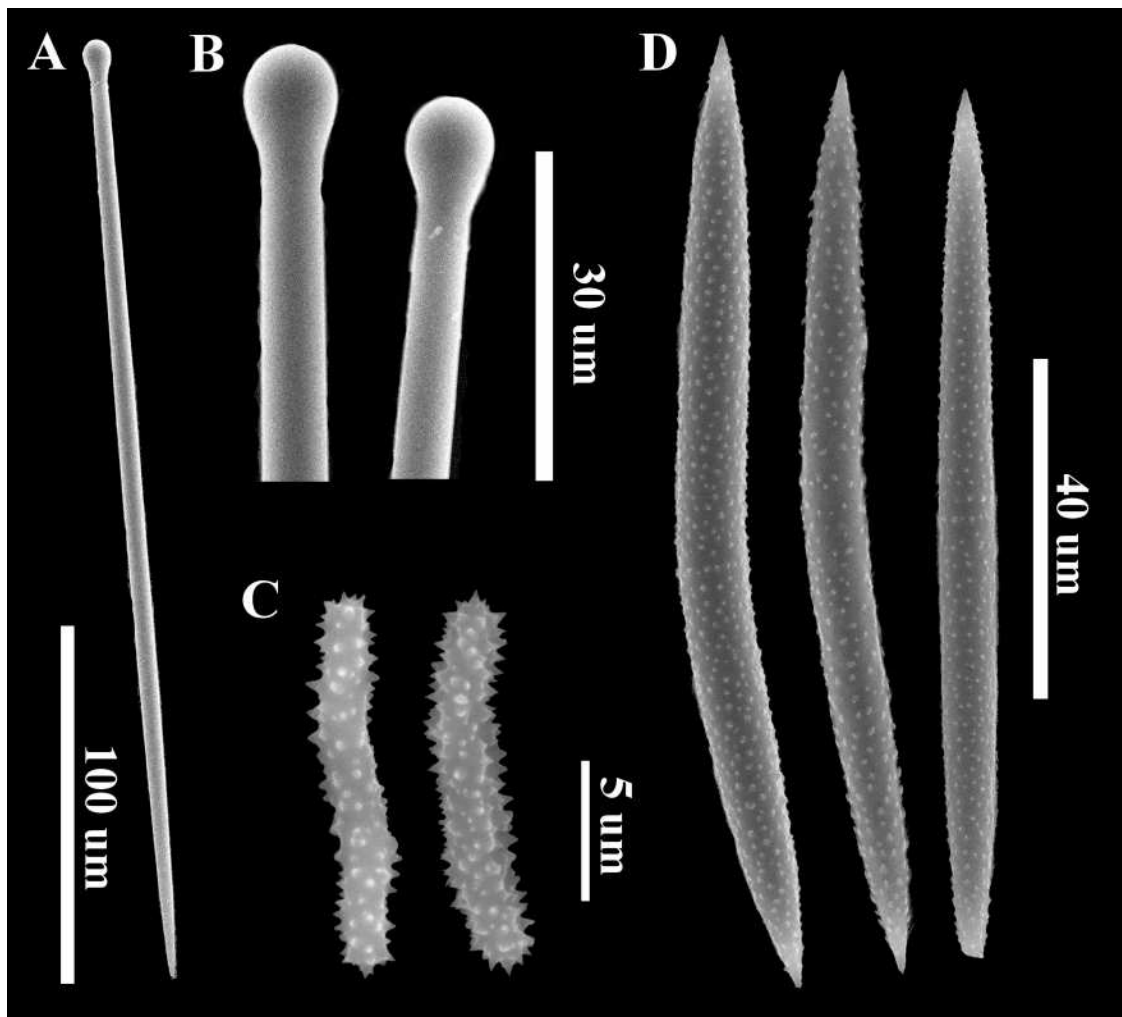


Figura 4.31: Espículas de *Pione lampa*.
A. Tilostilos; B. Tilos; C. Microrhabdes curvos; D. Oxas.

Distribución: Pacífico este tropical (Pacheco et al. 2018).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México y Costa Rica.

***Pione robusta* (Old, 1941)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. La coloración es amarilla a naranja. Las megascleras que presenta son i) tilostilos delgados, rectos, su longitud es de 160 μm a 200 μm y el grosor es de 2 μm a 4 μm . Además presenta ii) oxas (la descripción original las menciona como amfioxas) robustas y puntiagudas, microespinadas y en algunos casos lisas, frecuentemente con bandas asimétricas en la mitad (centrotilotes), con longitud de 40 μm a 130 μm y grosor de 4 μm a 12 μm . Las microscleras son iii) microrhabdes (la descripción original los menciona como espirásteres), estos son pequeños, microespinados, pueden ser rectos o curvos y con longitud de 8 μm a 16 μm y grosor de 1 μm a 2 μm . Los datos son tomados de la descripción original de Old (1941), sin embargo, es poco informativa y no hay otra referencia a esta especie (van Soest et al. 2020).

Distribución: Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

***Pione spirilla* (Old, 1941)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. La coloración es amarilla clara. Las megascleras son i) tilostilos delgados, rectos u ocasionalmente curvos. Usualmente con tilo redondeado y simétrico. La longitud es de 160 μm a 230 μm y el grosor de 2 μm a 4 μm . Además posee ii) oxas delgadas y microespinadas, en algunas ocasiones son lisas, con banda en el medio. Estas tienen longitud

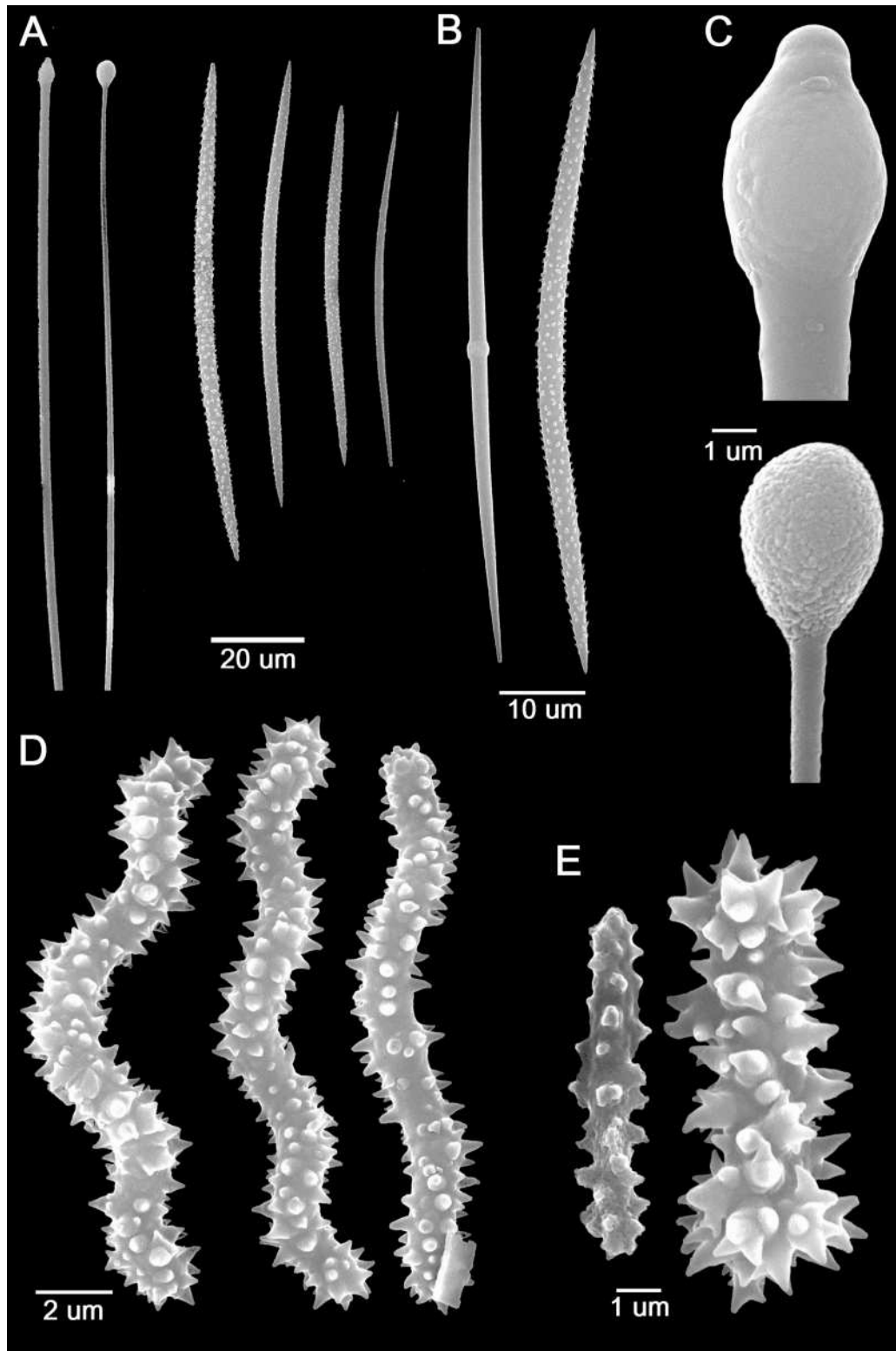


Figura 4.32: Espículas de *Pione mazatlanensis*.

A. Tilostilos y oxas; B. Variaciones de oxas, lisa centrotilote y microespinada; C. Tilos, el de abajo probablemente inmaduro; D. Microrhabdes espiralados; E. Microrhabdes rectos y más pequeños, el primero desgastado.

de 80 μm a 170 μm y grosor de 3 μm a 9 μm . Las microscleras son de iii) espirásteres sinuosos, usualmente con tres o cinco curvas, microespinados y liso, con longitud de 9 μm a 20 μm y grosor de 1 μm a 2 μm . Los datos son tomados de la descripción original de Old (1941) sin embargo, es muy limitada y no hay otra referencia a esta especie (van Soest et al. 2020).

Distribución: Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

Pione truitti (Old, 1941)

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. La coloración es amarilla – naranja. i) Tilostilos como megascleras, estos son curvos y poseen un tilo frecuentemente asimétrico. La longitud es de 190 μm a 225 μm y el grosor de 2.5 μm a 3.5 μm . Las microscleras son de dos tipos, ii) espirásteres microespinados, curvos con longitud de 7 μm a 12 μm y grosor de 0.5 μm a 2 μm ; y iii) oxas (la descripción original las menciona como amfioxas). Estas son delgadas, lisas o microespinadas, levemente curvas. Ocasionalmente con una o más bandas transversales en el medio. La longitud es de 110 μm a 130 μm y el grosor de 4 μm a 5 μm . Datos tomados de Old (1941).

Distribución: Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

Pione vastifica (Hancock, 1849)

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas pequeñas y circulares. La coloración en vivo es amarillo – anaranjado. Megascleras de dos tipos, i) tilostilos rectos con cabeza redondeada, tienen una longitud de 151 μm a 235 μm y un grosor de 5 μm a 6 μm ; ii) oxas curvadas en el centro y microespinadas con longitud de 117 μm a 127 μm y grosor de 6 μm a 7.8 μm . Las microscleras que

presenta son iii) microrhabdes espinados (en la descripción original aparecen como microstrongilos lisos), rectos o ligeramente curvos con longitudes de 9.4 μm a 18.8 μm y grosor de 3 μm (el grosor fue muy constante en los especímenes analizados). Según observaciones de la descripción original, los tilostilos y microrhabdes son abundantes en las papilas mientras que las oxas lo son en el coanosoma, además *P. vastifica* posee diafragmas en los canales entre cámaras que son formados por tilostilos (Hancock, 1849, 1867; Rosell & Uriz, 2002).

Distribución: Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar de Liguria (Portofino, Italia) y mar Adriático (Portonovo, Italia).

Observaciones: La descripción original describe longitudes de tilostilos de mayor tamaño, con un promedio de 290 μm y un promedio de longitud para microrhabdes de 12 μm que sí concuerda más con los encontrados en los especímenes analizados.

Pione velans (Hentschel, 1909)

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas ovales pequeñas. La coloración de la esponja es roja. Las megascleras son i) tilostilos y ii) oxas. Los tilostilos son rectos o ligeramente curvos, cilíndricos y no muy puntiagudos (Weise, 1908), con tilo reducido y solo raramente este está bien formado (Fromont et al. 2005). La longitud está en un rango de 168 μm a 230 μm y un grosor muy constante de 4 μm . Las oxas son microespinadas, levemente curvas, con longitud de 100 μm a 140 μm y grosor de 4 μm a 5 μm . Las microscleras son iii) microrhabdes ondulados o rectos, redondeados o cortados abruptamente en los extremos con pequeñas espinaciones. Las dimensiones son 11 μm a 20 μm de longitud y 1 μm de grosor (Weise, 1908). Los tilostilos forman la empalizada típica en la superficie mientras que los microrhabdes son abundantes en las capas superficiales

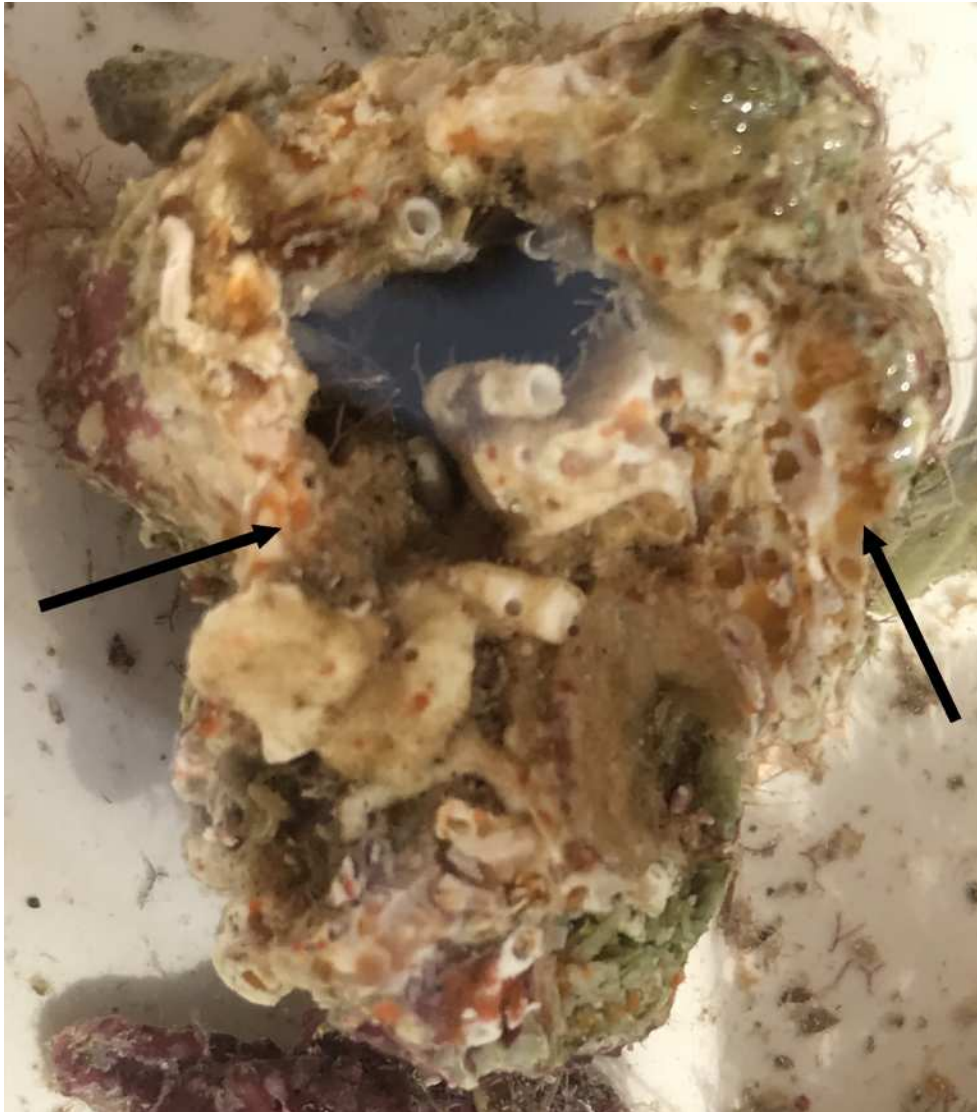


Figura 4.33: Esponja *Pione vastifica* (flechas) perforando tubos de poliquetos.

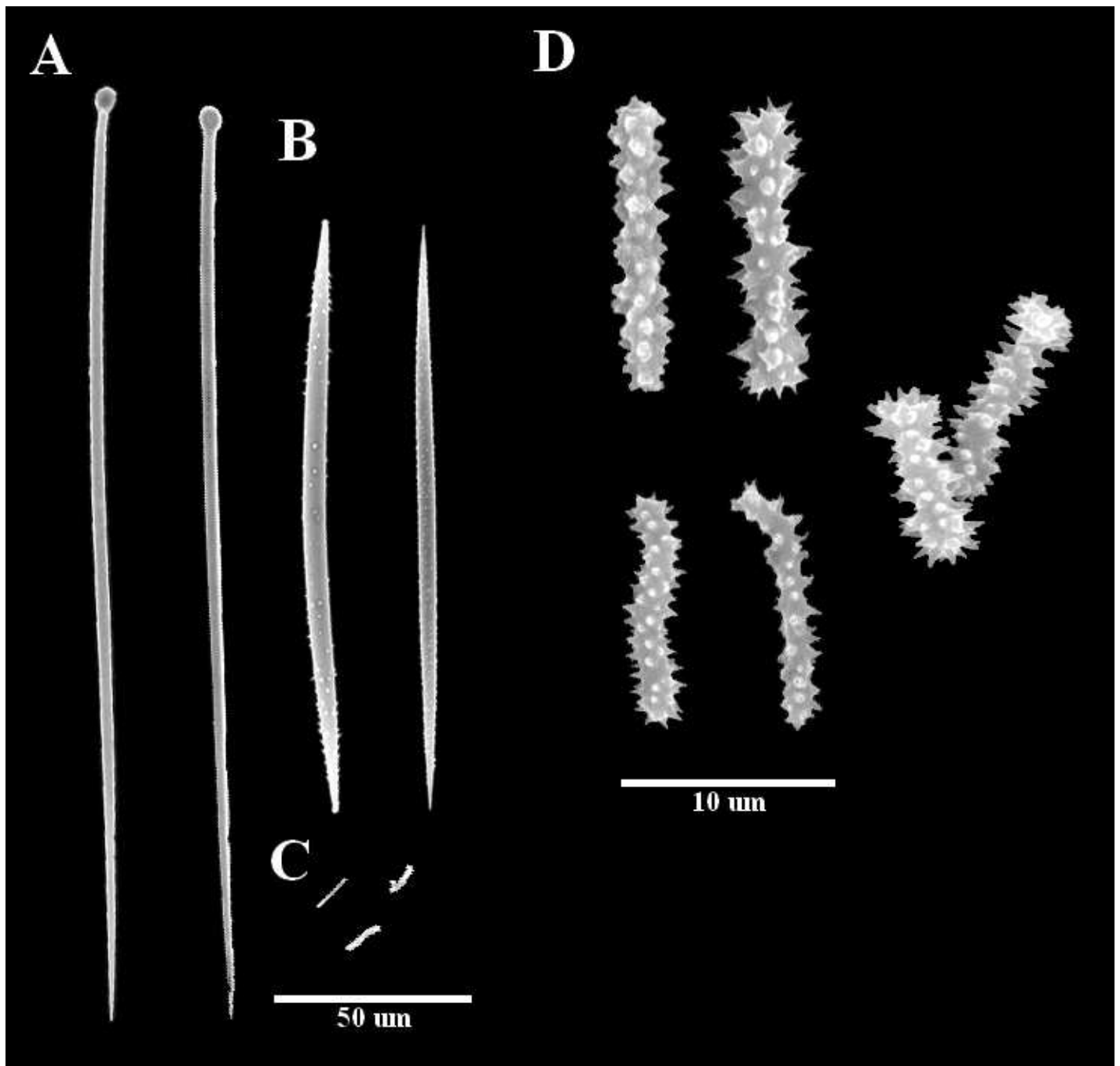


Figura 4.34: Espículas de *Pione vastifica*.
A. Tilostilos; B. Oxas; C. Microrhabdes; D. Ampliación de microrhabdes.

de la empalizada. En el coanosoma están presentes tanto las microscleras como las megascleras. Tomado de (Fromont et al. 2005).

Distribución: Indo-Pacífico central, específicamente en costas de Australia (van Soest et al. 2020).

***Dotona* Cartet, 1880.**

Especie tipo: *Dotona pulchella* Carter, 1880.

Sinonimia: *Dyscliona kirkpatrick*, 1900.

Diagnosis. Esponjas excavadoras con microstrongilos, cilíndricos y curvos, segmentados a lo largo del eje; otras espículas que pueden estar presentes son amfiásteres, ráfides y strongilos.

***Dotona davidis* (Kirkpatrick, 1900)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Coloración naranja-amarillo. Las megascleras son i) strongilos curvos en el centro, lisos, y a veces microespinados en los extremos. La longitud es de 126 μm a 246 μm y el grosor de 3 μm a 5.5 μm . Las microscleras son ii) microstrongilos ligeramente curvos, con extremos truncados y espinación en espiral a lo largo del tallo. La longitud promedio es de 90 μm y el grosor de 3 μm . Los datos son tomados de (Kirkpatrick, 1900).

Distribución: Pacífico Oeste (van Soest et al. 2020).

***Dotona pulchella* Carter 1880**

Diagnosis

Esponja excavadora. Coloración blanca. Presenta tres tipos de espículas, i) una espícula cilíndrica con tallo curvo, redondeado en los extremos, microespinado, interrumpido por líneas anulares distribuidas homogéneamente a lo largo del tallo (estrongilos) Su longitud promedio es de 80 μm . ii) una espícula delgada, simple y lisa (similar a ráfide) con longitud promedio de 48 μm . Por último, iii) una espícula recta, con tallo espinado en los dos extremos y un anillo rodeando el centro (amfiáster), con longitud promedio de 6 μm . Tomado de Carter (1880) y Thomas (1972).

Distribución: Indo-Pacífico oeste; registros dudosos en el Atlántico norte y en el Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

***Spiroxya* Topsent, 1896**

Especie tipo: *Spiroxya heteroclita* Topsent, 1896

Sinonimia: *Donotella* Laubenfels, 1936. *Scantiletta* Laubenfels, 1936, *Scatilla* Johnson, 1899.

Diagnosis. Esponjas de la familia Clionaidae en forma alfa. Dos tipos de megascleras, oxas con modificaciones a estilos o estrongilos, y oxas, subtilostilos o estilos. Las microscleras son microspínadas, rhabdes espiralados o cortos, microstrongilos rectos o ambos. Microscleras lisas también pueden estar presentes (Topsent, 1901).

Spiroxya acus (Bavestrello, Calcinai & Sarà, 1995)

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa. Las megascleras son i) oxas gruesas, más o menos curvas,

con un ligero adelgazamiento en la parte central, extremos son triangulares y en algunos casos completamente redondeados. Estas espículas están presentes en dos clases distintas de acuerdo a su talla, unas con longitud promedio de 557 μm y grosor promedio de 34 μm , otras con longitud de 487 μm y grosor promedio de 11 μm . Otras megascleras son los ii) subtilostilos delgados y curvos, con el tilo no bien definido, y promedios de longitud de 223 μm y grosor de 2.9 μm . Las microscleras son iii) espirásteres lisos, con 2 a 5 curvas y bordes redondeados. Tienen un patrón de microespinaciones alternando con las curvas. Tomado de Bavestrello et al. (1995).

Distribución: Indo-Pacífico central (van Soest et al. 2020).

***Spiroxya corallophila* (Calcinai, Cerrano & Bevestrello, 2002)**

Descripción breve.

Esponja excavadora en forma alfa con papilas circulares pequeñas. La coloración es amarilla. Como megascleras posee i) oxas rectas o ligeramente curvas con puntas aserradas, mucronadas o bífidas. La longitud promedio es de 419 μm y el grosor de 24 μm . Algunos ii) estilos y iii) estrongilos están presentes. También posee iv) oxas rectas pequeñas con longitud de 184 μm y grosor de 4.4 μm . Las microscleras son v) espirásteres vermiformes microespinados, a veces rectos o curvos. Las oxas pequeñas se distribuyen en empalizada en las papilas y las galerías excavadas. El coanosoma está compuesto por tractos de las oxas de mayor tamaño con microscleras dispersas. Los datos son tomados de Calcinai et al. (2002)

Distribución: Mar Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

***Spiroxya heteroclita* Topsent, 1896**

Diagnosis.

Esponja excavadora en forma alfa. Las papilas no se observaron a pesar de estar perforando en el coral rojo *Corallium rubrum*, donde se podría pensar que la papila sería fácil de encontrar. La coloración de la esponja en vida es blanca. Posee megascleras i) oxas curvadas de dos tipos, el primero con longitud de 72 μm a 110 μm y grosor de 0.5 μm a 2 μm . La segunda categoría con longitud de 145 μm a 222 μm y grosor de 2.5 μm a 5 μm . Las microscleras son ii) espirásteres lisos con longitud de 20 μm a 77 μm y grosor de 1.3 μm a 2.5 μm . Además posee iii) microstrongilos (tipo *Dotona*) con longitud de 67 μm a 81 μm y grosor de 3.5 a 5 μm .

Distribución: Mar Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Mar de Liguria (Portofino, Italia).

Observaciones: Las descripciones de esta especie reportan un rango más amplio en la segunda categoría de oxas, con longitud de 200 μm a 900 μm y grosor de 15 μm a 20 μm . Dependiendo de la fuente en la que se busque (Topsent, 1896; Rützler, 2002b), incluso algunos describen las oxas como una sola categoría (Corriero et al. 1997).

***Spiroxya levispira* (Topsent, 1898)**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas inconspicuas. Coloración pálida, beige o blanca. Las megascleras son dos tipos i) oxas fusiformes con longitud y grosor promedio de 280 μm y 11 μm respectivamente. Algunas oxas tienen un extremo redondeado y el otro con terminación en punta. Las oxas pueden ser rectas o curvas y en algunas ocasiones con punta escalonada. Las microscleras son ii) espirásteres sinuosos microespinados en franjas, estos poseen longitud de 15 – 138 μm y grosor de 5 – 6 μm ; iii) microrhabdes rectos con forma de amfiáster, con espinaciones irregulares a lo largo del tallo. Su longitud es de 9 μm a 15 μm y su grosor de 1 μm a 2 μm . Los datos son tomados de van Soest & Beglinger (2009).

Distribución: Mar Mediterráneo y Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

***Spiroxya pruvoti* Topsent, 1900**

Diagnosis

Esponja perforadora en forma alfa. Las megascleras son i) oxas lisas y curvas de dos tallas. Unas con longitud de 85 μm a 170 μm y grosor de 2 μm a 3 μm y otras con longitud de 150 μm a 100 μm y grosor de 6 μm a 9 μm . Las microscleras son ii) espirásteres con longitud de 5 μm a 15 μm y 1 μm de grosor. Los datos son tomados de Topsent (1900).

Distribución: Mar Balear (Mediterráneo) y Atlántico norte (van Soest et al. 2020).

***Spiroxya sarai* (Melone, 1965)**

Diagnosis

Esponja excavadora con forma alfa, las papilas no son evidentes (Corriero et al. 1997). Las megascleras son i) oxas con longitud de 90 μm a 510 μm y grosor de 5 μm a 15 μm . Las microscleras son ii) espirásteres sinuosos lisos con longitud de 25 μm a 70 μm y grosor de 2 μm a 3.5 μm . Otras formas de megascleras (oxas largas, tilostilos, estrangilos y estilos), mencionadas en la descripción original (Melone, 1965) han sido consideradas posteriormente como espículas foráneas (Corriero et al. 1997).

Distribución: Mar Jónico y Mar de Liguria, Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

***Sphaciospongiae* Marshall, 1892**

Especie tipo: *Alcyonium vesparium* Lamarck, 1815.

Sinonimia: *Sphaciospongia* Marshall, 1892. *Heterocliona* Verril, 1907.

Diagnosis. Esponja excavadora de crecimiento masivo, con placa cribosa y simple, ósculos múltiples o individuales. Con tilostilos robustos en el ectosoma que forman una red densa junto con espirásteres y amfiásteres. Los tilostilos pueden modificarse en estilos, tilostrongilos y strongilos (Rützler, 2002).

***Sphaciospongia vesparium* (Lamarck), 1815**

Diagnosis

Esponja excavadora que sobresale del sustrato como un pastel, posee una cavidad oscular amplia y un placa cribosa con poros pequeños a los lados. La coloración en vivo es negra con tintes púrpuras. Las megascleras son i) tilostilos curvos con cabezas redondeadas y longitud de 250 μm a 470 μm y grosor de 6 μm a 9 μm . Las microscleras son ii) espirásteres que poseen entre 1 a 5 curvaturas y una longitud de 8 μm a 26 μm y un grosor de 4 μm . Las formas pequeñas se asemejan a amfiásteres. Tomado de Rützler (2002).

Distribución: Océano Atlántico y mar Caribe (van Soest et al. 2020).

***Sphaciospongia incrustans* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004**

Diagnosis

Esponja excavadora incrustante con poros agrupados formando áreas cribosa. La coloración es ocre [4.36](#). Las megascleras son i) tilostilos robustos y curvos con tilo pequeño y frecuentemente ovoide, la longitud es de 220 μm a 293 μm , grosor de 5 μm a 10 μm y diámetro de tilo de



Figura 4.35: *Spheciospongia incrustans* genera cavidades grandes que rellena con la esponja (flecha).

7 μm a 12 μm . Las microscleras son ii) espirásteres espinados y con longitud de 11 μm a 14 μm . Ocasionalmente también presenta iii) amfiásteres robustos, con actinas lisas y puntas bífidas. Los tilostilos están presentes en el ectosoma y coanosoma, en el primero sobresalen de la superficie. Las microscleras son más escasas y se encuentran en el coanosoma y ocasionalmente en el ectosoma. En algunos casos son tan escasas que no se lograron observar.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (van Soest et al. 2020).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México, isla Isabel e islas Marías.

Spheciospongia cf. ndabazithe Samaai, Pillay & Janson, 2019

Diagnosis

Esponja en forma de cáliz, con superficie lisa en donde se encuentran los ósculos. Los

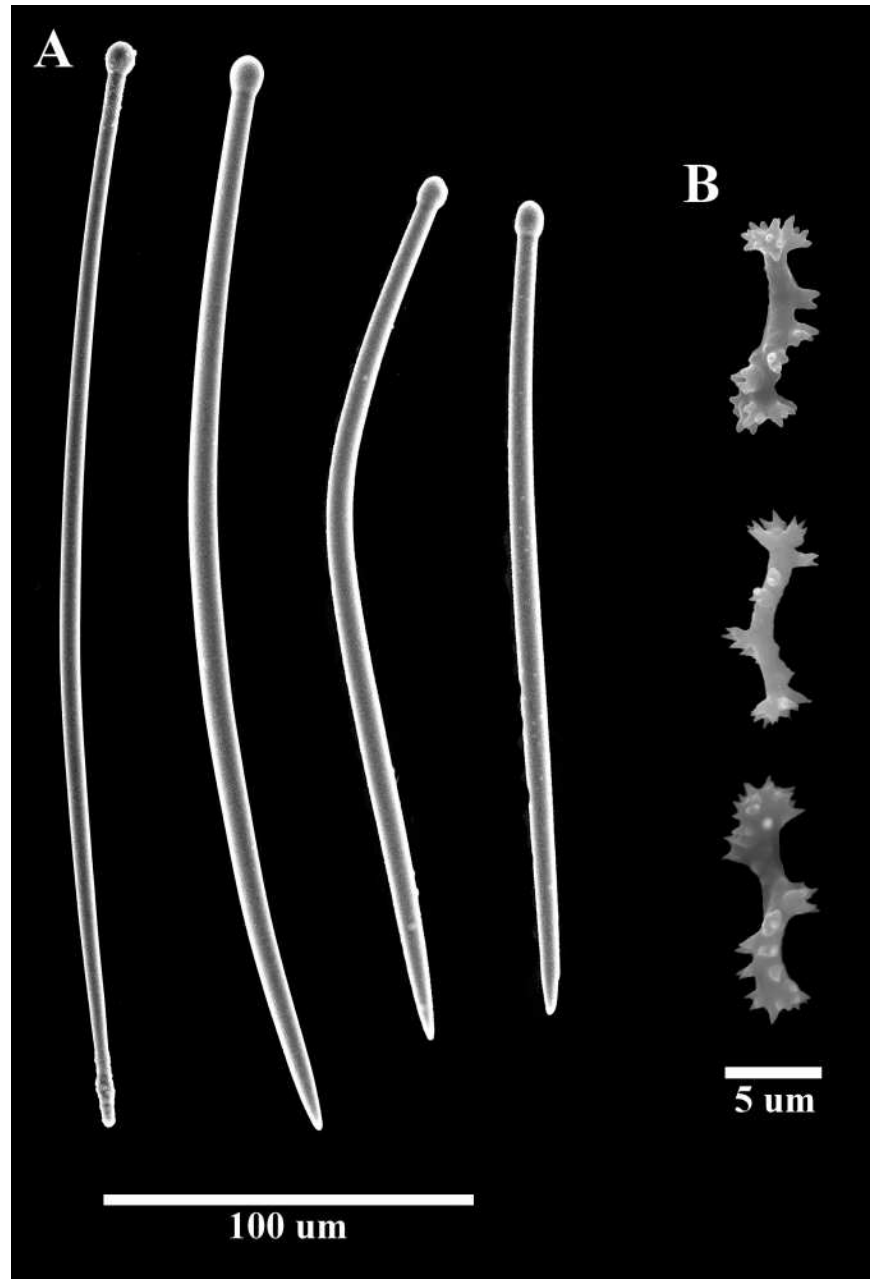


Figura 4.36: Espículas de *Spheciospongia incrustans*.
A. Tilostilos. B. Espirásteres.

poros forman una malla característica del género. La coloración es amarilla con café oscuro en el interior (figura 4.37). Las megascleras son i) tilostilos rectos o ligeramente curvos con longitud de 431 μm a 259 μm (figura 4.38 A). Las microscleras son iii) espirásteres en forma de C, S o incluso tipo amfiáster con longitudes de 12 μm a 25 μm (figura 4.38 B, C). Ambos tipos de espículas están presente en ecto y coanosoma. Los espirásteres son más escasos.

Distribución: Indo-Pacífico, costa este de África del Sur (Samaai et al. 2019).

Proveniencia del material examinado: Costa de Mozambique.

Observaciones: La forma externa del espécimen analizado es similar a la imagen de Samaai et al. (2019) sin embargo, ellos describen la especie con tilostilos de longitud promedio de 428 μm , que sugiere que estas espículas son más grandes que las que encontramos en el espécimen estudiado, además se describen estilos de 388 μm que no se encontraron en el espécimen de Mozambique. Cuando Samaai et al. (2019) se refieren a las microscleras solo se describe la forma C. Es posible que la poca cantidad de espículas analizadas para describir la especie (n=10) no haya permitido describir la variabilidad total de microscleras.

***Sphaciospongia ruetzleri* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004**

Diagnosis

Esponja excavadora masiva (incrustante) con poros inhalantes en forma de malla. Coloración púrpura en el ectosoma y ocre en el coanosoma. Esqueleto formado por megascleras i) tilostilos, gruesos y en ocasiones curvos con longitud de 283 μm , grosor de 12.9 μm y diámetro de tilo de 18.8 μm . Las microscleras son ii) espirásteres cortos y gruesos con longitud de 13 μm , la mayoría tienen curvaturas pero algunos pocos son rectos. Las megascleras están presentes en ectosoma y coanosoma. Las microscleras son escasas. Los datos son tomados de Carballo et al. (2004).



Figura 4.37: Forma de cáliz de *Spheciospongia ndabazithe*.
Se aprecia la placa cribosa formada de múltiples poros en el interior del cáliz. Foto cortesía de C. Cerrano.

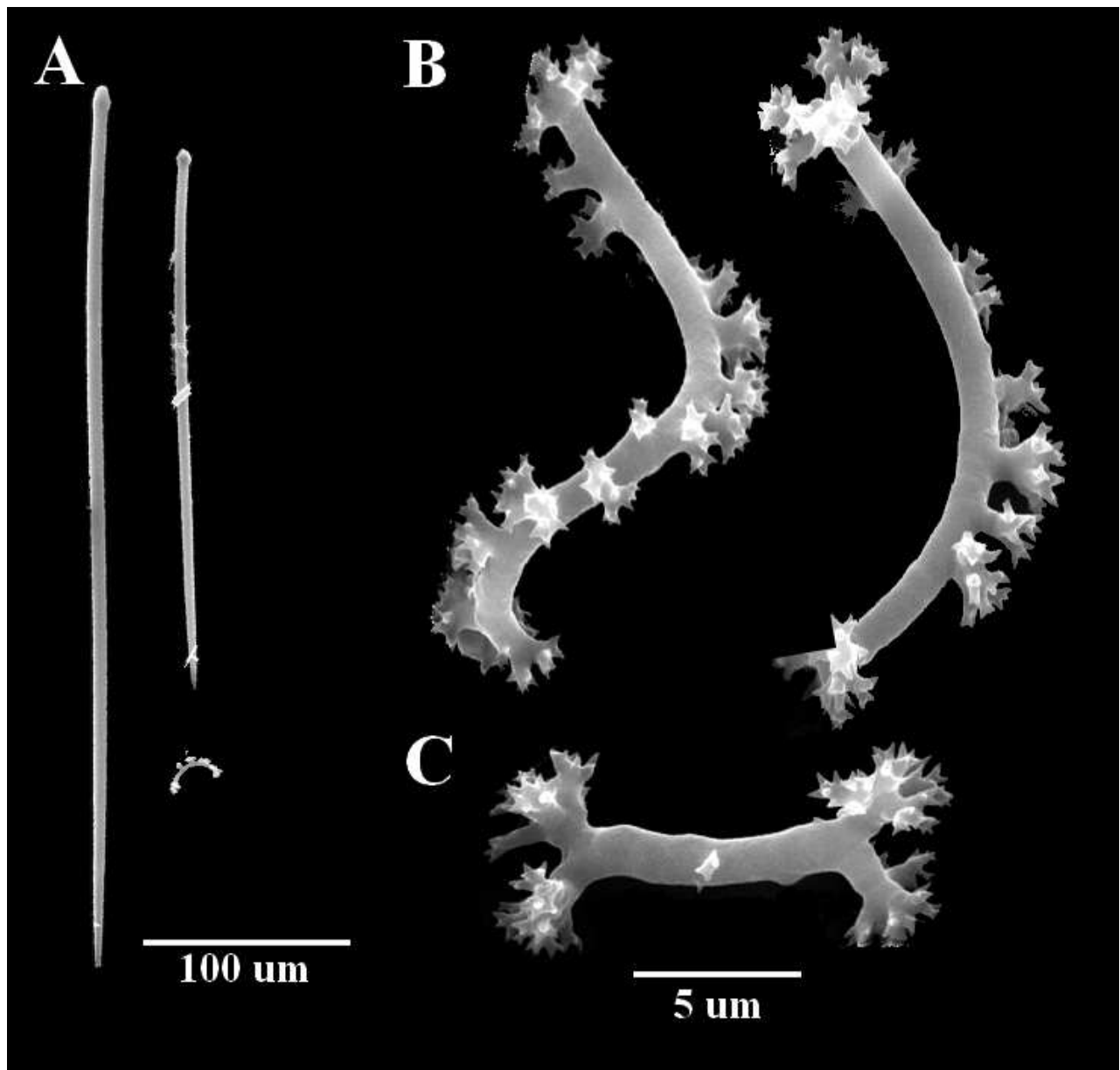


Figura 4.38: Espículas de *Spheciospongia ndabazithe*.
A. Tilostilos; B. Espirásteres; C. Amfiáster.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (van Soest et al. 2020).

Observaciones: Se observó una esponja proveniente de Indonesia que posee elementos espiculares muy similares a *Sphaciospongia ruetzleri*. Sin embargo, la longitud de los tilostilos es de 340 μm a 436 μm , más grandes que el promedio descrito para *Sphaciospongia ruetzleri*. Las microscleras si están dentro del promedio. La figura 4.39 ilustra los elementos espiculares de este espécimen que se reporta como *Sphaciospongia* aff. *ruetzleri*.

Orden: Haplosclerida Topsent, 1928

Familia: Phloeodictyidae Carter, 1882

Siphonodictyon Bergquist, 1965

Especie tipo: *Siphonodictyon mucosum* Bergquist, 1965.

Sinonimia: *Acca* Johnson, 1899. *Aka* Laubenfels, 1936.

Diagnosis. Esponja excavadora, con papila externa en forma alfa o de fístula. Los elementos esqueléticos son únicamente oxas lisas que tienden a variar de talla según la especie.

Siphonodictyon coralliirubri (Calcinai, Cerrano & Bavestrello, 2007).

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas difíciles de observar. El esqueleto está formado por oxas curvas con dimensiones de 84.6 μm x 2.3 μm . Estas están en agrupaciones en el coanosoma y en las papilas, aunque también están tangenciales en esta última. Los datos son tomados de Calcinai et al. (2007).

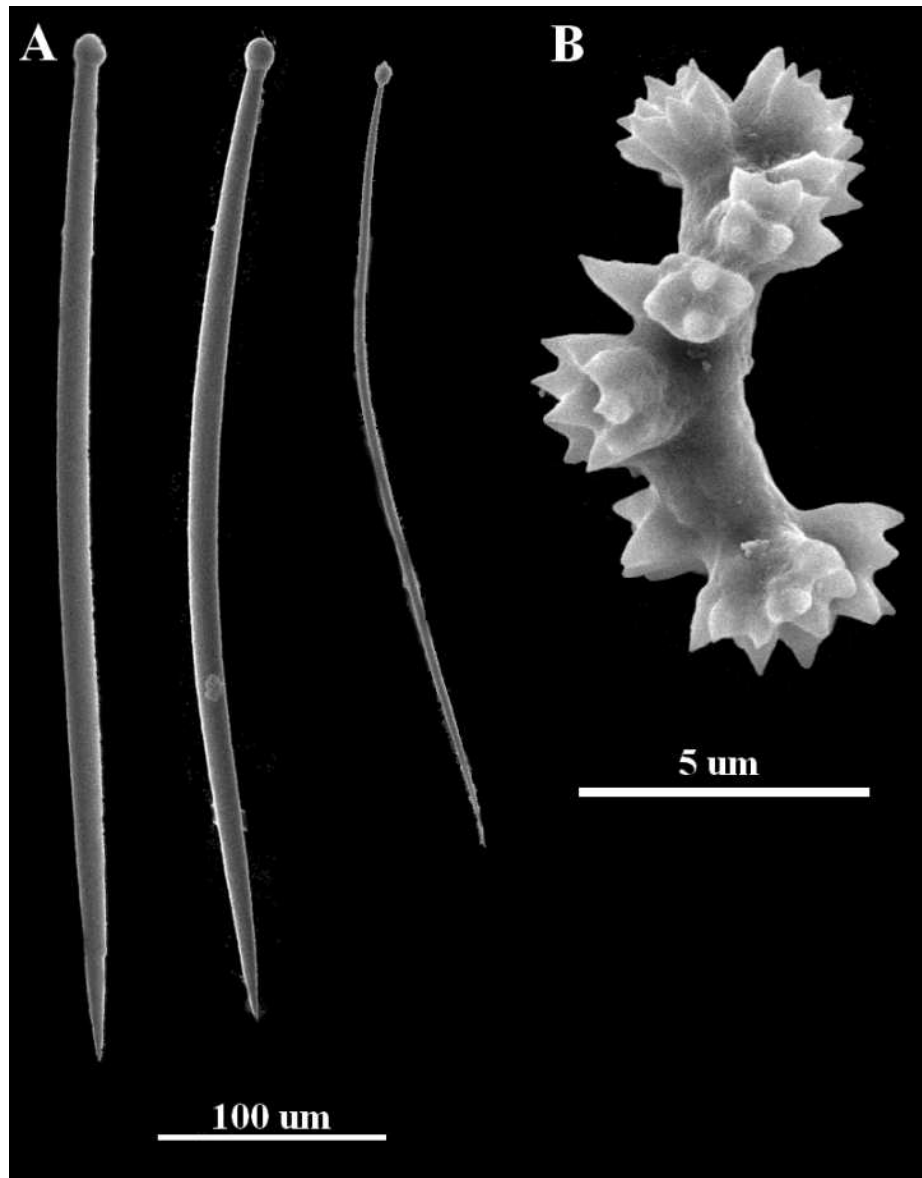


Figura 4.39: Espículas de *Spheciospongia* aff. *ruetzleri*, espécimen de Indonesia.
A. Tilostilos; B. Espirásteres.

Distribución: Mar Mediterráneo (van Soest et al. 2020).

***Siphonodictyon crypticum* (Carballo, Hepburn, Nava, Cruz-Barraza & Bautista-Guerrero, 2007)**

Diagnosis

Esponja excavadora con fístula que sobre sale del sustrato con una longitud de 1.8 cm de largo y 0.9 cm de grosor en el espécimen analizado. La coloración de la fístula es blanca y amarillo pálido en la base. En el interior del coral, el tejido es beige. Posee megascleras que son i) oxas ligeramente curvas por el centro terminando en puntas en ocasiones muy pronunciadas, la longitud es de 73 μm a 188 μm , el grosor es de 3 μm a 11 μm . Las espículas están presentes tanto en el ecto- como en el coanosoma. Las huellas de erosión dejadas en las paredes de las galerías que perfora presentan surcos concéntricos.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Carballo et al. 2007).

Proveniencia del material examinado: El Salvador.

Orden: Astrophorida Sollas, 1888.

Familia: Thoosidae Rosell & Uriz, 1997.

Género: *Thoosa* Hancock, 1849

Especie tipo: *Thoosa cactoides* Hancock, 1849.

Sinonimia: *Thoosa* Hancock, 1849 (no *Thoosa sensu* Topsent, 1888). *Annandalena* Topsent, 1932. *Thoosa* de Laubenfels, 1936.

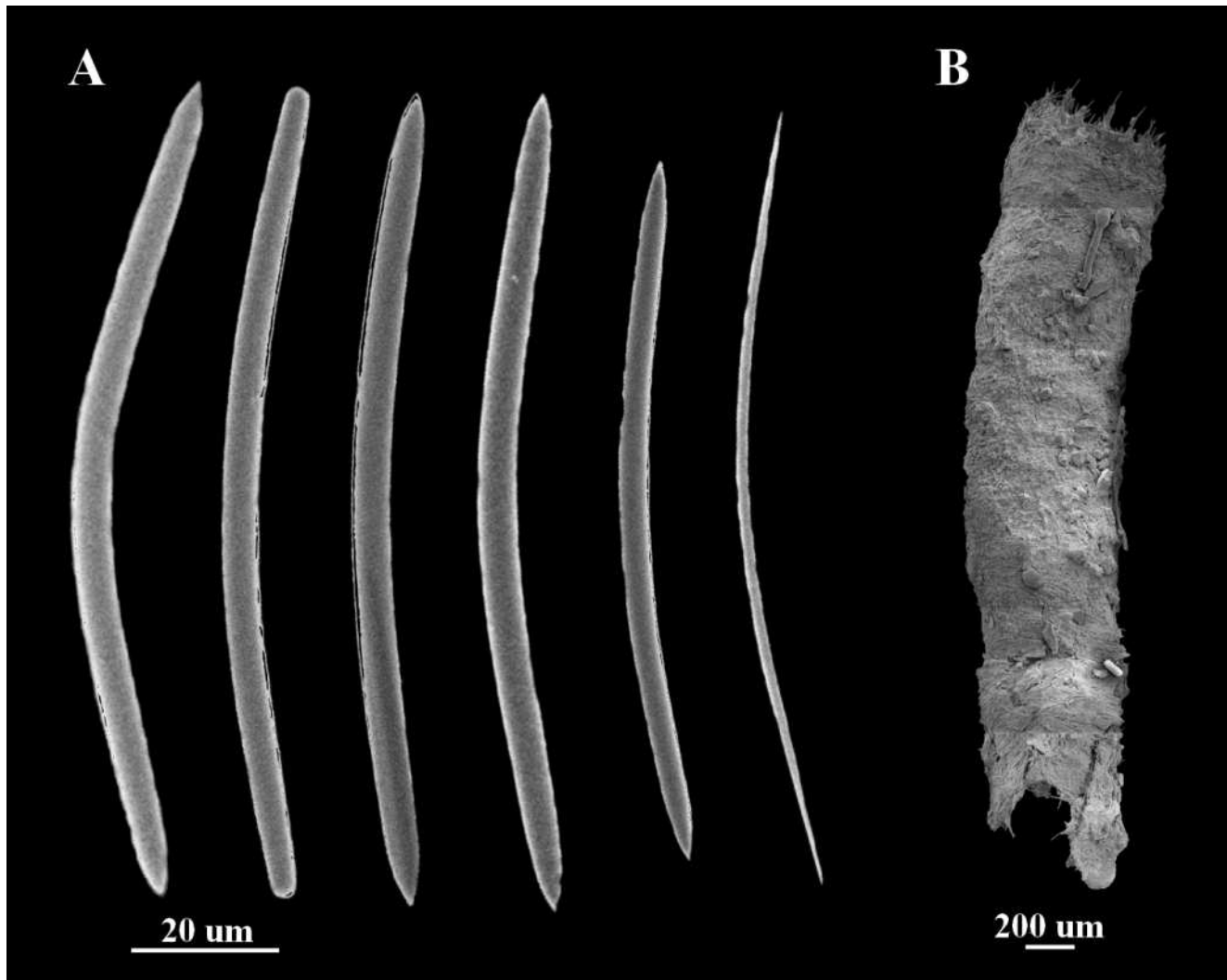


Figura 4.40: Espículas de *Siphonodictyon crypticum*.
A. Espículas oxas; B. Fístula. Imágenes modificadas de Carballo et al. (2007).

Diagnosis. Esponjas siempre con papilas. Tilostilos son escasos o no se encuentran en algunos especímenes, poblaciones o especies. Posee muchos tipos de variaciones de microscleras pero comúnmente tiene amfiásteres y oxiásteres. Los amfiásteres son tilotes con microespinaciones en bulbos terminales pero otras variaciones en especies incluyen proyecciones lisas. La reducción común de rayos, puede llevar a sigmoide centrotilote o formas tilostilos. Como los rayos tienden a ser curvos, las formas biradiadas se asemejan a alas de aves (Rützler, 2002).

***Thoosa calpulli* Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004**

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa, con papilas pequeñas. La coloración es amarillo pálido. El esqueleto está formado por megascleras que son i) oxas centrotilotas o simples, microespinadas o lisas, estas están en dos categorías de tamaños, unas con longitud de 27.5 μm a 101.5 μm y grosor de 1.5 μm a 9 μm ; otras con longitud de 110 μm a 297 μm y grosor de 3.5 μm a 13 μm . Las microscleras son ii) amfiásteres con cinco, seis o siete rayos microespinados a cada extremo del tallo. Las actinas pueden tener forma cónica o terminar en nódulos espinados. Dependiendo de la longitud de las actinas los amfiásteres son asimétricos o simétricos. De punta a punta la longitud del amfiáster es de 7.9 μm a 17.3 μm , el grosor del tallo es de 1 μm a 2.2 μm y la longitud de las actinas es de 1 μm a 5 μm . Otro tipo de microscleras son las iii) oxiásteres lisas bi, tri, o tetraradiadas o simétricas con seis rayos. Los rayos tienen longitud de 17.5 μm a 51 μm y un grosor de 1 μm a 4 μm (figuras [4.41](#) y [4.42](#)).

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2018).

Proveniencia del material examinado: Pacífico de México, El Salvador y Costa Rica.

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

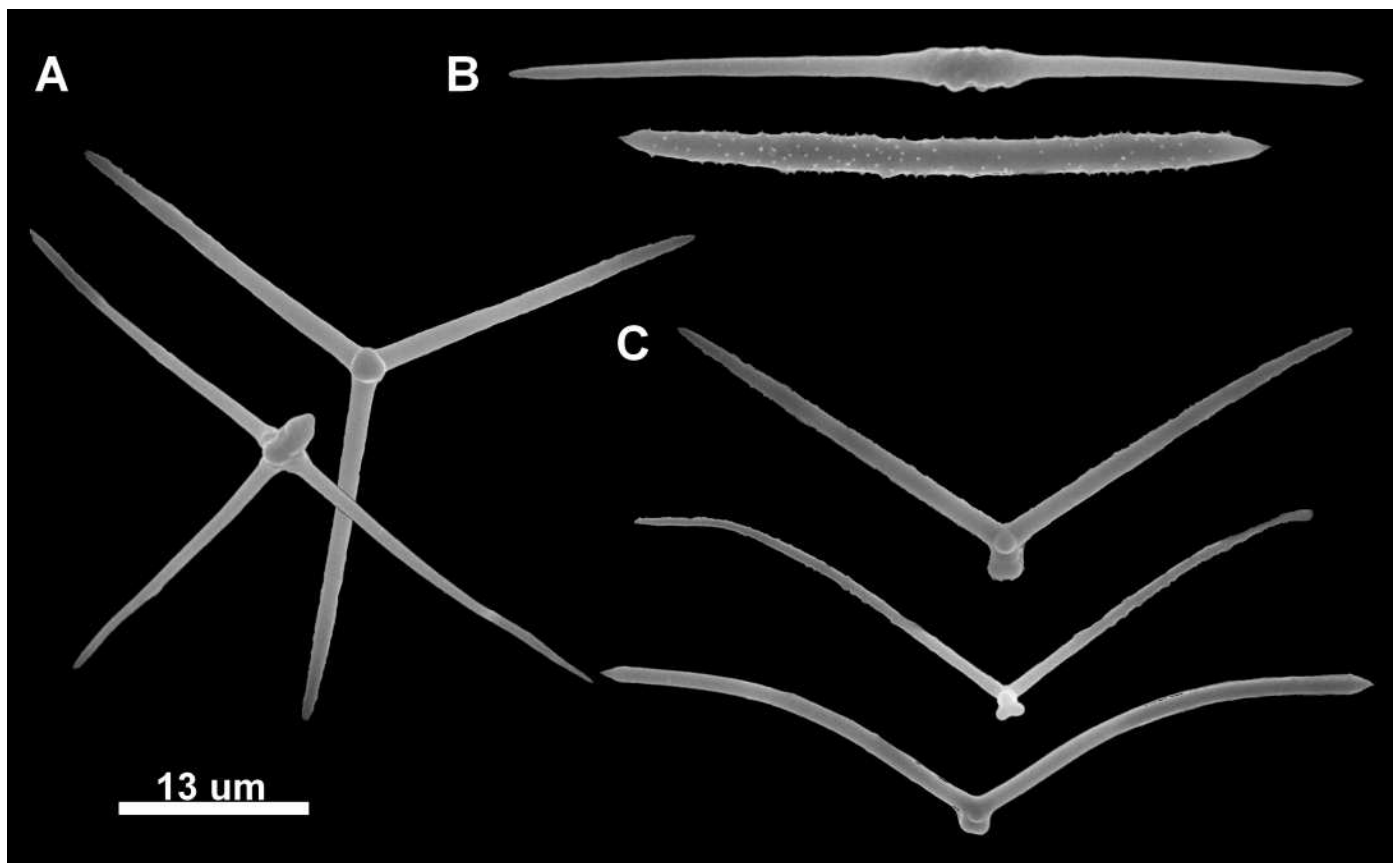


Figura 4.41: Espículas de *Thoosa calpulli*.
A. Oxiásteres trirradiados; B. Oxas; C. Oxiásteres birradiados.

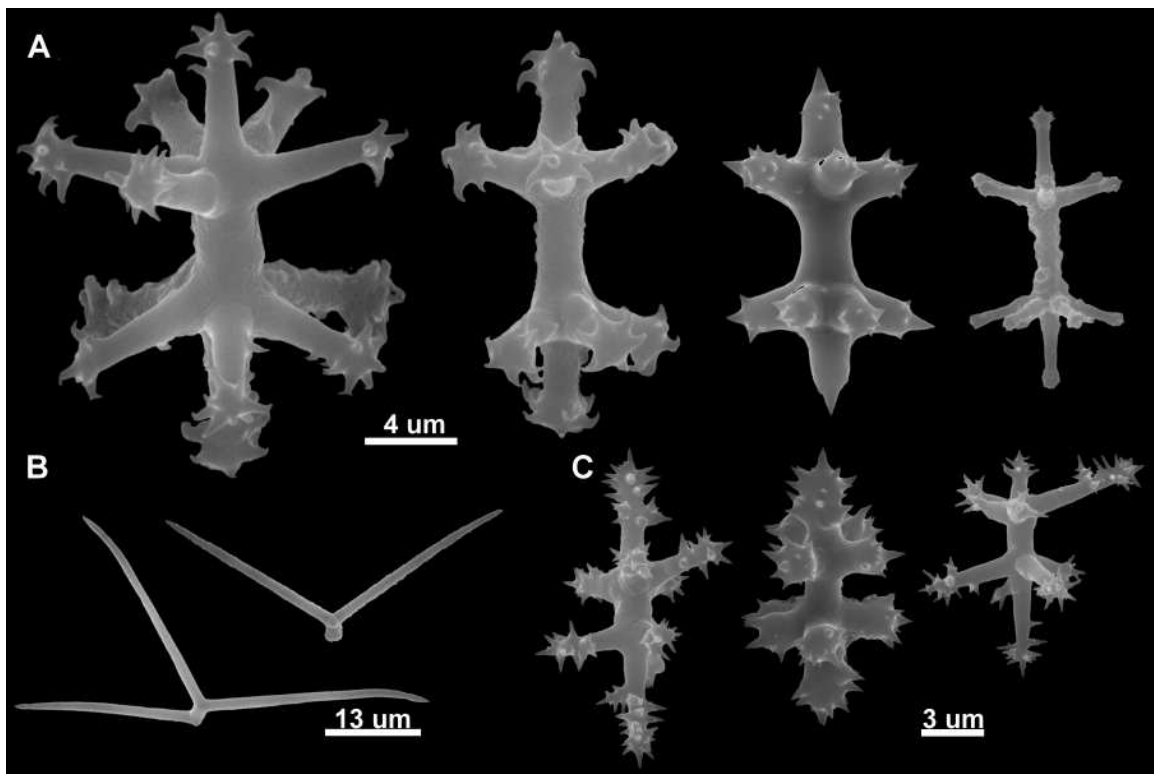


Figura 4.42: Espículas de *Thoosa calpulli*.

A. Amfiásteres simétricos; B. Oxiásteres bi y tetraradiados; C. Amfiásteres asimétricos.

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con papilas pequeñas. De color anaranjado. Las megascleras son i) tilostilos grandes pero muy escasos (no fue posible medir); ii) oxas centrotíloles, lisas o microespinadas con longitud promedio de 57.4 μm . Las microscleras son iii) amfiásteres con 14 nodulos microespinados, siete en cada extremo del tallo. La longitud promedio es de 21.3 μm y su grosor 14.1 μm ; también se dan iv) amfiásteres con 14 actinas lisas en la misma distribución que los primeros. Estos tienen una longitud de 17.1 μm y un grosor de 10.2 μm promedio. Por último, la especie presenta v) oxiásteres que pueden ser birradiados, trirradiados o tetraradiados, algunos con microespinaciones con una longitud promedio de 50.5 μm . Las huellas de erosión son irregulares con surcos pronunciados y estructura radial.

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Pacheco et al. 2018).

Proveniencia del material revisado: Pacífico de México (isla Isabel) y Costa Rica (isla del Caño, Pacífico sur).

Thossa purpurea Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011

Diagnosis

Esponja excavadora en forma alfa con pequeñas papilas. La coloración es púrpura. La esponja posee dos tipos de megascleras, i) tilostilos que son escasos y tienen dimensiones de 186 μm x 3 μm x 4.8 μm . ii) Oxas centrotíloles lisas o microespinadas también están presentes con dimensiones de 186 μm x 3 μm x 4.8 μm . Las microscleras se dividen en dos categorías de amfiásteres. Comúnmente poseen 6 rayos lisos a cada lado del tallo, con extremos espinados y terminación en punta. i) Los amfiásteres tipo I tienen un tallo robusto y relativamente largos rayos con espinas en forma de gancho al final. Las dimensiones son 30 μm x 22 μm . ii) Los amfiásteres tipo II son similares pero los rayos son cortos y con abundante microespinación en los extremos. Las dimensiones

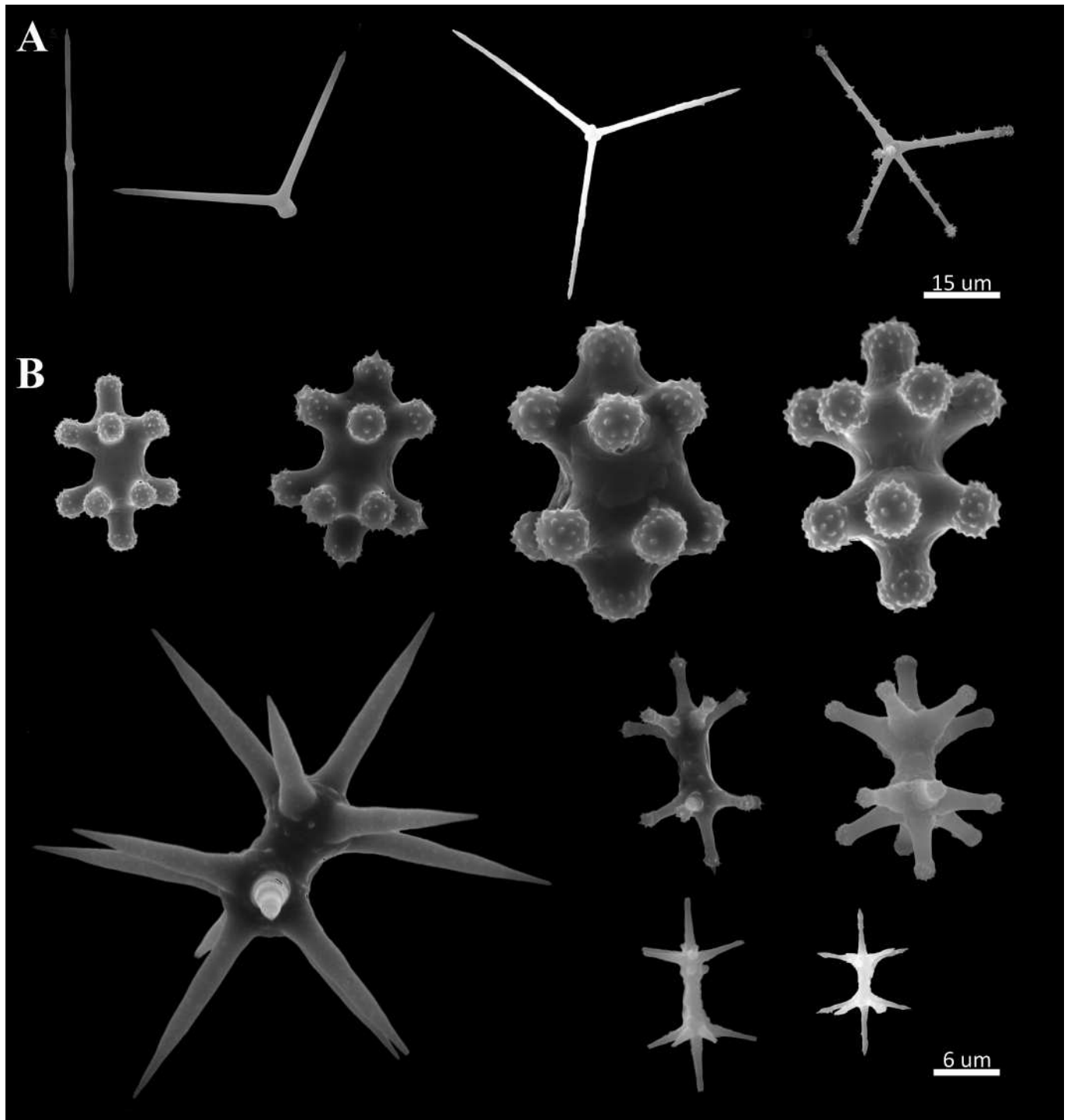


Figura 4.43: Espículas de *Thoosa mismalolli*.

A. Oxas centrotíletes, oxíásteres biradiadas, triradiadas y tetra-radiadas; B. Anfiásteres finos y robustos.

son 21 μm x 14 μm . iii) Amfiásteres menos comunes tienen 7 rayos en cada lado y son delgados con terminaciones en punta con largas espinas cónicas. Las dimensiones son 20 μm x 16.5 μm . También se encuentran iv) oxiásteres lisos que pueden ser bi, tri o tetra radiadas. La longitud es de 22 – 62 μm . Los datos son tomados de Cruz-Barraza et al. (2011).

Distribución: Pacífico Oriental Tropical (Cruz-Barraza et al. 2011).

Referencias

- Bautista-Guerrero, E., Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A. & Nava, H. H. (2006). New coral reef boring sponges (Hadromerida: Clionaidae) from the Mexican Pacific Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 86 (5), 963-970.
- Bavestrello, G., Calcinai, B. & Sarà, M. (1995). Two new species of *Cliona* (Porifera, Demospongiae) boring the scleraxis of *Corallium elatius* from the Western Pacific. *Italian Journal of Zoology*. 62 (4), 375-381.
- Calcinai, B., Cerrano, C., & Bavestrello, G. (2002). A new species of *Scantiletta* (Demospongiae, Clionaidae) from the Mediterranean precious red coral with some remarks on the genus. *Bulletin of Marine Science*. 70 (3), 919-926.
- Calcinai, B., Bavestrello, G. & Cerrano, C. (2005). Excavating sponge species from the Indo-Pacific Ocean. *Zoological Studies*. 44 (1), 5-18.
- Calcinai, B., Azzini, F., Bavestrello, G., Cerrano, C., Pansini, M. & Thung, D. C. (2006). Boring sponges from the Ha Long Bay, Tonkin Gulf, Vietnam. *Zoological Studies-Taipei*. 45 (2), 201-212.
- Calcinai, B., Cerrano, C. & Bavestrello, G. (2007). Three new species and one re-description of *Aka*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87 (6), 1355-1366.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., Guttone, G. & Cerrano, C. (2011). Excavating sponges from the Adriatic Sea: description of *Cliona adriatica* sp. nov. (Demospongiae: Clionaidae) and estimation of its boring activity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 91 (2), 339-346.
- Carballo, J. L. & Cruz-Barraza, J. A. (2005). *Cliona microstrongylata*, a new species of boring sponge from the Sea of Cortés (Pacific Ocean, México). *Cahiers de Biologie Marine*. 46

(4), 379-387.

- Carballo, J., Sanchez-Moyano, J. & García-Gómez, J. (1994). Taxonomic and ecological remarks on boring sponges (Clionidae) from the Straits of Gibraltar (Southern Spain): tentative bioindicators? *Zoological Journal of the Linnean Society*. 112 (4), 407-424.
- Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A. & Gomez, P. (2004). Taxonomy and description of clionaid sponges (Hadromerida, Clionidae) from the Pacific Ocean of Mexico. *Zoological Journal of the Linnean Society*. 141 (3), 353-397.
- Carballo, J. L., Hepburn, L., Nava, H. H., Cruz-Barraza, J. A. & Bautista-Guerrero, E. (2007). Coral boring *Aka*-species (Porifera: Phloeodictyidae) from Mexico with description of *Aka cryptica* sp. nov. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87 (6), 1477-1484.
- Carter, H. (1880). Report on specimens dredged up from the Gulf of Manaar and presented to the Liverpool Free Museum by Capt. WH Cawne Warren. *Journal of Natural History*. 6 (31), 35-61.
- Carter, H. (1882). XXIX - Some sponges from the West Indies and Acapulco in the Liverpool Free Museum described, with general and classificatory remarks. *Journal of Natural History*. 9 (52), 266-301.
- Corriero, G. & Marzano, C. N. (2006). A new species of *Cliona* (Demospongiae, Hadromerida) from the Mediterranean Sea. *Italian Journal of Zoology*. 73(2), 191-195.
- Corriero, G., Abbiati, M. & Santangelo, G. (1997). Sponges inhabiting a Mediterranean red coral population. *Marine Ecology*. 18 (2), 147-155.
- Cruz-Barraza, J. A., Carballo, J. L., Bautista-Guerrero, E. & Nava, H. (2011). New species of excavating sponges (Porifera: Demospongiae) on coral reefs from the mexican Pacific

Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 91 (5), 999-1013.

Desqeyroux-Faundez, R. & van Soest, R. (1997). Shallow-water demosponges of the Galapagos Islands. *Revue Suisse de Zoologie*. 104 , 379-467.

Dickinson, M. G. (1945). Sponges of the Gulf of California. Allan Hancock Pacific expedition. *University of Southern California Press*. 11, 1-251.

Fromont, J., Craig, R., Rawlinson, L. & Alder, J. (2005). Excavating sponges that are destructive to farmed pearl oysters in Western and Northern Australia. *Aquaculture Research*. 36 (2), 150-162.

Gordon, D. P. (2012). The New Zealand inventory of biodiversity. Kingdom Animalia: Radiata, Lophotrochozoa, and Deuterostomia. Christchurch, New Zealand, Caterbury University Press. Vol. 1, 566 p.

Hancock, A. (1849). XXXVI. - On the excavating powers of certain sponges belonging to the genus *Cliona*; with descriptions of several new species, and an allied generic form. *Annals and Magazine of Natural History*. 3 (17), 321-348.

Hancock, A. (1867). XXXVI. - Note on the excavating sponges; with descriptions of four new species. *Journal of Natural History*. 19 (112), 229-242.

Kirkpatrick, R. (1900). XLIII. - Description of sponges from Funafuti. *Journal of Natural History*. 6 (34), 345-362.

Lamarck, J. & de Monet, C. D. (1815). Suite des polypiers empâtés. *Mémoires du Muséum d'Histoire naturelle, Paris*. 1, 69-80.

Laubenfels, M. W. de (1932). The marine and fresh-water sponges of California. *Proceedings of the*

United States National Museum. 81 (4), 1-140.

Laubenfels, M. W. de (1954). The sponges of the West-Central Pacific. Oregon State Monographs. *Studies in Zoology.* 7, 1-306.

Laubenfels, M. W. de. & Hindle, D. E. (1950). The Porifera of the Bermuda Archipelago. *The Transactions of the Zoological Society of London.* 27 (1), 1-154.

Lindgren, N. (1897). Beitrag zur kenntniess der spongiefauna des Malaiischen Archipels und der Chinesischen Meere. *Zoologischer Anzeiger.* 20, 480-487.

Melone, N. (1965). I poriferi associati a *Corallium rubrum* della Sardegna. *Annali del Museo Civico di Storia Naturale Giacomo Doria.* 75 , 343-358.

Mote, S., Schönberg, C. H., Samaai, T., Gupta, V. & Ingole, B. (2019). A new clionaid sponge infests live corals on the west coast of India (Porifera, Demospongiae, Clionida). *Systematics and Biodiversity.* 17 (2), 190-206.

Old, M. C. (1941). Taxonomy and distribution of the boring sponges (Clionidae) along the Atlantic coast of North America. *Chesapeake Biological Laboratory.* 44, 1-30.

Pacheco, C., Carballo, J. L., Cortes, J., Segovia, J. & Trejo, A. (2018). Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and a faunistic record. *Zootaxa.* 4370 (5), 451-491.

Pacheco, C., Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A. Schönberg, C. H. L. & Calcinai, B. (2020). Delimiting boundaries between species: excavating sponges clase to *Cliona mucronata* (Demospongiae). *Systematics and Biodiversity.* 18 (6), 573-591.

Pang, R. K. (1973). The systematics of some Jamaican excavating sponges (Porifera). *Postilla.* 161, 1-75.

- Ridley, S. (1881). Coelenterata. Account of the zoological collections made during the survey of HMS Alert in the Straits of Magellan and on the coast of Patagonia. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 1881, 101-107.
- Ridley, S. O. & Dendy, A. (1886). XXXIV. - Preliminary report on the monaxonida collected by HMS 'Challenger'. *Journal of Natural History*. 18 (107), 325-351.
- Rosell, D. & Uriz, M. J. (2002). Excavating and endolithic sponge species (Porifera) from the Mediterranean: species descriptions and identification key. *Organisms Diversity & Evolution*. 2 (1), 55-86.
- Rützler, K. (1974). The burrowing sponges of Bermuda: *Smithsonian Contributions to Zoology*. 165, 1-32.
- Rützler, K. (2002). Family Clionaidae D'Orbigny, 1851. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 173-185.
- Rützler, K. & Bromley, R. G. (1981). *Cliona rhodensis*, new species (Porifera: Hadromerida) from the Mediterranean. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 94 (4), 1219-1225.
- Rützler, K. & Hooper, N. (2000). Two new genera of hadromerid sponges (Porifera, Demospongiae). *Zoosystema*. 22 (2), 337-344.
- Rützler, K., Piantoni, C., Van Soest, R. W. & Díaz, M. C. (2014). Diversity of sponges (Porifera) from cryptic habitats on the Belize barrier reef near Carrie Bow Cay. *Zootaxa*. 3805 (1), 1-129.
- Rützler, K. & Stone, S. M. (1986). Discovery and significance of Albany Hancock's microscope preparations of excavating sponges (Porifera: Hadromerida: Clionidae). *Proceedings of*

the Biological Society of Washington. 99 (4), 658-675.

- Samaai, T., Pillay, R. & Janson, L. (2019). Shallow-water Demospongiae (Porifera) from Sodwana Bay, Simangaliso Wetland Park, South Africa. *Zootaxa.* 4587 (1), 1-85.
- Schmidt, O. (1862). Die spongien des adriatischen Meeres (Wilhelm Engelmann: Leipzig): i-vi, 1-48.
- Schönberg, C. (2000). Sponges of the ‘*Cliona viridis* complex’ - a key for species identification. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium.* 1, 23-27.
- Sollas, W. (1878). VII. - On two new and remarkable species of *Cliona*. *Annals and Magazine of Natural History.* 1 (1), 54-67.
- Thiele, J. (1900). Kieselschwämme von Ternate. I. *Abhandlungen der Senckenbergischen Naturforschenden Gesellschaft.* 25, 19-80.
- Thiele, J. (1905). Die kiesel-und hornschwämme der sammlung plate. *Zoologische Jahrbücher.* 6, 407-495.
- Thomas, P. (1972). Boring sponges of the reefs of Gulf of Mannar and Palk Bay. *In: Mukundan, C. & Pillai, C. (Eds.), Proceedings of the first symposium on corals and coral reefs., Marine Biological Association of India, Mandapam Camp.* pp. 333-362.
- Topsent, E. (1888). Contribution á l'étude des Clionides. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale.* 5, 1-165.
- Topsent, E. (1896). Matériaux pour servir à l'étude de la faune des spongiaires de France. *Memoires de la Societe Zoologique de France.* 9, 113-133.
- Topsent, E. (1900). Etude monographique des spongiaires de France, III Monaxonida (Hadromeria). *Archives de Zoologie Experimentale et Generale.* 8 (3), 1-331.

- Topsent, E. (1901). Eponges nouvelles des Açores. Mémoires de la Societe Zoologica de France. 11, 225-255.
- Ubare, V. V. & Mohan, P. (2018). New records and range extensions of some marine sponges (Porifera: Demospongiae and Homoscleromorpha) from the Andaman Islands, India; part of the Indo-Burma biodiversity hotspot. *Zoological Studies*. 57, e3.
- van Soest, R., Boury-Esnault, N., Hooper, J., Rützler, K., de Voogd, N. J., Alvarez de Glasby, B., Hajdu, E., Pisera, A. B., Manconi, R., Schönberg, C., Klautau, M., Kelly, M., Vacelet, J., Dohrmann, M., Díaz, M. C., Cárdenas, P., Carballo, J. L., Ríos, P., Downey, R., Morrow, C. C. (2020). World Porifera Database. Accessed at <http://www.marinespecies.org/porifera> on 2020-02-01.
- van Soest, R. W. & Beglinger, E. J. (2009). New bioeroding sponges from Mingulay coldwater reefs, North-West Scotland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 89 (2), 329-335.
- Vicente, V. P., Rützler, K. & Carballeira, N. M. (1991). Comparative morphology, ecology, and fatty acid composition of West Indian Spheciospongia (Demospongiae). *Marine Ecology*. 12 (3), 211–226.
- Weise, J. (1908). Die fauna Sudwest-Australiens ergebnisse der hamburger sudwest-australischen forschungsreise, 1905. In: Michaelsen W. & Hartmeyer, R. (Eds.), *Chrysomelidae und Coccinellidae*. Vol. 2, Fisher, Jena, Germany. pp. 347-402.
- Xavier, J., Rachello-Dolmen, P., Parra-Velandia, F., Schönberg, C., Breeuwer, J. & van Soest, R. (2010). Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolita” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionaidae). *Molecular phylogenetics and evolution*. 56 (1), 13-20.

Capítulo 5

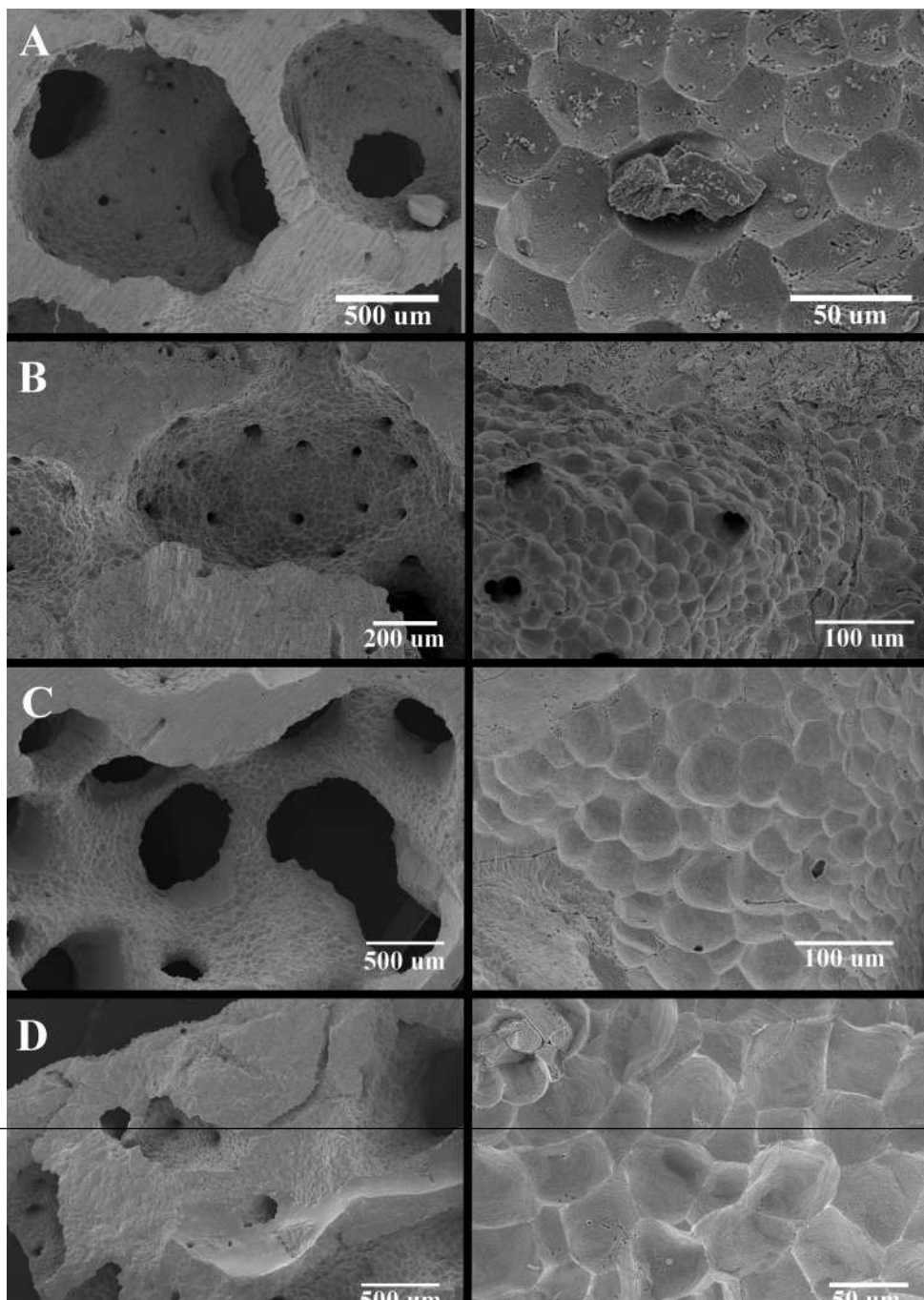
Análisis del Patrón de Perforación de las Esponjas Excavadoras

Resultados

Las mediciones de tamaño de las galerías excavadas y canales de unión entre ellas se presenta en la tabla 5.1. Se observa una correlación significativa entre los tamaños de las galerías y el grosor de los canales de unión ($r=0.60$, $p=0.02$). En las figuras 5.1, 5.2 y 5.3 se muestran las galerías y huellas de erosión de algunas especies de los géneros de la familia Clionaidae: *Cliona*, *Pione*, *Spiroxya* y *Volzia*.

Tabla 5.1: Tamaño de galerías y longitud de canales de unión entre galerías. Especies del género *Cliona*, *Pione* y *Spiroxya*

	Galerías (μm)	N	Ductos de unión (μm)	N
<i>C. californiana</i>	1140 - (1280) - 1400	7	280 - (385) - 490	4
<i>C. euryphyllae</i>	488 - (758) - 1009	4	151 - (195) - 225	4
<i>C. flavifodina</i>	678 - (1886) - 3227	4	172 - (357) - 647	5
<i>C. janitrix</i>	665 - (908) - 1953	5	50 - (160) - 365	6
<i>C. papillae</i>	1319 - (1497) - 1851	3	287 - (354) - 421	2
<i>C. tropicalis</i>	849 - (923) - 997	2	90 - (158) - 423	4
<i>Pione carpenteri</i>	872 - (1304) - 1489	6	135 - (277) - 436	6
<i>Spiroxya heteroclita</i>	632 - (1298) - 2062	4	107 - (156) - 225	5



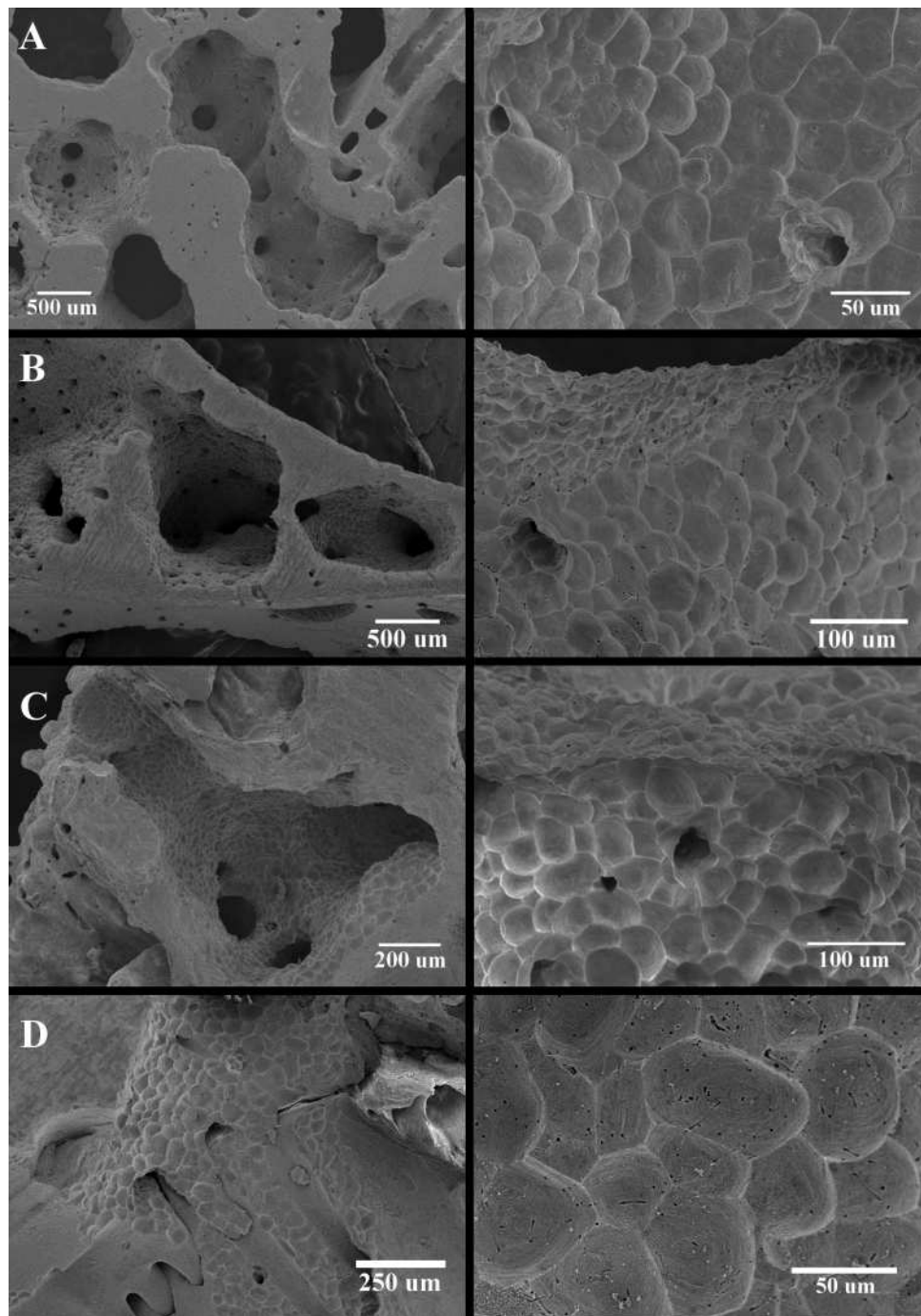


Figura 5.2: Galerías de perforación (columna izquierda) y huella de erosión (columna derecha).
A. *Cliona mariae*; B. *C. papillae*; C. *C. tropicalis*; D. *C. vermifera*.

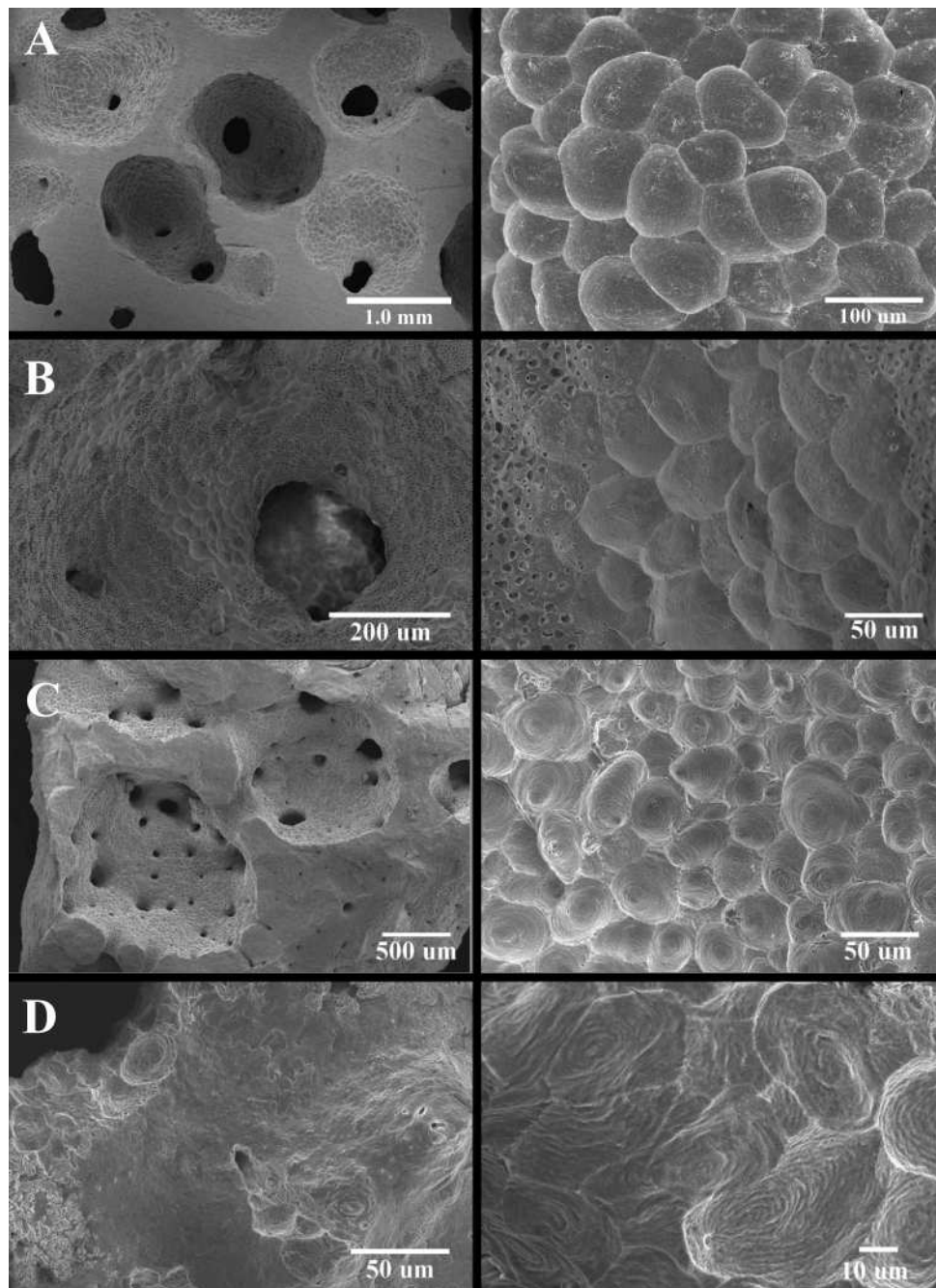


Figura 5.3: Galerías de perforación (columna izquierda) y huella de erosión (columna derecha).
A. *Pione carpenteri*; B. *P. vastifica*; C. *Spiroxya heteroclita*; D. *Volzia* sp.

La longitud y el área de las huellas de perforación muestran un patrón similar entre ambas debido a la correlación que hay, sin embargo no parecen ser distintivas entre especies, géneros

o incluso entre distintos ordenes. La figura 5.4 muestra la comparación entre estas dos variables entre varias especies y géneros de la familia Clionidae y marcada con asterisco un género del orden Tetractinellida. La figura 5.5 muestra las huellas de seis especies que sirven para su comparación.

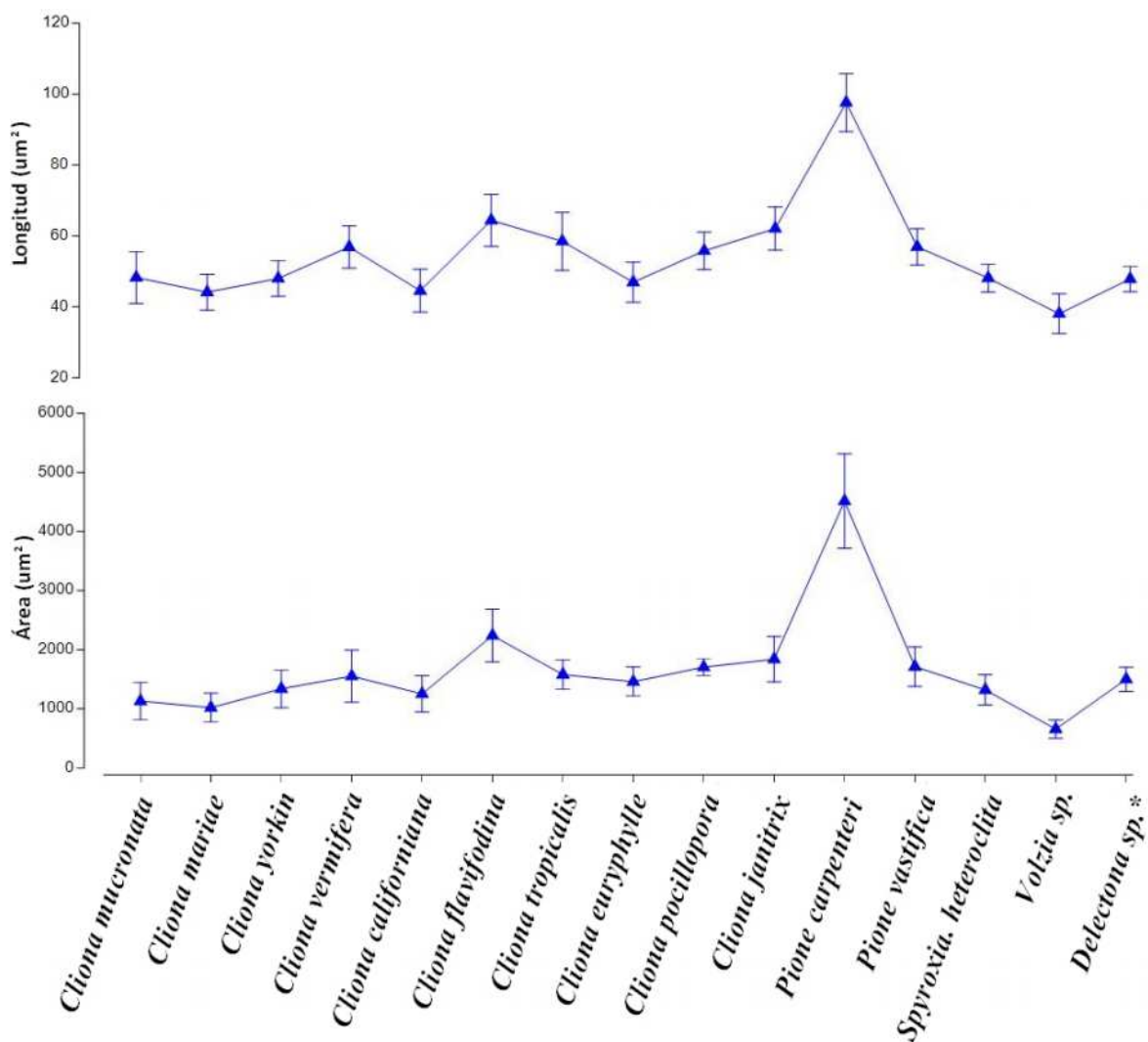


Figura 5.4: Promedios de longitud y área de huellas de erosión por especies. Se incluye para el análisis varias especies y géneros de la familia Clionidae y un género (*) perteneciente al orden Tetractinellida.

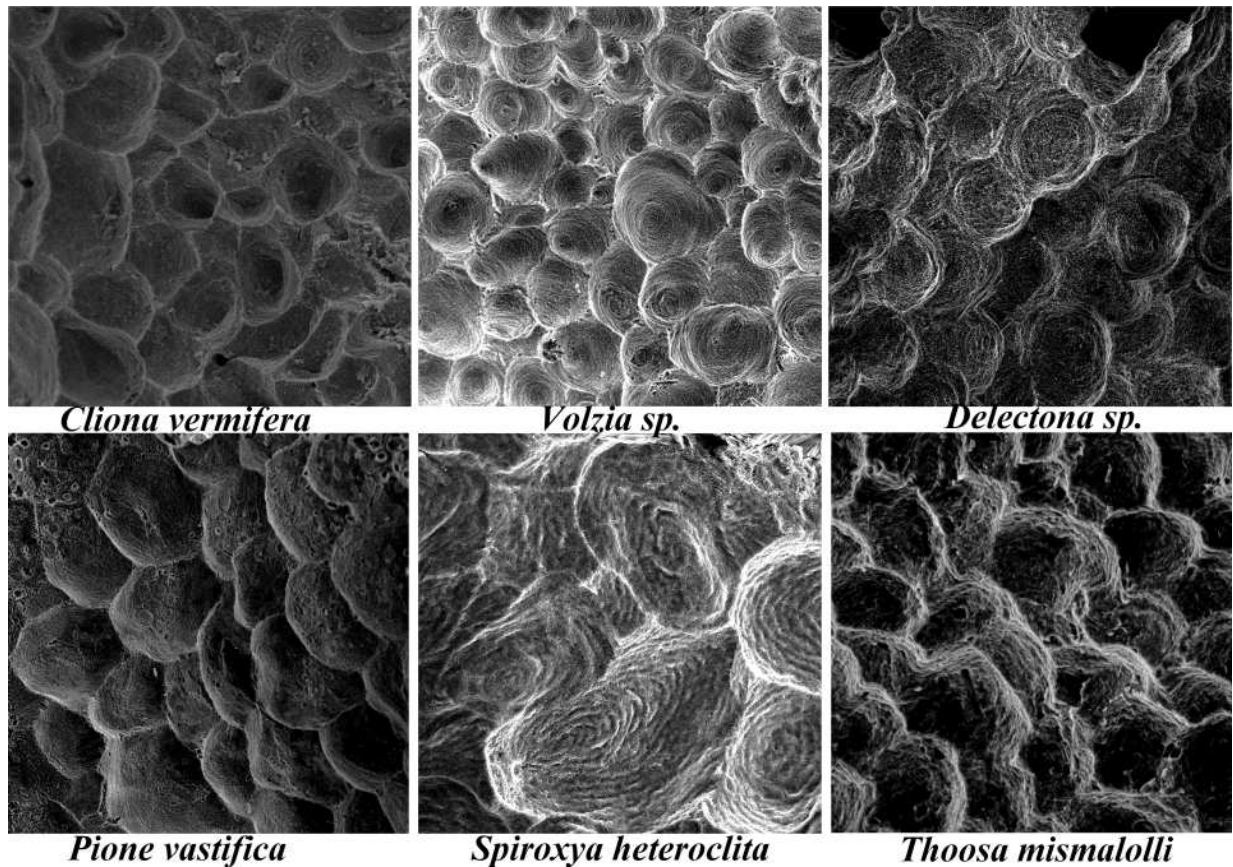


Figura 5.5: Comparación de huella de excavación entre los distintos géneros de esponjas perforadoras.

Los géneros *Delectona* y *Thoosa* pertenecientes al orden Tetractinellida.

Discusión

Las perforaciones realizadas por las esponjas ocurren a través de procesos filopodiales que inician la excavación para llegar a formar galerías y túneles paralelos a la superficie del sustrato, estos túneles serán los canales de unión con otras galerías y a medida en que la esponja crece en el interior del sustrato, las galerías y canales de unión irán ensanchándose (Hoeksema, 1983). Las mediciones obtenidas de las galerías y canales de unión (tabla 5.1) serían el producto del desarrollo del tejido endolítico y no parece tener valor taxonómico. Hancock (1849) sugirió que una esponja saludable llenaría todo el espacio de la excavación, por lo que el crecimiento generaría

mayor número de filamentos y crecimiento de cámaras a medida que el carbonato circundante es consumido.

Se ha mencionado que la profundidad de la excavación dependerá de la capacidad de la esponja para hacer llegar el flujo de agua a las cámaras y así poder oxigenar el tejido (Hoeksema, 1983). A medida en que la biomasa del tejido endolítico aumenta, este debe recibir mayor cantidad de alimento y suficiente suministro de agua (Rose & Risk, 1985), la formación de filamentos pioneros que penetran el sustrato proporcionarán el espacio pero, además, cuando estos filamentos excavan y encuentran de nuevo agua, se forman papilas (ostiolos por donde entra el agua y ósculos por donde sale (Hoeksema, 1983) que permitirán suplir las necesidades de la esponja. En el caso particular de *Cliona adriatica*, Calcinai et al. (2011) demostraron que el área epilítica está positivamente correlacionada al volumen excavado. Sin embargo, *Cliona adriatica* es muy diferente a otras especies de esponjas excavadoras, su sustrato predominante es la roca calcárea en donde crece y excava con una avidez que no se ve en otras especies, incluyendo las que están en el Pacífico Oriental Tropical. Para la mayoría de especies en esta región, las papilas (tejido epilítico) son muy pequeñas, en ocasiones imperceptibles a simple vista y el tejido endolítico es abundante.

Por otro lado, el patrón de la huella de erosión si ha sido estudiado como una característica con valor taxonómico. Vacelet (1999) realizó el primer análisis de huellas de erosión. Él encontró diferencias en el patrón de la huella de erosión del género *Alectona*, familia Thoosidae, orden Tetractinellida. Posteriormente, Calcinai et al. (2003) compararon varias especies del género *Cliona* con especies del género *Siphonodictyon* (anteriormente *Akka*) de la familia Phloeodictyidae, orden Haplosclerida y también encontraron diferencias en los patrones de erosión. El patrón de la huella podía verse afectado por el tipo de sustrato por lo que en el estudio de Calcinai et al. (2003) solo se tomó esponjas de distinto género excavando en el mismo sustrato.

La posibilidad de que el sustrato afectara el patrón de erosión como sugirieron Schönberg & Ortiz (2008) se estudió por Calcinai et al. (2008). Ellos utilizaron la especie *C. albimarginata* y demostraron que la huella de erosión mantiene el mismo patrón independientemente del sustrato en el que se dé la excavación. Sin embargo este si es capaz de modificar la forma de la huella siendo

más chica en sustratos más densos.

En nuestro estudio el material provino de distintos sustratos, las huellas de *Cliona euryphylla* y *Cliona papillae* fueron de excavaciones en tubos de poliquetos sin embargo, el patrón de erosión fue similar al encontrado en sustratos coralinos (Fig. 5.1, 5.2, 5.3). La longitud y área de las huellas de erosión muestran una correlación baja ($r = 0.42$). Sin embargo, se debe tener en cuenta que estas son afectadas por patrones que se sobreponen unos a otros conforme avanza la excavación. Las huellas más grandes, las presentó *Cliona papillae* al excavar tubos de poliquetos. *Cliona euryphylla* también excavó tubos de poliquetos y el tamaño de huellas fue similar al encontrado en sustrato coralino. La especie *Pione carpenteri* presentó las huellas más grandes (figura 5.4). Si se considera el patrón de la huella, sin tomar en cuenta el tamaño, Calcinai et al. (2003) atribuyen las diferencias encontradas a la forma en la que las células erosionan el carbonato cálcico. La esponja produce pseudópodos para penetrar el carbonato y englobar pequeñas partículas que son expulsadas al exterior por los ósculos. Diferencias en los procesos pseudopodiales de las células excavadoras generaría la distinción que se ha observado a nivel de orden.

Calcinai (2004) agrupa los patrones en cuatro formas reconocibles. i) Huellas lisas, ii) Huellas con forma digitada con surcos finos concéntricos, iii) Huellas con surcos profundos concéntricos, iv) surcos profundos y concéntricos hacia el centro. La tabla 5.2 resume la información conjunta del trabajo de Calcinai (2004) y este estudio.

En uno de los trabajos más recientes que combina la morfología, la huella de erosión y tres marcadores moleculares (COI, 28S y 18S), Carballo et al. (2018) notaron la congruencia entre la huella de erosión de los géneros *Alectona* y *Thoosa* y su posición sistemática dentro de la misma familia Thoosidae.

Si el patrón de perforación es una característica con valor taxonómico, se tendrá que estudiar más detenidamente a que nivel está, ya que la familia Clionaidae es la única que agrupa géneros con dos tipos de patrón de huella de erosión y por lo tanto una familia que incluye géneros en los que los procesos pseudopodiales son distinto.

Tabla 5.2: Tipos de huellas de excavación (números romanos) que agrupan a los distintos géneros de esponjas.

Los géneros resaltados son los que han sido tratados en este estudio.

	I	II	III	IV
Or. Clionaida, Fam. Clionaidae	<i>Cliona</i> <i>Cliothisa</i> <i>Pione</i>	<i>Spiroxya</i> <i>Volzia</i>		
Or. Tetractinellida, Fam. Ancorinidae		<i>Holoxea</i>		
Or. Tetractinellida, Fam. Thoosidae			<i>Alectona</i> <i>Delectona</i> <i>Thoosa</i>	
Or. Haplosclerida, Fam. Phloeodictyidae				<i>Siphonodictyon</i>

Referencias

- Calcinai, B. (2004). Bioerosion micro-patterns as diagnostic characteristics in boring sponges. *BMIB-Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici*. 68, 229-238.
- Calcinai, B., Arillo, A., Cerrano, C. & Bavestrello, G. (2003). Taxonomy-related differences in the excavating micro-patterns of boring sponges. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 83 (1), 37-39.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., Cerrano, C. & Gaggero, L. (2008). Substratum microtexture affects the boring pattern of *Cliona albimarginata* (Clionaidae, Demospongiae). In: Wisshak, M. & Tapanila, L. (Eds.), *Current Developments in Bioerosion*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 203-211.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., Guttone, G. & Cerrano, C. (2011). Excavating sponges from the Adriatic Sea: description of *Cliona adriatica* sp. nov. (Demospongiae: Clionaidae) and estimation of its boring activity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 91 (2), 339-346.
- Carballo, J. L., Bautista-Guerrero, E., Cárdenas, P., Cruz-Barraza, J. A. & Aguilar-Camacho, J. M. (2018). Molecular and morphological data from Thoosidae in favour of the creation of a new suborder of Tetractinellida. *Systematics and Biodiversity*. 16 (5), 512-521.
- Hancock, A. (1849). XXXVI. - On the excavating powers of certain sponges belonging to the genus *Cliona*; with descriptions of several new species, and an allied generic form. *Annals and Magazine of Natural History*. 3 (17), 321-348.
- Hoeksema, B. W. (1983). Excavation patterns and spiculae dimensions of the boring sponge *Cliona celata* from the sw netherlands. *Senckenbergiana Maritima*. 15, 55-85.
- Rose, C. S. & Risk, M. J. (1985). Increase in *Cliona delitrix* infestation of *Montastrea cavernosa*

heads on an organically polluted portion of the Grand Cayman fringing reef. *Marine Ecology*. 6 (4), 345-363.

Schönberg, C. & Ortiz, J. (2008). Is sponge bioerosion increasing. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*. 8, 7-11.

Vacelet, J. (1999). Planktonic armoured propagules of the excavating sponge *Alectona* (Porifera: Demospongiae) are larvae: evidence from *Alectona wallichii* and *A. mesatlantica* sp. nov. *Memoirs of the Queensland Museum*. 14, 627-643.

Capítulo 6

Nueva Sistemática de Esponjas Excavadoras Basada en Filogenias Molecular y Morfológica

En este capítulo se expone y analizan las filogenias resultantes de los tres marcadores moleculares 28S, COI y 18S y la filogenia morfológica. Se expone en orden de relevancia primero los análisis más completos y posteriormente resultados que apuntan en la misma dirección y por lo tanto apoyan la sistemática que finalmente se propone. Para realizar la filogenia morfológica se toma en cuenta las características que se han visto a lo largo de esta tesis y que posee importancia a nivel taxonómico. Además de las diagnosis y descripciones detalladas en el capítulo 4: “Taxonomía de Esponjas Excavadoras”.

Resultados de la Filogenia Molecular

Análisis con el marcador 28S

Para el análisis del marcador 28S se utilizaron 84 secuencias de una longitud de 805 pb (471 sitios conservados, 333 sitios variables y 246 sitios informativos para parsimonia). El alineamiento seleccionado fue el de ClustalW; el alineamiento de Muscle generó secuencias un poco más largas al introducir mayor número de espacios (813 pb). Se utilizó el programa JModelTest para buscar el modelo evolutivo más adecuado. Con el marcador 28S se comprobó que bajo los criterios de AIC, AICc y BIC el modelo seleccionado fue GTR+G. Para el análisis de parsimonia, se realizaron 1 000 000 de repeticiones y como resultado se obtuvo 1419 árboles más parsimoniosos con un número de 820 pasos.

La filogenia muestra al género *Spiroxya* como clado hermano de todas las demás especies de Clionidae. Otros clados que se forman incluyen géneros ya existentes como el género *Pione* pero también clados separados con especies del mismo género como ocurre con *Cliona*. Sin embargo estos clados separan grupos de especies con tipos espiculares relacionados por lo que se le ha dado un nombre para referirme a ellos con más facilidad como se ilustra al margen de la figura 6.1. El género *Cliothisa* (color morado), con microscleras muy características aparece como grupo hermano del clado I que está formado por especies con variedad de tilostilos (solo megascleras).

El clado *Cliona* agrupa especies que poseen solo tilostilos y sus derivados. Mientras que los clados II y III agrupan especies con distintos tipos de espirásteres. Se exceptúa la especie *C. vermifera* con microstrongilos sinuosos y que forma un clado independiente (*Bernatia*). El clado II se caracterizan por espirásteres alargados o pequeños pero nunca robustos. El clado III posee espirásteres pequeños y robustos (con actinas triangulares) similares a la espiculación que presenta la familia Spirastrellidae.

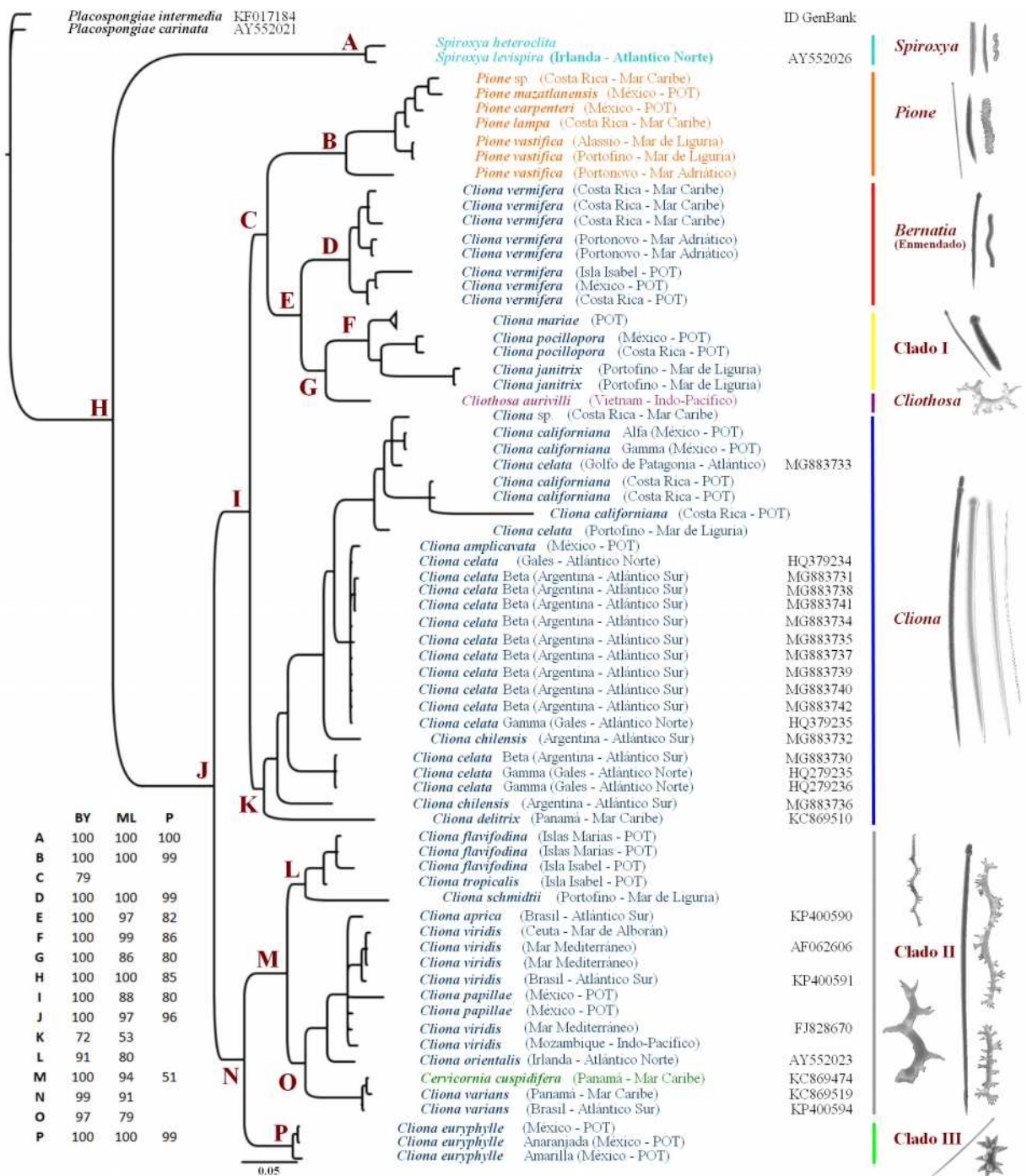


Figura 6.1: Filogenia de la familia Clionaidae con 28S.

Se muestran las probabilidades posteriores y valores bootstrap mayores a 50. Se especifica las secuencias obtenidas del GenBank con el número de acceso. Los géneros actuales se ilustran con distintos colores en el nombre de la especie. Al margen derecho se colocan barras de color marcando los géneros y clados propuestos para la familia. Se ilustran las espículas típicas que caracterizan a los distintos clados (las espículas no están a escala).

Es notable que el género *Cervicornia* (color verde) aparece muy cercano a *Cliona varians*, dentro del clado II. Este clado refleja también una división en dos subclados más. Un subclado formado por *C. tropicalis* y *C. flavifodina* entre otras, y un clado formado por *C. viridis* entre otras.

Los resultados que se observan en la filogenia del 28S es coincidente con la que presenta COI como se verá más adelante, incluyendo la subdivisión de clados. Un género que no se logró ver en la filogenia del 28S es *Sphaciospongia*, sin embargo se realizó un análisis con la región D2 del 28S, esto con el fin de incluir las secuencias de este género presentes en el trabajo de Barucca et al. (2007). El análisis de máxima verosimilitud se presenta en el apéndice 1 y muestra como *Sphaciospongia* se encuentra en el clado II, lo que era de esperar por sus espículas espirásteres.

Análisis con el marcador COI

Para el marcador Citocromo Oxidasa I (COI), se utilizaron 91 secuencias de una longitud de 583 pb (423 sitios conservados, 158 sitios variables y 139 sitios informativos para parsimonia). No hubo diferencias entre el alineamiento con ClustalW y Muscle. Cuando se analizó el modelo evolutivo más adecuado, AICc y BIC coincidieron en HKY+I+G, sin embargo, AIC seleccionó el GTR+I+G y HKY+I+G como segunda opción con un valor de verosimilitud un poco mayor pero significativamente diferente ($\Delta = 5.51$). A pesar de esta diferencia se consideró más adecuado el modelo de AICc en comparación a AIC por tener un alineamiento con menos de 100 secuencias (se sugiere uso de AICc en estos casos) y además por coincidir con el resultado de BIC. El análisis de parsimonia realizó 1 000 000 de repeticiones y encontró 12 árboles parsimoniosos, con un número de 458 pasos.

La topología de COI es similar a la de 28S. Sin embargo, un género nuevo se muestra en la filogenia. El género *Clionaopsis* (color rojo) que surge como clado cercano al clado *Cliona*. Por otro lado, el género *Sphaciospongia* (color verde), caracterizado por espirásteres se agrupa con las especies que poseen este tipo de espículas y no forma un clado distinto. En el caso de la filogenia

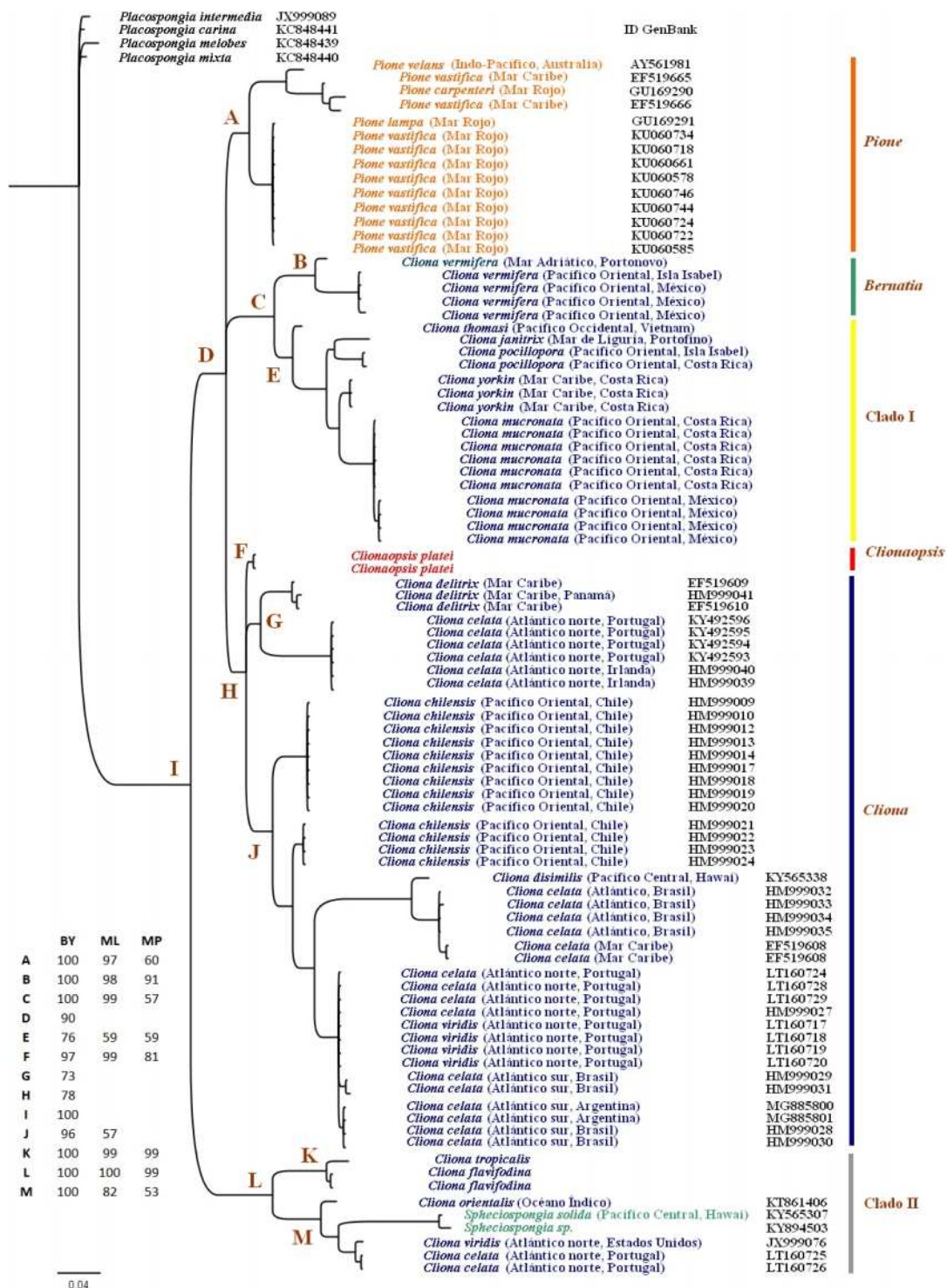


Figura 6.2: Filogenia de la familia Clionaidae con COI.

Se muestran las probabilidades posteriores y valores bootstrap con soporte mayor 50. Las secuencias obtenidas del GenBank se especifica con el número de acceso.

de COI así como lo observado en el 28S, el clado II se divide en dos subclados. Sin embargo, cuando se compara la posición de *Sphaciospongia* no hay coherencia entre los marcadores 28S - D2 (Apéndice 1) y COI. En el primero el género *Sphaciospongia* está en el subclado de *C. tropicalis* y *C. flavifodina*. En la filogenia de COI *Sphaciospongia* está presente en el subclado de *C. viridis*.

Análisis con el marcador 18S

En el análisis del marcador 18S se utilizaron 16 secuencias de esponjas de un tamaño de 1659 pb (1564 sitios conservados, 93 sitios variables y 33 sitios informativos para parsimonia). No hubo diferencia entre los algoritmos de alineación, tanto ClustaW como Muscle generaron el mismo resultado. El modelo evolutivo seleccionado por BIC fue el K80+G. AICc seleccionó este mismo modelo en tercer lugar pero sin presentar diferencias significativas ($\Delta = 1.81$) cuando se compara con el GTR+G que fue el modelo seleccionado en primer lugar. Por esto se seleccionó K80+G como el modelo más adecuado. En el análisis de parsimonia, se examinaron 817 022 163 de posibles arreglos para retener 7 árboles más parsimoniosos con un total de pasos de 106. En este caso, el grupo externo está formado por especies de un orden distinto (a diferencia de *Placospongia* utilizado en los análisis anteriores y del mismo orden que la familia Clionaidae). Este cambio se debe a que la resolución en la topología es mejor cuando se utiliza el género *Thoosa* debido probablemente a lo conservada que es esta región y que hace necesario comparar con un grupo externo de orden distinto.

La filogenia del marcador 18S es muy reducida pero da indicios de que el clado del género *Cliona* y el clado I se mantienen. Las especies con espirásteres están divididas o incluso formando politomía (fig. 6.3, barras grises). Sin embargo el género *Sphaciospongia* permanece en estrecha relación a otras clionas con espirásteres en el clado II.

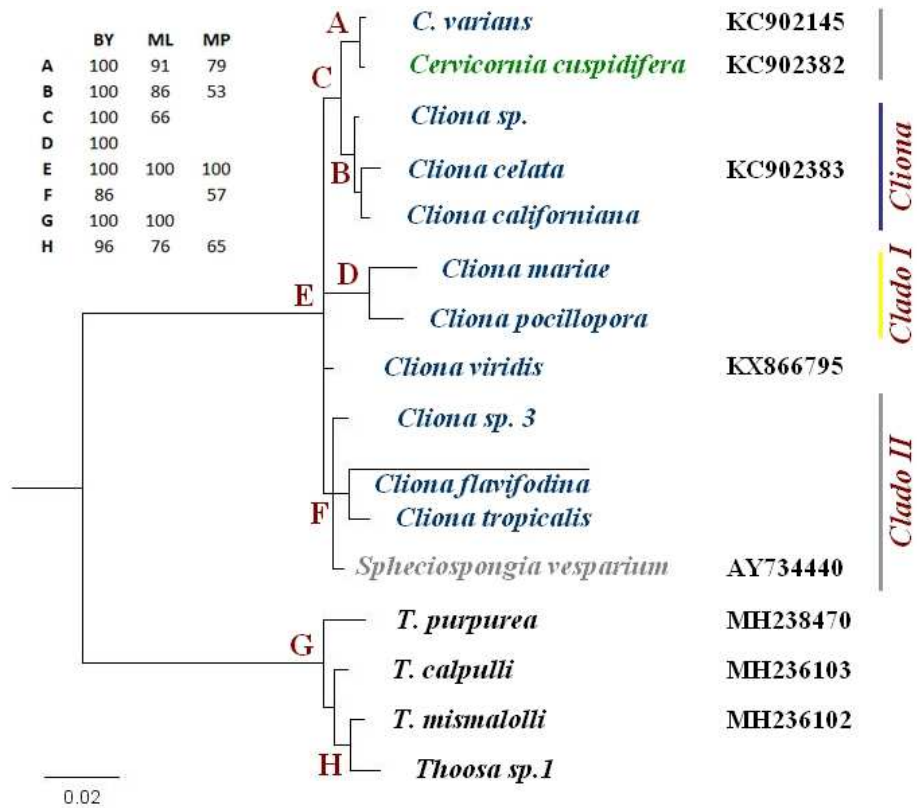


Figura 6.3: Filogenia de la familia Clionaidae con 18S.

Se muestran algunos de las probabilidades posteriores y valores bootstrap, valores en blanco tienen un soporte inferior a 50 o siguen una topología distinta según el método. Se especifica con el número de acceso las secuencias obtenidas del GenBank. Se generan grupos con los géneros ya existentes y otros clados propuestos.

Resultados de la Filogenia Morfológica

Basado en los capítulos anteriores, el análisis morfológico se centró en los tipos espiculares y el patrón de huella de perforación. La tabla 6.1 presenta los caracteres y estados de carácter con los que se realizó la matriz para establecer una filogenia morfológica.

Entre los elementos espiculares, los espirásteres y amfiásteres son los caracteres que más variabilidad mostraron. Los espirásteres se clasificaron en tipos según las especies que lo presentan. Así el espiráster tipo I es la forma presente en la especie *Cliona mucronata* u otras similares. Para estos caracteres el estado de carácter fue presencia y ausencia de ese tipo de espícula. En el caso de amfiásteres, los estados de carácter corresponden a los tipos definidos como, i) tipo I, amfiásteres de actinas largas; ii) tipo II, amfiásteres de actinas pequeñas; iii) tipo III, amfiásteres con forma C o S; iv) tipo IV, amfiásteres delgados y actinas en los extremos; v) tipo V, amfiásteres tipo *Cliona liangae*; vi) tipo VI, amfiásteres tipo *Thoosa*. Estas dos formas de incluir los tipos en la matriz morfológica son equivalentes.

Por otro lado, el carácter de "tipo o talla de tilostilos", incluye los tilostilos, tilostrongilos o subtilostilos. Cuando estos estuvieron presentes en dos rangos de tallas, se registró como dos tipos o tallas. Si estas espículas aparecen en una sola talla, se consideró a los tilostrongilos y subtilostilos variaciones de los mismos tilostilos.

Tabla 6.1: Matriz de caracteres y estados de carácter.

Carácter	Estados						
a Tilostilos y derivados	1 = Presencia	2 = Ausencia					
b Tipos o tallas de tilostilos	1 = Una talla	2 = Dos tallas	3 = Ausente				
c Estilos y estrongilos	1 = Presente	2 = Ausente					
d Oxas	1 = Presencia	2 = Ausencia					
e Oxiásteres	1 = Presencia	2 = Ausencia					
f Amfiásteres	1 = Tipo I	2 = Tipo II	3 = Tipo III	4 = Tipo IV	5 = Tipo V	6 = Tipo VI	7 = Ausente
g Espirásteres ornamentados	1 = Presencia	2 = Ausencia					
h Espirásteres lisos	1 = Presencia	2 = Ausencia					
i Espirásteres tipo I (<i>C. mucronata</i>)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
j Espirásteres tipo II (<i>C. viridis</i>)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
k Espirásteres tipo III (<i>C. euryphyllae</i>)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
l Espirásteres tipo IV (<i>C. flavifodina</i>)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
m Espirásteres tipo V (<i>C. albimarginata</i>)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
n Microrhabdes	1 = Presencia	2 = Ausencia					
o Esférulas (circulares o arriñonadas)	1 = Presencia	2 = Ausencia					
p Patrón de erosión	1 = Tipo I	2 = Tipo II	3 = Tipo III	4 = Tipo IV			

En la matriz numérica generada con base en la tabla de caracteres - estados de carácter se observó que dos o más especies pueden tener los mismos valores y ser idénticos. Esto debido a que la morfología no es muy variable o el carácter distintivo no se toma en cuenta (ej. coloración, tallas de espículas). Los complejos de especies caen dentro de estos casos. Sin embargo, el incluir más de un espécimen hace posible la formación y separación en clados distintos. De forma contraria, aparecería como taxon hermano de un clado o en una politomía.

La filogenia se llevó a cabo con las especies para las que también se obtuvo información molecular (figura 6.4). Conforme más especies eran incluidas en el análisis, el soporte de clados fue cada vez más bajo y las politomías aumentan, por lo que los árboles, al no aportar información se descartaron.

Esta filogenia muestra los clados de *Spiroxya*, *Pione*, *Bernatia*, Clado II y Clado III. El clado del género *Cliona* se pierde junto con el Clado II y las especies aparecen en politomía. Los valores bootstrap mayores de 50 solo soportan tres clados de los cuales solo dos son de nuestro interés, el Clado II y el Clado III ambos con las especies que poseen espirásteres. El Clado II incluye los tres géneros vistos en las filogenias anteriores, *Sphaciospongia*, *Cervicornia* y *Cliona*.

El clado formado por el género *Thoosa* ilustra el hecho de que ver niveles taxonómicos como familias y ordenes es imposible en este análisis.

Discusión

Como se mencionó en la introducción, hasta el día de hoy, en el grupo de las esponjas excavadoras se han realizado una filogenia morfológica (Rosell & Uriz, 1997) y una filogenia molecular parcial (Barucca et al. 2007). Para la filogenia molecular se utilizó el marcador D2 en especies del Mediterráneo y esta distinguió dos grandes grupos. El primer formado por *Cliona celata*, *C. rhodensis*, *C. utricularis* y *Cliothosa hancocki*, y el segundo formado por *Cliona viridis*, *C. nigricans*,

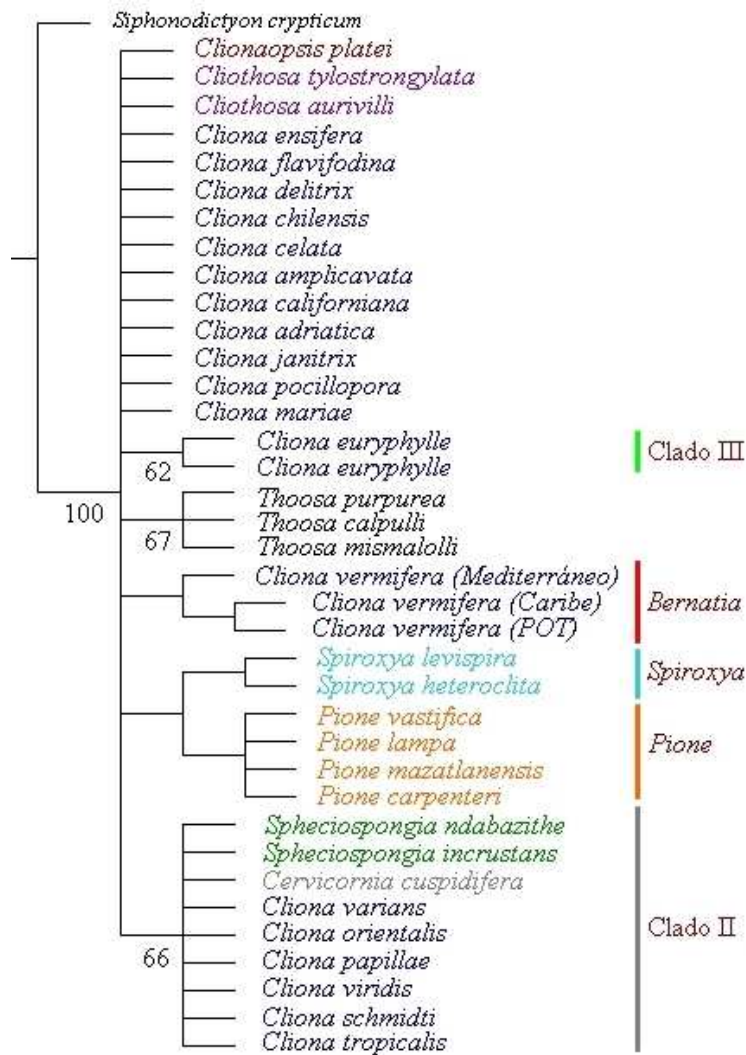


Figura 6.4: Filogenia morfológica con las especies incluidas en la filogenia molecular. Se reportan los valores bootstrap mayores a 50.

C. schmidti y *C. juliani*. Las filogenias presentadas en este estudio concuerdan con el resultado previamente obtenido. Estos dos grupos se observan como grandes clados hermanos que divergen en el nodo J para el marcador 28S y en el nodo I para el marcador COI (Fig. 6.1 y 6.2).

Dentro de esos grandes clados esta tesis permite ir más allá, gracias a la inclusión de otras especies hasta ahora no estudiadas. Es importante resaltar la concordancia entre los clados resultantes y el patrón espicular que suscriben. Estas agrupaciones que se ven por primera vez, separan esa gran variedad de espículas presente en Clionaidae y obtiene grupos que posiblemente son monofiléticos dentro de la familia.

A pesar de que no se logró incluir las mismas especies en los tres análisis realizados con los distintos marcadores, es posible observar cierta concordancia entre ellos, y robustecer las hipótesis filogenéticas que se pueden desprender de este estudio. Además se demuestra, junto a otros estudios realizados (Borchiellini et al. 2004; Lavrov et al. 2008 & Erpenbeck et al. 2012), que los marcadores COI y 28S son una buena combinación para filogenias moleculares en la clase Demospongiae.

La filogenia morfológica muestra la formación de algunos clados que son coherentes con los formados en los análisis moleculares. Aún cuando estos tengan un soporte bajo o carezcan por completo, este análisis apoya las hipótesis filogenéticas que se desprenden de los análisis más robustos.

El género *Pione* dentro de la familia Clionaidae posee una espiculación muy característica que lo diferencia de los demás géneros. Las megascleras están conformadas por tilostilos y oxas que pueden ser lisas o microespinadas. Las microscleras son microrhabdes. Estos elementos hacen que sea relativamente fácil distinguir a las especies de este género y cuando se observa la información molecular, el género forma un clado monofilético con 28S y COI, ambos con un buen soporte por parte de los tres análisis en cada marcador (Fig. 6.1 y 6.2, especies en color anaranjado). Este es el único género dentro de Clionaidae que presenta megascleras oxas. Estas podrían haber aparecido secundariamente y como homoplasia a un clado externo como el formado por *Spiroxya*. Razón por la cual la filogenia morfológica las coloca como grupos hermanos en un mismo clado, aunque

sin un buen soporte. El género *Volzia*, sin representación en las filogenias, también presenta oxas. Será importante en futuros análisis poder incluir este género y comprobar su posición filogenética junto a *Spiroxya* como se sugirió en el capítulo de “Análisis del Patrón de Perforación de Esponjas Excavadoras”, o como grupo hermano de otro género.

El género *Cliothisa* se caracteriza por megascleras de tilostilos y microscleras que son amfiásteres lisos con actinas alargadas. La filogenia de Barucca et al. (2007) mostró como la especie analizada en ese momento, *Cliothisa hancocki*, no se separaba del género *Cliona*. Por lo tanto se proponía que desde un punto de vista morfológico, los amfiásteres característicos de este género podrían ser considerados como modificaciones de espirásteres característicos de algunas especies del género *Cliona*. En Barucca et al. (2007), *Cliothisa hancocki* aparece como grupo hermano de *Cliona utricularis*. Esta especie de *Cliona* se caracteriza por poseer solo tilostilos grandes y robustos. En nuestro estudio se incorpora *Cliothisa aurivilli*, esta aparece como grupo hermano de un clado en donde las especies se caracterizan por estar conformadas únicamente de tilostilos. Individuos del complejo *Cliona mucronata* pero de las especies sin espirásteres aparecen en este clado soportado con valores bootstrap y probabilidad posterior altas. Para futuros estudios queda pendiente la comprobación del lugar filogenético que ocuparía la especie *Cliona mucronata* sensu stricto, de agruparse en este mismo clado sería la única especie en el grupo en poseer espirásteres, y de ser así se podría asociar a una ganancia secundaria.

Conforme más especies del género *Cliothisa* sean agregadas a la filogenia se podrá justificar o no la existencia de este género. Basados en la morfología tan distinta de los amfiásteres, la propuesta de este estudio es mantener el género *Cliothisa*. Por otro lado, el clado I (Fig. 6.1 y 6.2) tiene el soporte necesario para ser descrito como un nuevo género y además, clado hermano de *Cliothisa*.

El clado nombrado como *Bernatia*, hace referencia a un género monoespecie propuesto con base en la filogenia morfológica de Rosell & Uriz (1997). *Cliona vermifera* posee dos tamaños de tilostilos distinguibles en el Mediterráneo; no así en el Pacífico oriental tropical y en el mar Caribe. Las microscleras son microstrongilos sinuosos, lisos. El género *Bernatia* fue descartado por falta de

evidencia molecular que apoyara este nuevo taxón. Nuestro análisis sugiere que *Cliona vermifera* es en realidad un complejo de especies con al menos tres de ellas separadas geográficamente en el mar Mediterráneo, mar Caribe y Pacífico oriental. Además de las microscleras tan características de este grupo, la evidencia de las filogenias 28S y COI y morfológica (aunque sin suficiente soporte) apoyan la separación de un nuevo género y por ende la resurrección de *Bernatia* enmendado de Rosell & Uriz (1997) ya que ellas recalcan la separación de dos tallas de tilostilos pero esta no es tan marcada en especímenes del Pacífico. Por contraste, la autopomorfía del género sería el microstrongilo sinuoso. Otras especies aún no contempladas en este trabajo, poseen el mismo tipo de microsclera, futuros estudios deberán determinar si esta característica es suficiente para agruparlos en este género.

El género *Cliona*, se describe con la especie tipo *Cliona celata*. Esta es un complejo de especies que está presente en el Mediterráneo y Atlántico (Xavier et al. 2010; de Paula et al. 2012). La filogenia del marcador 28S en este trabajo muestra parte de ese complejo. El clado que incluye los individuos de *Cliona celata* debería ser considerado como el género *Cliona* sensu stricto (fig. 6.1 y 6.2). Además estarían incluidas *C. chilensis*, *C. delitrix*, *C. amplivata*, y *C. californiana* todas ellas con espículas monoaxónicas, tilostilos y sus derivados como lo son los ráfides en *C. amplivata*. Al menos las especies *C. celata* y *C. californiana* presentan formas alfa, beta y gamma que estarían incluidas en la diagnosis del género.

Los especímenes analizados de *C. californiana* (fig. 6.1, clado *Cliona*) se separan en dos clados distintos, no según la forma pero sí según la localidad. La evidencia molecular indicaría que *C. californiana* del Pacífico de México, concretamente del golfo de California, es distinta a los individuos que se encontraron en el Pacífico de Costa Rica a pesar de poseer una espiculación similar. Se deberán realizar estudios comparativos para poder describir este posible complejo.

Para terminar con el clado de *Cliona*, se puede ver que *C. amplivata* en este marcador no presenta mucha variación con respecto a *C. celata* del Atlántico. *C. chilensis* y *C. delitrix* también integran este clado, todas estas especies poseen tilostilos como únicos elementos espiculares. En el análisis de COI la especie *C. disimilis* también forma parte del clado *Cliona* (fig. 6.2).

En la filogenia del marcador COI, cuatro especímenes de *C. viridis* del Atlántico de Portugal aparecen en un clado formado exclusivamente por *C. celata* y de hecho las secuencias son idénticas (figura 6.2, clado *Cliona*). También se observa dos especímenes de *C. celata* que se ubican en el clado II (caracterizado por *C. viridis*). En algunos casos la confusión entre las dos especies es comprensible porque *C. viridis* puede carecer por completo de espirásteres y así asemejarse mucho a *C. celata*. Este resultado puede deberse a un error de identificación por parte de Soares et al. (sin publicar) que presentan las secuencias, disponibles en el GenBank.

El clado II se forma por especies con espirásteres alargados de espinación chica y en ocasiones bifurcada, y espirásteres cortos de espinación triangular (fig. 6.1, Clado II). *C. viridis* aparece aquí junto con otras especies con microscleras espirásteres como se observa en 28S (fig. 6.1, clado II), COI (fig. 6.2, clado II) y la filogenia morfológica (fig. 6.4, Clado II). Se debe notar que esta especie forma también el complejo *C. viridis* (Escobar et al. 2012; Leal et al. 2016).

Otra especie presente en el clado II es *Cervicornia cuspidifera* (género monoespecífico), los espirásteres no difieren del tipo de espirásteres presentes en las especies de este clado por lo que la morfología espicular apoya a la evidencia molecular que incluye a *Cervicornia* en el mismo clado. La justificación de este género se basa en la morfología externa que es una fístula inhalante, expuesta en la superficie mientras que los canales exhalantes terminan como estolones en el sustrato. La evidencia molecular parece indicar que la forma externa de las esponjas perforadoras no tiene valor taxonómico y por lo tanto no justifica la separación en géneros distintos y en algunos casos, ni siquiera de especies, como se vio en *C. californiana*. Se propone sinonimizar el género *Cervicornia* para que sea incluida en el género del clado II, fig 6.1.

El análisis de COI incluye el género *Sphaciospongia* dentro del clado II, y el marcador 28S en la región D2 también apoya su posición en este clado (ver apéndice 1). Este género también tiene los espirásteres característicos del clado y la evidencia molecular no establece una separación que justifique que sea un género distinto, incluso el análisis de D2 separa a *Sphaciospongia vagabunda* y *Sphaciospongia solida* para unir las a otras clionas. La propuesta de este trabajo es una redescrición del género *Sphaciospongia* que por antigüedad se mantiene y una sinonimización de las *Cliona* y

Cervicornia que hay en el clado II. Sin embargo, será necesario robustecer el análisis incluyendo más especies del género *Sphaciospongia* y entre ellas, la especie tipo.

Los dos subclados dentro del clado II que aparecen en la filogenia de COI y que también están presentes en la filogenia 28S región D2 no parece tener una justificación morfológica. El cambio de posición del género *Sphaciospongia* de un subclado a otro dependiendo del marcador que se utilice parece ser un artefacto, tal vez provocado por la historia evolutiva de los genes. Con la información disponible no se puede decir con certeza a que se debe este cambio o esa formación de subclados. En la filogenia morfológica se ve tanto el género *Sphaciospongia* como *Cervicornia* se agrupan con clionas que tienen espirásteres apoyando las conclusiones que se pueden desprender de las filogenias 28S y COI.

El análisis 18S (fig. 6.3) es el más incompleto y por lo tanto el más limitado para poder concluir, sin embargo la poca información que tiene es coherente con los otros dos marcadores excepto en el Clado II en donde las especies están dispersas y no forman un único clado. Futuros trabajos podrán darle mayor robustez a este análisis con la inclusión de más especies y poder tener mayor resolución en los clados.

Otro clado que se forma como hermano del Clado II es el Clado III (fig. 6.1), que agrupa individuos de *Cliona euryphylle*. Esta especie posee tilostilos y espirásteres que son robustos muy distintivos. Los individuos de *C. euryphylle* son de colores anaranjado y amarillo. De tres especímenes trabajados, en dos de ellos se tiene la coloración y provienen de la misma localidad (bahía de Mazatlán, México). La separación genética parece indicar que podría tratarse de dos especies distintas en las que la coloración tendría un valor taxonómico. Será necesario analizar más individuos para poder demostrar esta hipótesis, estudiar más detalladamente si existen diferencias morfológicas y comprender cual es la causa de las distintas coloraciones en esta especie. Por el momento, la forma de la microsclera así como la evidencia molecular justifican que *Cliona euryphylle* cambie a un nuevo género. La microsclera posiblemente es una homoplasia morfológica con la familia Spirastrellidae también del orden Clionaida. El análisis morfológico también apoya la separación del clado III formado por *C. euryphylle*, ya que el análisis reconoce la distinción entre

los espirásteres de esta y las otras especies de la familia Clionidae.

El género *Clionaopsis* se incluye en el análisis del marcador COI y su posición esta cercana al clado de *Cliona* (fig. 6.2, clado F). Hasta el momento solo se cuenta con una especie y las diferencias morfológicas son muy notables en comparación con el clado *Cliona*. La propuesta de este trabajo es dejar esta especie como género *Clionaopsis* a la espera de que futuros estudios puedan incluir más especies para reconocer que tan cercano está verdaderamente este género de *Cliona*.

El género *Spiroxya* según evidencia molecular se encuentra muy alejado de todas los demás géneros de la familia Clionidae. Morfológicamente Topsent (1896) describe este género con megascleras con un rango de longitud muy amplio y microscleras de dos tipos, microstrongilos lisos, que recuerdan a los que presenta la especie *Cliona vermifera*, u ornamentados con espinas pequeñas dispuestas a lo largo del cuerpo espiralado. Estos microstrongilos son similares a las espículas presentes en la especie *Alectona pulchella*, de la familia Thoosidae y orden Tetractinellida (Topsent, 1896). Las oxas y los microstrongilos sugieren especies muy distintas a las encontradas en los clados de la familia Clionidae y además la separación mostrada por el marcador 28S sugiere que estas diferencias podrían representar una nueva familia por lo que en este trabajo se trata como tal, reconociendo que la información molecular es poca ya que solo se cuenta con el marcador 28S. Además la información del patrón de excavación y la morfología sugiere que puede ser cercana a *Volzia*. Este último género acompañaría a *Spiroxya* en una posible nueva familia pero sería necesario un análisis morfológico y molecular con un mayor número de especies para poder concluir sobre su posición en la filogenia.

Sobre las especies con formas alfa, beta y gamma, los análisis las colocan en el clado *Cliona* y en *Spheciospongia* (clado II). Además, se corrobora que son variantes morfológicas de una misma especie. Al parecer esta capacidad de crecer en forma endolítica, recubrente o masiva surge de forma independiente en algunas especies. Según lo analizado en este estudio, se presenta la descripción de las familias y de los géneros propuestos.

Los géneros *Dotona* y *Scolopes* se incluyen a pesar de que no ha sido posible trabajar con ellos en este estudio.

Clase Demospongiae

Orden Clionaida Morrow & Cardenas 2015.

Esponjas heteroscleromorfas con tilostilos de megascleras. Oxas también presentes. Variedad de microscleras incluyendo espirásteres, amfiásteres, microxeas, microrhabdes, microstrongilos y derivados. Microscleras pueden estar ausentes. Esqueleto calcáreo basal presente en una familia. Modificado de Morrow & Cárdenas (2015).

Familia Spiroxyae fam. nov.

Esponjas excavadoras con megascleras formadas por oxas principalmente, también hay tilostilos. Las microscleras si están presentes son microstrongilos. Huella de excavación tipo II.

Género *Spiroxya*

Esponja excavadora en forma alfa. Entre sus elementos espiculares está, oxas y tilostilos. Además posee microscleras que son microstrongilos sinuosos que pueden ser lisos u ornamentados.

Género *Volzia*

Esponja excavadora en forma alfa. Sus megascleras son oxas y tilostilos. Las oxas se encuentran en palizada en las papilas mientras que los tilostilos están dispersos en el coanosoma. Las microscleras están ausentes (Rosell & Uriz, 1997).

Familia Clionaidae Grant 1826

Esponjas excavadoras con tilostilos como megascleras principales, en algunos casos oxas o

modificaciones de tilostilos. Las microscleras pueden estar totalmente ausentes o no. Si las microscleras están presentes, se incluye una gran variedad entre ellas, espirásteres, anfiásteres, microxeas y derivados (Rützler, 2002b). Huella de excavación tipo I.

Género *Cliona* (enmendado)

Esponjas excavadoras con forma alfa, beta o gamma. Formadas únicamente por espículas monoaxónicas, las megascleras son tilostilos y sus variaciones (estidos, subtilostilos o ráfides).

Género *Bernatia* Rosell & Uriz 1997 (resucitado y enmendado)

Esponjas excavadoras en forma alfa. La espiculación está dada por tilostilos como megascleras, estos pueden estar en dos rangos de tamaño o uno solo (modificado de la diagnosis original en Rosell & Uriz (1997). Las microscleras son microstrongilos sinuosos lisos.

Género *Pione* Gray, 1867

Esponjas excavadoras en forma alfa. Las megascleras son tilostilos y oxas. Las oxas pueden ser lisas o microespinadas. Las microscleras son microrhabdes que pueden ser rectos o espiralados.

Género *Cliothesa* Topsent, 1905

Esponjas excavadoras en forma alfa. Las megascleras son tilostilos. Las microscleras son amfiásteres que pueden tener las puntas bifurcadas o no. Amfiásteres lisos y nodulosos pueden estar presentes también.

Género *Clionaopsis* (Thiele, 1905)

Esponjas excavadoras en forma beta o gamma. Las megascleras son tilostilos y oxas. Las microscleras son espirásteres (Rützler, 2002b; Thiele, 1905).

Género (Clado I) gen. nov.

Esponjas excavadoras en forma alfa. Las megascleras son tilostilos y variantes de estos (estilos, tilostilos, subtilostilos, tilostilos centrotiles, tilostriangulos). Los tilostilos pueden estar en distintos rangos de tamaño. Las microscleras son raras, si están presentes son espirásteres.

Género *Spheciospongia* (enmendado)

Reconocido en las filogenias de este trabajo como clado II.

Esponjas excavadoras en forma alfa, beta o gama, con o sin placa cribosa. Las megascleras son tilostilos y modificaciones de estos. Las microscleras son espirásteres espinados que pueden ser más o menos alargados y con espinas pequeñas bifurcadas o no.

Género (Clado III) gen. nov.

Esponjas excavadoras en forma alfa, en ocasiones se puede presentar fusión de papilas. Las megascleras son tilostilos y sus modificaciones. Las microscleras son espirásteres espinados robustos.

Género *Dotona* Carter, 1880

Esponjas excavadoras con estilos. Las microscleras principales son microstrongilos curvos, ornamentados con espinación a lo largo del eje. Espículas como amfiásteres, ráfides y strongilos también pueden estar presentes (Rützler, 2002a).

Género *Scolopes* Sollas, 1888

Esponja excavadora con dos tallas de megascleras oxas. Las microscleras son amfiásteres y microstrongilos (Rützler, 2002a).

Antes terminar este capítulo se ve la necesidad de discutir la importancia de una filogenia morfológica per se, y es que es innegable que tiene sus debilidades sin embargo, las filogenias

moleculares no están exentas de puntos débiles (contaminaciones, historias de un gen y no de la especie) y por esto solo son herramientas que nos permiten trabajar sobre hipótesis de similitud parsimoniosas o probables.

Es importante tener en cuenta que al hacer una filogenia morfológica y comparar caracteres de diferentes taxa, se hace una inferencia fuerte sobre caracteres: se está tratando del mismo carácter en todos los taxa. Por ejemplo, las oxas del género *Thoosa*, orden Tetractinellida, son iguales a las oxas del género *Pione*, orden Clionaida. Bajo esta idea subyace una identidad histórica del carácter (Hennig, 1966) que en algunos casos evidentes no se cumple (Goloboff et al. 2006). Un ejemplo es la coloración, que es un carácter generado desde múltiples ancestros o incluso influenciado por simbioses. El problema de la identidad histórica de carácter es propio del análisis de parsimonia y puede estar afectando a distintos niveles taxonómicos los resultados de la filogenia.

Otro presupuesto del análisis cladístico y que resulta un problema concreto al tratar de esponjas excavadoras es que los estados de carácter son discretos. Desde mucho tiempo atrás se dice que no hay criterio válido para dividir datos cuantitativos en estados de carácter discretos y el hacerlo es introducir un artefacto (Swiderski et al. 1998). Las espículas espirásteres por ejemplo poseen una variación continua que pasa por todos los tipos de espirásteres, ¿Como distinguir esa variabilidad y encajarla en un estado de carácter concreto? Esto puede convertirse en un dolor de cabeza y finalmente meter ruido al análisis evitando que sea informativo o que carezca de soporte.

Adicionalmente, en el caso de esponjas excavadoras se presenta la dificultad de reconocer un carácter que sea característico de un clado exclusivo, pues en la mayoría de casos es la combinación de caracteres en un taxón lo que permite reconocerle. Por ejemplo el espiráster de *C. viridis*, distinto al de *C. euryphylle*, separa clados II (*Sphaciospongia*) y III en este trabajo. Sin embargo *Clionaopsis platei* también posee espiráster; la diferencia está en que en esta última hay una combinación de dos tipos de espirásteres.

Todos los puntos expuestos anteriormente hacen dudar de la exactitud del análisis cladístico y algunos piensan que la filogenia morfológica es tan problemática que no debería usarse

más. Después de todo, los avances en técnicas moleculares hacen que sea cada vez más fácil y confiable hasta cierto punto trabajar con cientos de datos moleculares. Lo cierto hasta ahora es que solo la filogenia morfológica podría establecer relaciones con taxa fósiles, o con especímenes de colecciones que fueron obtenidos hace mucho tiempo atrás y no hay más registros (Wiens 2004). La morfología seguirá siendo importante en la comprensión de taxa extintas y vivas, en taxonomía alfa, y en la resolución de resultados moleculares problemáticos (Wiens 2004) o como lo fue en este estudio, un apoyo para establecer hipótesis filogenéticas más robustas a partir de la integración entre morfología y marcadores moleculares.

Referencias

- Barucca, M., Azzini, F., Bavestrello, G., Biscotti, M. A., Calcinai, B., Canapa, A., Cerrano, C. & Olmo, E. (2007). The systematic position of some boring sponges (Demospongiae, Hadromerida) studied by molecular analysis. *Marine Biology*. 151 (2), 529-535.
- Borchiellini, C., Alivon, E. & Vacelet, J. (2004). The systematic position of *Alectona* (Porifera, Demospongiae): a tetractinellid sponge. *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici dell'Università di Genova*. 68, 209-217.
- de Paula, T. S., Zilberberg, C., Hajdu, E. & Lôbo-Hajdu, G. (2012). Morphology and molecules on opposite sides of the diversity gradient: four cryptic species of the *Cliona celata* (Porifera, Demospongiae) complex in South America revealed by mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 62 (1), 529-541.
- Erpenbeck, D., Sutcliffe, P., Cook, S. D. C., Dietzel, A., Maldonado, M., van Soest, R. W., Hooper, J. N. & Wörheide, G. (2012). Horny sponges and their affairs: On the phylogenetic relationships of keratose sponges. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 63 (3), 809-816.
- Escobar, D., Zea, S. & Sánchez, J. A. (2012). Phylogenetic relationships among the Caribbean members of the *Cliona viridis* complex (Porifera, Demospongiae, Hadromerida) using nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 64 (2), 271-284.
- Goloboff, P. A., Mattoni, C. I. & Quinteros, A. S. (2006). Continuous characters analyzed as such. *Cladistics*. 22 (6), 589-601.
- Hennig, W. (1966). *Phylogenetic Systematics*. University of Illinois Press, Chicago.
- Lavrov, D. V., Wang, X. & Kelly, M. (2008). Reconstructing ordinal relationships in the Demos-

pongiae using mitochondrial genomic data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 49 (1), 111-124.

Leal, C. V., de Paula, T. S., Lôbo-Hajdu, G., Schönberg, C. H. & Esteves, E. L. (2016). Morphological and molecular systematics of the *Cliona viridis* complex from South-Eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 96 (2), 313-322.

Morrow, C. & Cárdenas, P. (2015). Proposal for a revised classification of the Demospongiae (Porifera). *Frontiers in Zoology*. 12 (7).

Rosell, D. & Uriz, M. (1997). Phylogenetic relationships within the excavating Hadromerida (Porifera), with a systematic revision. *Cladistics*. 13 (4), 349-366.

Rützler, K. (2002a). Family Alectonidae Rosell, 1996. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 281-290.

Rützler, K. (2002b). Family Clionaidae D'Orbigny, 1851. In: Hooper, J. N. A. & Soest, R. W. M. van (Eds.), *Systema Porifera. A Guide to the Classification of Sponges*. Vol. 1, Springer Academic/Plenum, New York. pp. 173-185.

Soares, A. R., Califano, G., Goncalves, J. M. S., Moitinho-Silva, L. & Costa, R. (Sin publicar). Host-specific profiles and highly diversified microbial dark matter in marine sponge symbiont communities. *GenBank*.

Swiderski, D. L., Zelditch, M. L. & Fink, W. L. (1998). Why morphometrics is not special: coding quantitative data for phylogenetic analysis. *Systematic Biology*. 47 (3), 508-519.

Thiele, J. (1905). Die kiesel-und hornschwämme der sammlung plate. *Zoologische Jahrbücher*. 6, 407-495.

- Topsent, E. (1896). Matériaux pour servir à l'étude de la faune des spongiaires de France. *Memoires de la Societe Zoologique de France*. 9, 113-133.
- Wiens, J. J. (2004). The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic Biology*. 53 (4), 653-661.
- Xavier, J., Rachello-Dolmen, P., Parra-Velandia, F., Schönberg, C., Breeuwer, J. & van Soest, R. (2010). Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolita” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionidae). *Molecular phylogenetics and evolution*. 56 (1), 13-20.

Capítulo 7

Conclusiones

Esta investigación, de forma general ha logrado dar una mayor comprensión a la sistemática de la familia Clionidae. El trabajo realizado comprueba el valor taxonómico de los caracteres morfológicos de esta familia y se comprueba la utilidad de los marcadores 28S, y COI especialmente para generar filogenias que sugieran clados monofiléticos. De forma más específica, se han obtenido las siguientes conclusiones,

1. Se comprueba el valor taxonómico que tienen los elementos espiculares de las esponjas, y aunque actualmente la morfología externa tiene importancia taxonómica en algunas especies, este no es un carácter válido en su sistemática.
2. Este estudio apoya los trabajos previos que han sugerido que las huellas de erosión poseen un valor taxonómico a nivel de familia o u orden.
3. Se describe el complejo *Cliona mucronata* con dos nuevas especies, *C. mariae* para el Pacífico oriental y *C. yorkin* en el mar Caribe. Además de la especie *C. mucronata* restringida al Indo-Pacífico y que futuros estudios en esta región deberán comprobar si se trata de una o dos especies por la presencia de individuos con y sin espirásteres. Esto se logró gracias a la integración entre morfología y marcadores moleculares que estableció la variación intra- en

inter-especie.

4. Se proponen tres candidatos a complejos de especies: el complejo *C. ampliacavata*, el *C. californiana*, y el *C. vermifera* debido a que se detectaron diferencias morfológicas y moleculares entre individuos de la misma especie entre diferentes regiones. Esto se muestra particularmente en el caso de *C. vermifera*, especie considerada cosmopolita. En este trabajo se estudiaron especímenes del Pacífico tropical, mar Caribe y mar Mediterráneo, y la evidencia obtenida hace pensar que los procesos de especiación, en no pocas ocasiones, generan una reducida o nula variación morfológica en los pocos caracteres con valor taxonómico que tienen las esponjas.
5. Se propone una nueva familia formada por el género *Spiroxya* y posiblemente *Volzia* los cuales comparte grandes similitud espiculares. El análisis de más individuos será necesario para comprobar esta hipótesis. En este trabajo, la evidencia se presenta en la separación que muestra el marcador 28S entre *Spiroxya* y las demás clionaides. Además, la huella de erosión también es distinta al tipo encontrado en las otras especies de la familia Clionaidae.
6. Se propone la resurrección del género *Bernatia*, originalmente creado para la especie *Cliona vermifera* en el mar Mediterráneo, y que aquí se enmienda para incluir los especímenes del Pacífico y Caribe.
7. Se propone enmendar el género *Sphaciospongia* (clado II) caracterizado por el tipo de espiculación y no tanto por su morfología externa. La evidencia de los marcadores moleculares sugiere que las áreas cribosas, hasta ahora características de este género, no lo separan de otras especies con una morfología externa distinta. Sin embargo, incluir más especies además de la especie tipo de este género, será necesario para clarificar la conformación de este nuevo género.
8. Se propone sinonimizar el género *Cervicornia* dentro de *Sphaciospongia*, así como otras especies del género *Cliona* por la similitud de los espirásteres y la evidencia de los marcadores 28S y COI. Se descarta que la morfología de *Cervicornia* tenga un valor taxonómico que

justifique estar un género separado. Esta propuesta estaría supeditada a los estudios que se realicen en un futuro con el género *Sphaciospongia*.

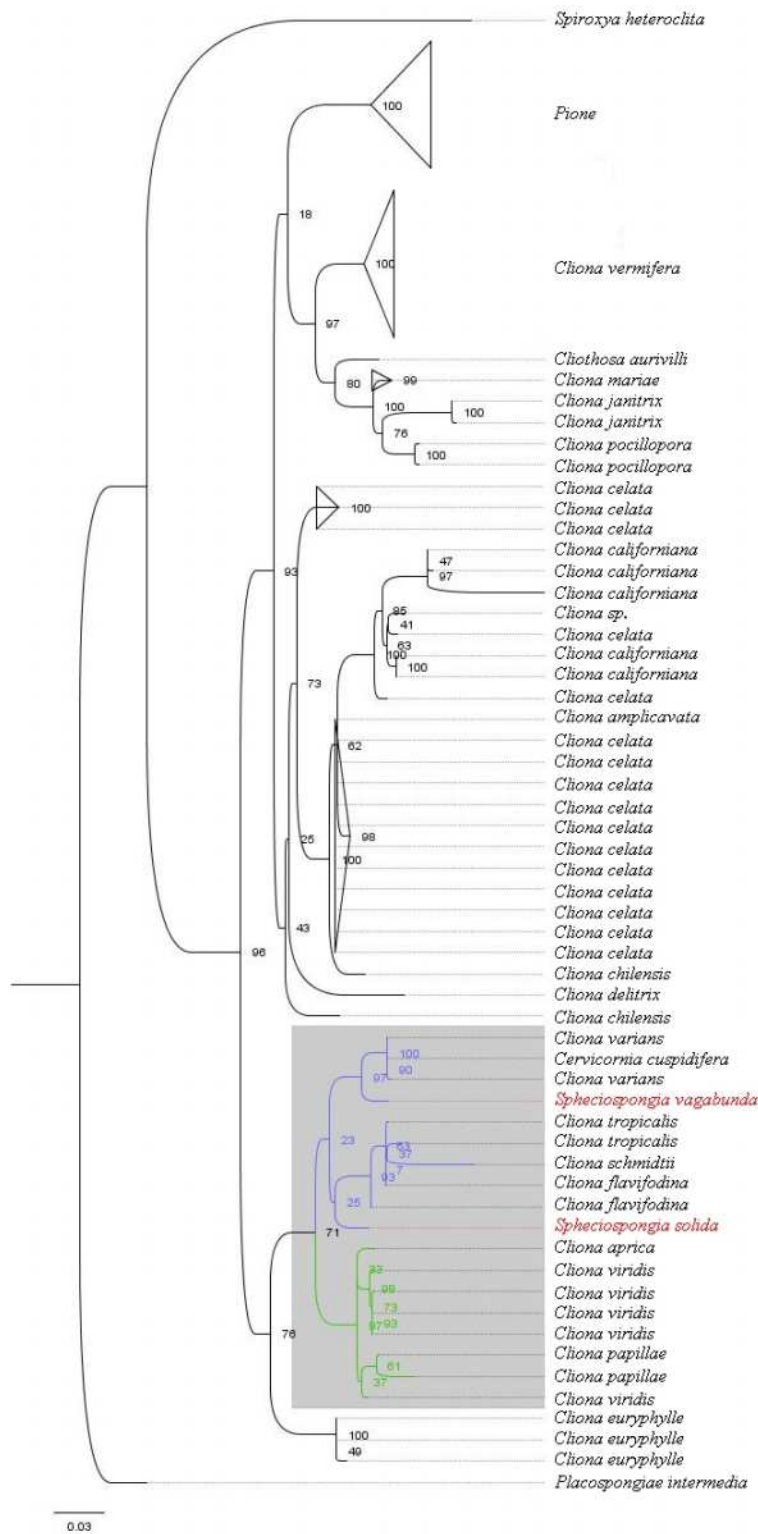
9. Se propone un nuevo género (clado I) basado en evidencias morfológicas y moleculares, formado por especies con variaciones en sus tilostilos y sin microscleras, o si estas están presentes, son muy escasas.
10. Se propone un nuevo género (clado III), formado por *Cliona euryphyllae*, especie que a su vez podría tratarse de otro complejo de especies basado en la evidencia molecular y morfológica. Las microscleras presentes en esta especie remiten a las formas que están en la familia Spirastrellidae y posiblemente sea un carácter homoplásico.

Algunos géneros quedan fuera del alcance de este estudio y se mantienen en la sistemática actual. En resumen y según la propuesta que podría derivar de este trabajo, la familia Clionidae quedaría integrada por los géneros *Cliona*, *Bernatia*, *Clionaopsis*, *Cliothesa*, *Dotona*, *Pione*, *Scolopes*, *Sphaciospongia*, clado I, y clado III. Los géneros *Spiroxya* y *Volzia* podrían ser incluidos en una nueva familia distinta a Clionidae.

La tesis abre nuevos horizontes en lo que respecta a complejos de especies, géneros y familias, trabajos futuros enfocados en estos campos serán necesarios para evacuar las dudas que aún persisten en la sistemática y filogenia de las esponjas excavadoras.

Apéndice

- .1. Filogenia de la región D2-28S.



Filogenia de máxima verosimilitud de la región D2 - 28S. Se sombrea el clado II que a su vez se divide en dos subclados (azul y verde). Las especies del género *Spheciospongia* aparecen en rojo.

- .2. Pacheco et al. 2018. Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and faunistic record.**



<https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.5.1>

<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:88C1C5A7-3C4E-416D-A716-D8B3D62E720D>

Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and a faunistic record

CRISTIAN PACHECO^{1,2}, JOSÉ LUIS CARBALLO¹, JORGE CORTÉS²,
 JOHANNA SEGOVIA³ & ALEJANDRA TREJO³

¹ Instituto en Ciencias del Mar y Limnología (ICMYL), Universidad Nacional Autónoma de México. Av. Joel Montes Camarena. Cerro del Vigía, C.P. 82040, Mazatlán, Sinaloa, México. E-mail: cristian.pachecosolano@gmail.com

² Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), Universidad de Costa Rica, San Pedro, 11501-2060 San José, Costa Rica.

³ Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad de El Salvador, San Salvador, El Salvador.

Table of contents

Abstract	452
Introduction	452
Material and methods	453
Results	454
Taxonomic accounts	454
Systematics	454
Order Clionaida Morrow & Cárdenas, 2015	454
Family Clionaidae d'Orbigny, 1851	454
Genus <i>Cliona</i> Grant, 1826	454
<i>Cliona amplicavata</i> Rützler, 1974	454
<i>Cliona californiana</i> Laubenfels, 1932	457
<i>Cliona euryphylle</i> Topsent, 1888	459
<i>Cliona microstrongylata</i> Carballo & Cruz-Barraza, 2005	462
<i>Cliona</i> aff. <i>mucronata</i> Sollas, 1878	463
<i>Cliona pocillopora</i> Bautista-Guerrero, Carballo, Cruz-Barraza & Nava, 2006	467
<i>Cliona tropicalis</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011	468
<i>Cliona vermifera</i> Hancock, 1867	468
Genus <i>Cliothosa</i> Topsent, 1905	471
<i>Cliothosa tylostrongylata</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011	471
Genus <i>Pione</i> Gray, 1867	473
<i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i> (Hancock, 1867)	473
<i>Pione mazatlanensis</i> Hancock, 1867	474
Order Astrophorida Sollas, 1888	476
Family Thoosidae Rosell and Uriz, 1997	476
Genus <i>Thoosa</i> Hancock, 1849	476
<i>Thoosa calpulli</i> Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004	478
<i>Thoosa mismalolli</i> Carballo, Cruz Barraza & Gómez, 2004	481
Order Haplosclerida Topsent, 1928	483
Family Phloeodictyidae Carter, 1882	483
Genus <i>Siphonodictyon</i> Bergquist, 1965	483
<i>Siphonodictyon crypticum</i> (Carballo, Hepburn, Nava, Cruz-Barraza & Bautista-Guerrero, 2007)	483
Discussion	484
Aknowledgements	488
References	489

Abstract

Excavating sponges are one of the main groups of bioeroders in coral reefs. Their diversity has been thoroughly studied in some regions: in the Caribbean, the Mediterranean, and the Indo-Pacific, including the Mexican Pacific. However, there is a lack of information from the Pacific of Central America, with only a few records from Panama and Costa Rica. This study provides additional distributional records and taxonomic descriptions of species collected between 2011 and 2016 at nine localities along the Pacific coast of El Salvador, Nicaragua, Costa Rica and Panama. A total of fourteen species of excavating sponges from three orders, three families, and five genera are considered valid in this area. Nine are new records for Central America, six are new records for El Salvador, three are new records for Nicaragua and eleven are new records for Costa Rica. The species collected from Panama were already recorded before. The species here described are *Cliona amplicavata*, *Cliona californiana*, *Cliona euryphylle*, *Cliona microstrongylata*, *Cliona* aff. *mucronata*, *Cliona pocollopora*, *Cliona tropicalis*, *Cliona vermifera*, *Cliothosa tylostrongylata*, *Pione* cf. *carpenteri*, *Pione mazatlanensis*, *Thoosa calpulli*, *Thoosa mismalolli* and *Siphonodictyon crypticum*. We also reviewed the literature related to excavating sponges from Central America, and the taxonomic status of respective species was updated. We provide a faunistic record of 14 excavating sponge species for Central America. Our data are expected to be useful for management and conservation purposes.

Key words: Bioerosion, Porifera, taxonomy, descriptions, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panama, faunistic record

Introduction

Excavating sponges play a significant role in shaping reef environments and are one of the main agents involved in the bioerosion and carbonate cycling of coral reefs (Alvarado *et al.* 2017; Schönberg *et al.* 2017). These endolithic organisms are capable of excavating structures of calcium carbonate such as coral skeletons. Corals are often eroded at their bases, which causes them to break off and may incur their death, but can also enhance coral dispersal (Goreau & Hartman 1963; Tunnicliffe 1979; Nava & Carballo 2016). Excavating sponges can also produce large quantities of fine sediments (Goreau & Hartman 1963; Fütterer 1974; Acker & Risk 1985). Some species are able to attack and kill live corals (Acker & Risk 1985; López-Victoria *et al.* 2006; Chaves-Fonnegra & Zea 2007). However, they are not only important on coral reefs, but have also large impact as pest organisms in mollusk fisheries and cultures (e.g. Fromont *et al.* 2005; Carroll *et al.* 2015) and as resource for marine metabolites for drug discovery (e.g. Jefford *et al.* 2004; Reegan *et al.* 2015). The ability to recognize and distinguish the different species in this group of sponges and to know where they occur is thus essential.

Moreover, some recent reports may indicate that the abundance of excavating sponges increases in changing environments (Ramsby *et al.* 2017). Some factors that contribute to the establishment or enhancement of these sponges on coral reefs include physical damage that generates exposed calcareous substrates, eutrophication, and coral bleaching (Carballo *et al.* 2008a; Schönberg & Ortiz 2009; Schönberg *et al.* 2017). All these impacts take place in Eastern Tropical Pacific region (ETP) as a result of tourism (Cortés & Reyes-Bonilla 2017) and El Niño-Southern Oscillation (Glynn *et al.* 2017). Therefore we need to understand the baseline conditions with respect to excavating sponges in the ETP and whether their diversities and abundances change.

Most of the excavating sponges in the ETP are small and cryptic (Alvarado *et al.* 2017). The cryptic life style and the complex taxonomy of excavating sponges often led the omission of excavating sponges in evaluations, monitoring and restoration projects (Díaz & Rützler 2001; Schönberg 2015). The small size of the species in the ETP means that they have even fewer than usual conspicuous macro-characteristics such as structures on larger papillae, and often their color cannot adequately be assessed. The taxonomically more important characters of the excavating sponges in the ETP are microscopic, such as a large variety of spicule types and morphologies (Carballo *et al.* 2008a) and the patterns of their excavations (Calcinai *et al.* 2004). The need to assess their taxonomy almost exclusively at microscopic level makes ETP excavating sponges difficult to work with.

Presently the records for ETP excavating sponges are still patchy and mostly restricted to the Mexican Pacific (see species listed in Alvarado *et al.* 2017; Schönberg *et al.* 2017). There are only very few reports on excavating sponges from the Pacific of Central America, and these are restricted to Costa Rica and Panama (e.g. Scott *et al.* 1988; Cortés 1992; Vega 2012). These records were provided by researchers with little taxonomic experience for sponges, and we reviewed their lists with respect to the taxonomy of the species. Boury-Esnault *et al.* (1999) described *Spirastrella sabogae* in the Pacific of Panama, this species is considered as excavating sponge by

Schönberg *et al.* (2017) but we do not include it in our study until further analysis clarify its excavating role. The present paper is the first that taxonomically describes excavating sponge species from El Salvador, Nicaragua, Costa Rica and Panama.

Material and methods

This study was conducted on nine coral reefs of four countries: in El Salvador—Los Cóbano; in southern Nicaragua—La Flor Wildlife Refuge; in Costa Rica—Bahía Salinas, Bahía Culebra and Playa Matapalo (northern region), Playa Mantas (central coast), Isla del Caño (south), and Isla del Coco (Cocos Island); and in Panama—Taboga Island in the Gulf of Panama (Fig. 1). The study spans a distance of almost 1500 km along the Pacific of Central America coast and additionally incorporates an oceanic island 500 km off Costa Rica. The region furthermore includes the Pacific Central American Faunal Gap (CAFG, ca. 1000 km coastline), a biogeographic divergence that has few rocky areas and coral reef habitats with the exception of Los Cóbano and other isolated rocky points in El Salvador (Cortés 2007).



FIGURE 1. Map of the present study sites in the Pacific of Central America, indicating where the samples were collected.

Excavating sponges were collected by SCUBA using a hammer and chisel to remove them with attached substrate or by picking up coral fragments from the bottom. Samples were taken specifically with excavating sponges and evidence of bioerosion within. They were stored at 96% ethanol. The laboratory work was conducted in the Center for Research in Marine Science and Limnology (CIMAR), University of Costa Rica (UCR), Institute of Marine Science and Limnology (ICMARES), University of El Salvador and the Institute of Marine Sciences and Limnology (ICMYL), and the National Autonomous University of México (UNAM).

Each substrate fragment was investigated for a range of taxonomic information relating to the excavating sponges such as type of substratum and color in vivo of the sponges. Sponge tissue was subsampled using fine tweezers, and spicules were prepared on the slide with 6 % sodium hypochlorite for light microscopy. Spicules were discarded after viewing. For scanning electron microscopy (SEM) another small piece of sponge tissue was cut along with some substrate and placed in a test tube. Nitric acid (68 %) was added, and the sample boiled with a burner until the fragment was dissolved. After 10 minutes at less, the acid was removed pipette it off, the sample was rinsed once with distilled water and was then dehydrated with absolute ethanol. After resuspending the spicules, they were applied to and dried on a slide for SEM observations.

Maximum length and width of spicules (at least with a N=25) were measured under a light microscope (CH30RF100, Olympus, Japan) using a micrometer eyepiece and a micrometer slide as reference for its units. The measurements are presently displayed as ranges in micrometers, where the first values are the lengths and the

second the widths of spicules. Average and standard deviation are presented as well. In cases where spicule size was comparatively uniform, we used just the average of the measurements and the standard deviation.

Specimens were deposited in the Zoology Museum, University of Costa Rica (MZUCR-UCR), Center for Research in Marine Science and Limnology (CIMAR), University of Costa Rica, the Institute of Marine Science and Limnology, University of El Salvador (ICMARES-UES-CI) or in the Institute of Marine Sciences and Limnology, UNAM (ICMYL).

Recent, detailed descriptions are available for all species that we sampled (Carballo *et al.* 2004; Bautista-Guerrero *et al.* 2006; Carballo *et al.* 2008a; Cruz-Barraza *et al.* 2011). We therefore provided only short descriptive accounts and taxonomic decisions, and we focused on previous records and distributions. Based on our own and literature data distribution maps were provided for every species listed. We constructed our maps using ArcGIS, a platform driven by the geographic information system and provided by esri (<http://www.esri.com>), accessed on January 20, 2017). The maps, as well as all figures, were edited with PhotoFiltre 7 (Cruz 2017).

Results

Taxonomic accounts

Systematics

Order Clionaida Morrow & Cárdenas, 2015

Family Clionaidae d'Orbigny, 1851

Genus *Cliona* Grant, 1826

Synonymy. See Soest *et al.* (2016).

Diagnosis. Excavating sponges in different morphologies, but primarily in alpha and beta growth forms (excavating chambers in calcium carbonate, communicating only through papillae with ambient water). Some species occurring in beta morphology by merging of papillae and forming coherent surface crusts in addition to endolithic tissue. Very few known as free-living sponges in gamma form. Some gamma morphologies attaining large, irregular-massive or cup shapes. No known endopsammic morphologies. Megascleres as tylostyles, Microscleres mostly spirasters and derivates, in some species slim raphides as accessory spicules, but never of structural importance. Spirasters straight, bent, kinked, or spiralling spiny rhabds, including amphiasterose forms clearly derived from true spirasters; extreme forms may be entirely smooth (adapted from Rützler 2002).

Cliona amplicavata Rützler, 1974

Material examined. MZUCR.368: Bahía Salinas, 15 m, 3.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.CU.12: Bahía Culebra, 3 m, 28.VI.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR.369: Playa Mantas, 3 m, 11.IV.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR 370, MZUCR 372: Playa Mantas, intertidal, 16.IX.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.LF.01: Reserva La Flor, 3 m, 14.II.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Alpha morphology, discrete, circular papillae, no tendency for merging observed, 0.5–1 mm in diameter. Live color ochre.

Excavation. Multicamerare erosion with oval chambers, separated by walls commonly about 200 µm thick (Fig. 2A). Largest observed chamber 4.6 x 3.6 mm. Sponge-generated erosion scars forming continuous pitting on chamber walls, pits sharp-edged and 36–90 mm in diameter (Fig. 2B).

Spicules. Megascleres tylostyles in two size classes, with the larger roughly twice as long as the shorter. Larger type slightly curved at mid-shaft, with well-formed tyles, often slightly subterminal. Smaller type slightly curved in lower third, with strongly displaced, subtle tyles, or styles. Microscleres thin, hastate raphides, slightly curved mid-

shaft. Spicule dimensions: tylostyles 115–282 μm (\bar{x} =229.6, σ =37.4) \times 1–7.5 μm (\bar{x} =5.2, σ =1.9); styles 80–156 μm (\bar{x} =121, σ =17.0) \times 2.5–4.5 μm (\bar{x} =3.7, σ =0.8), raphides 65–140 μm (\bar{x} =89.6, σ =18.2) (Fig. 3).

Ecology. Found in massive and branching corals: in live *Pavona gigantea* Verrill, 1869, and in fragments of dead *Porites lobata* Dana, 1846 and *Pocillopora* sp., between 3 and 15 m depth.

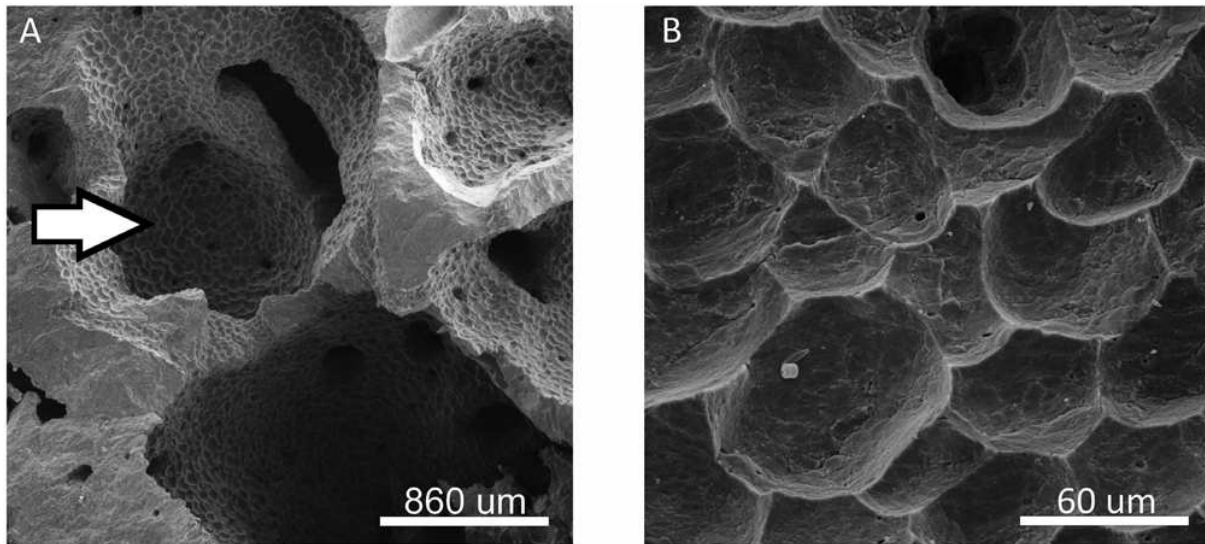


FIGURE 2. *Cliona amplicavata* bioerosion. A) Chamber of excavation (arrow) and B) sponge scars in form of wall pitting of the erosion chambers.

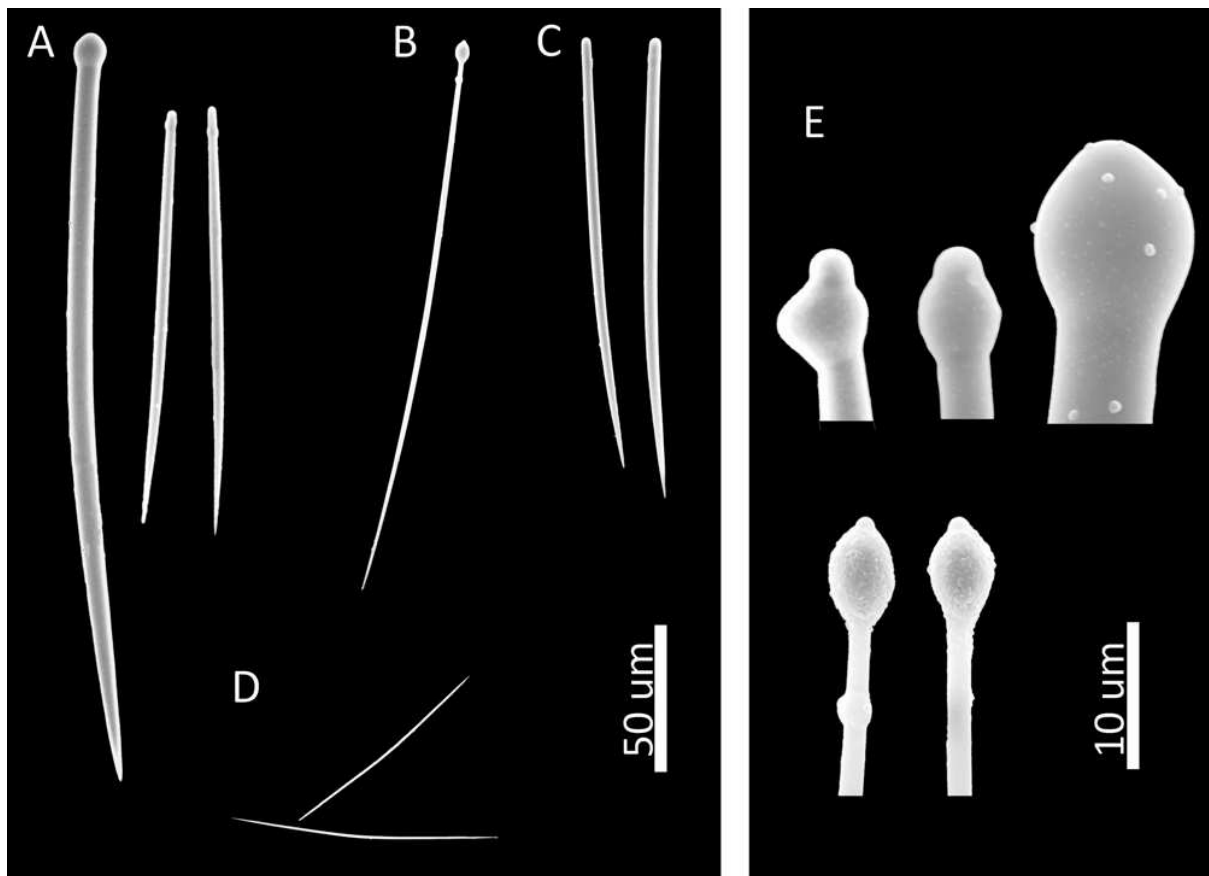


FIGURE 3. Spicules of *Cliona amplicavata*: A) tylostyles and derivates in two size classes, B) immature tylostyle, C) styles, D) raphides, E) enlarged heads of tylostyles.



FIGURE 4. Distribution of *Cliona amplicavata* in the study area.

Distribution and previous records. The species was described by Rützler (1974) from Bermuda, growing in dead *Diploria* sp. and *Montastrea* sp., and is also known from the Caribbean (Rützler *et al.* 2014) and the Gulf of Mexico (Ugalde *et al.* 2015). Accounts from the Mediterranean (Rosell & Uriz 2002) are considered as inaccurate (Soest *et al.* 2016). Carballo *et al.* (2004) first reported *C. amplicavata* in the ETP, found along the Mexican coast, excavating *Pocillopora* sp. and mollusk shells (Carballo *et al.* 2008a, 2008b). This distribution range is presently extended for the Pacific to Central America: Nicaragua and Costa Rica (Fig. 4).

Remarks. Only few *Cliona* species have a spicule complement combining tylostyles and raphides, including *C. amplicavata*, *Cliona dissimilis* Ridley & Dendy, 1886, *Cliona raphida* Boury-Esnault, 1973, and maybe erroneously *Cliona* cf. *celata* Grant, 1826 (e.g. Schönberg 2000; discussed in Rosell & Uriz 2002). It is presently not known whether raphides in some *Cliona* species represent immature stages of tylostyles or are raphides in the true sense (e.g. Custódio *et al.* 2002). Therefore, the taxonomic value of raphides remains uncertain for some clionoids. However, the regular and size-uniform appearance of the thin oxate spicules in our samples suggested that here they signified a separate spicule type.

We presently exclude *C. cf. celata* sensu Schönberg (2000) from further considerations. While this species also occurs in the Pacific and has very similar spicule dimensions, as well as erosion traces with several chambers, it does not have tylostyles in two size classes. *C. dissimilis* is also an Indo-Pacific species with similar, if possibly slightly larger tylostyles than in our material, but it has consistently been described as being dark orange or bright red and in beta growth (Ridley & Dendy 1886; Fromont *et al.* 2005). Fromont *et al.* (2005) did not report tylostyles in two size classes. The Atlantic *C. raphida* was described as brown and appears to have larger tylostyles and shorter raphides than in our West Pacific specimens (Boury-Esnault 1973). Again, *C. raphida* is not known for two sizes of megascleres. Tylostyle dimensions from our material best resemble those of *C. amplicavata* from Bermuda and the Gulf of Mexico (Rützler 1974; Ugalde *et al.* 2015), and Mexican Pacific sponges conspecific with our

samples were previously identified as *C. amplicavata* (Carballo *et al.* 2004, 2008a; Vega 2012). However, after closer inspection it became clear that the specimens from Bermuda had tylostyles with a slightly larger size range (Rützler *et al.* 2014). In addition, *C. amplicavata* erosion traces were described to consist of predominantly single, large erosion chambers, not well matching our observations. However, while this was not noted in the original description, *C. amplicavata* appears to have two size classes of tylostyles (see Fig. 22 in Rützler 1974). The Mediterranean *Cliona adriatica* Calcinaï *et al.*, 2011 has tylostyles and styles like in our material, with the smaller styles forming the external skeleton, the palisade (Calcinaï *et al.* 2011). We have not confirmed the distribution of the different spicule types in our samples, but the spicule dimensions of *C. adriatica* appear too large to match our material, and it was not reported to have raphides. Its excavation chambers are also smaller than those in our samples.

At this stage *C. amplicavata* is the best taxonomic match with our material. Some characters in our samples were not quite as originally described, with the Pacific material being ochre, the Atlantic material yellow, and the Pacific papillae and erosion chambers comparatively small and raphides short. However, discrepancies were not very strong, and they can be explained with morphologic plasticity that can be caused by different environmental conditions (Rosell & Uriz 1991; Bavestrello *et al.* 1993; Hill 1999). The occurrence of two size classes of megascleres in Atlantic (Fig. 22 in Rützler 1974) and Pacific specimens (Carballo *et al.* 2004; Ugalde *et al.* 2015) compelled us to follow the earlier examples and to identify our sponges as *C. amplicavata*.

The present decision would suggest that *C. amplicavata* crossed the isthmus, which may have occurred by opening the Panama Canal. This is however not a common occurrence (Laubenfels 1936), and a previous molecular study on excavating sponges in this area identified separate cryptic species rather than conspecificity of sponge populations on the Atlantic and Pacific sides of Central America (e.g. Boury-Esnault *et al.* 1999). Future studies should include molecular analyses to confirm or reject this possibility (see Nichols & Barnes 2005).

***Cliona californiana* Laubenfels, 1932**

Material examined. MZUCR.373, CIMAR.BS.24: Bahía Salinas, entre 10 y 21 m, 3.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.CU.11: Bahía Culebra, 8 m, 28.VI.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.LF.02: Reserva La Flor, 5 m, 14.II.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Can occur in beta and gamma morphologies (Carballo *et al.* 2004), but recently only recorded in alpha form. Discrete, circular papillae protruding above substrate, 0.8–2.5 mm in diameter. Live color yellow.

Excavation. Multicamerare erosion. Chambers on average 1 mm in diameter (Fig. 5A), irregular in shape, occasionally fusing. Erosion scars on chamber walls 30 to 66 µm in diameter, with very subtle circular ridges and sharp edges (Fig. 5B).

Spicules. Megascleres tylostyles and derivates, straight or slightly curved mid-shaft, tyles as a rule slightly subterminal, displaced more strongly in immature tylostyles (Fig. 6). Derivates as subtylostyles or styles. No microscleres. Tylostyle dimensions: 125–306 µm (\bar{x} =232, σ =48.3) x 2–10 µm (\bar{x} =6.3, σ =1.5). Dimensions of subtylostyles or styles: 100–205 µm (\bar{x} =153, σ =35.6) x 3.8–8 µm (\bar{x} =4.4, σ =1.5).

Ecology. The specimens were found in dead massive and branching corals of *Pavona* sp. and *Pocillopora* sp. between 5 and 21 m depth.

Distribution and previous records. Laubenfels (1932) found this species in California, United States, boring in shells and dead barnacles. Later, it was located in the Gulf of California, Mexico under the names *Pseudosuberites pseudos* (Dickinson 1945; Hofknecht 1978) and *C. celata* (Green & Gómez 1986). This species is very common in the Mexican Pacific and especially in the northern Sea of Cortez (Carballo *et al.* 2004, 2008a; Vega 2012). In this study we report it for the first time from the Pacific coast of Nicaragua and Costa Rica (Fig. 7).

Remarks. *C. californiana* is a member of the *C. celata* species complex. This group is taxonomically difficult, because only tylostyles occur, which are similar in shape and size among different species (Schönberg *et al.* 2006). Carballo *et al.* (2004) earlier unraveled the taxonomy and various reports for *C. californiana* that were published under different names (see above) and redescribed the species in much detail. We therefore only provided a short description in addition to our distributional record.

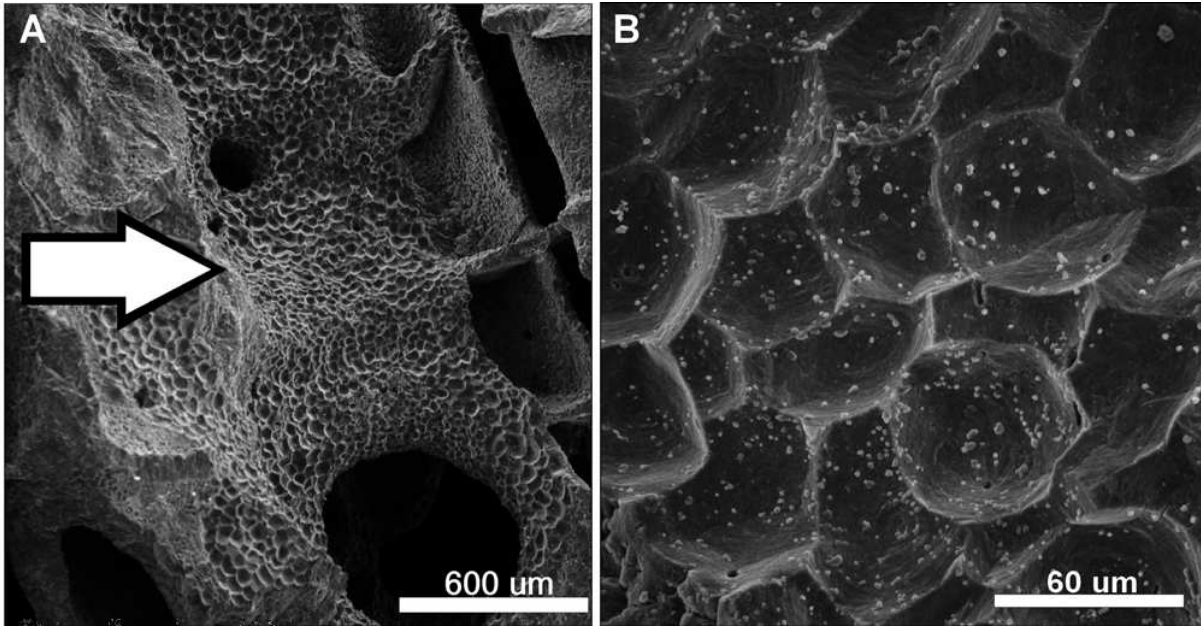


FIGURE 5. *Cliona californiana* bioerosion. A) Erosion chamber (arrow) and B) erosion scars.

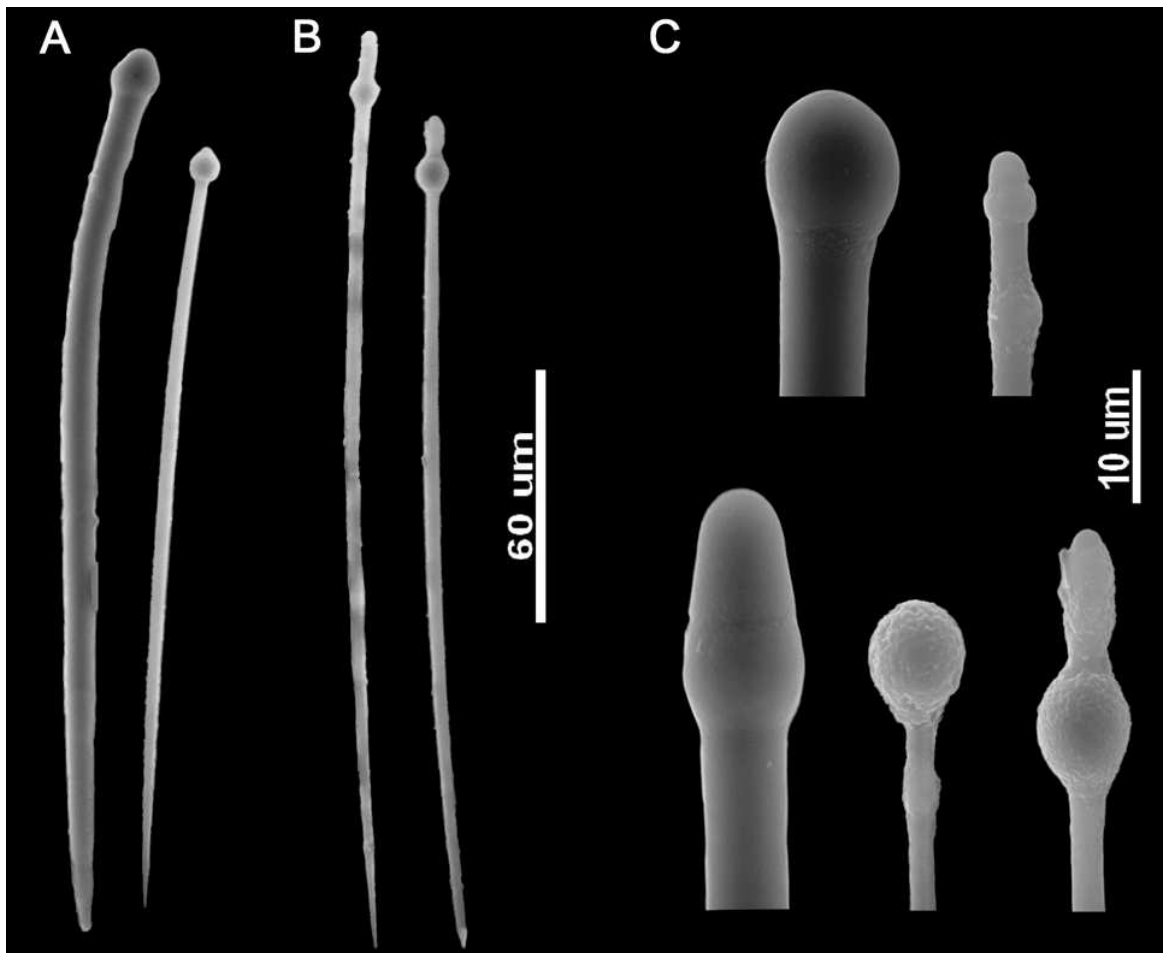


FIGURE 6. Spicules of *Cliona californiana* in alpha morphology: A) tylostyle, B) immature, subterminal tylostyles, C) enlarged heads of tylostyles.



FIGURE 7. Distribution of *Cliona californiana* in the study area.

Cliona euryphylle Topsent, 1888

Material examined. MZUCR.180: Isla del Caño, 4 m, 1984, coll. Jorge Cortés Núñez. MZUCR.374: Bahía Salinas, 20 m, 8.XII.2010, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.PL.04: Playa Mantas, 4 m, 11.IV.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Only in alpha morphology. Circular papillae protruding above substrate, 3 mm in diameter. Live color orange.

Excavation. Multicamerate erosion. Ovoid chambers between 1 and 2.5 mm in diameter (Fig. 8A). Diameters of sponge erosion scars ranging from 28 to 70 μm , with subtle circular ridges and sharp edges (Fig. 8B).

Spicules. Megascleres subtly curved tylostyles with pronounced tyles (Fig. 9). Tyles round to oval and often slightly subterminal. Microscleres robust spirasters with discrete or bi-split, conical spines, in helical distribution on convex shaft sides or in amphisterose distribution at shaft ends. Most spirasters short and commonly straight, but S-shaped and longer, helical forms occur (Fig. 9). Tylostyle dimensions 120–300 μm (\bar{x} =201, σ =48.3) x 5–8 μm (\bar{x} =6.7, σ =1.4). Spirasters dimensions 9–24 μm (\bar{x} =18, σ =4.1) x 2–7 μm (\bar{x} =4.7, σ =1.6).

Ecology. Found in dead *Pavona* sp. and *P. lobata* between 4 and 20 m depth.

Distribution and previous records. The species was described by Topsent in 1888 from the southern Gulf of Mexico. A report by Bergquist (1968) from New Zealand and by Laubenfels (1954) in the Central Pacific may or may not be conspecific with *C. euryphylle*. In the last decade Carballo *et al.* (2004, 2008a) and Vega (2012) have reported the species along the Pacific shores of Mexico. Here we extend the species distribution and present the first record for Costa Rica and for the Mesoamerican Pacific (Fig. 10).

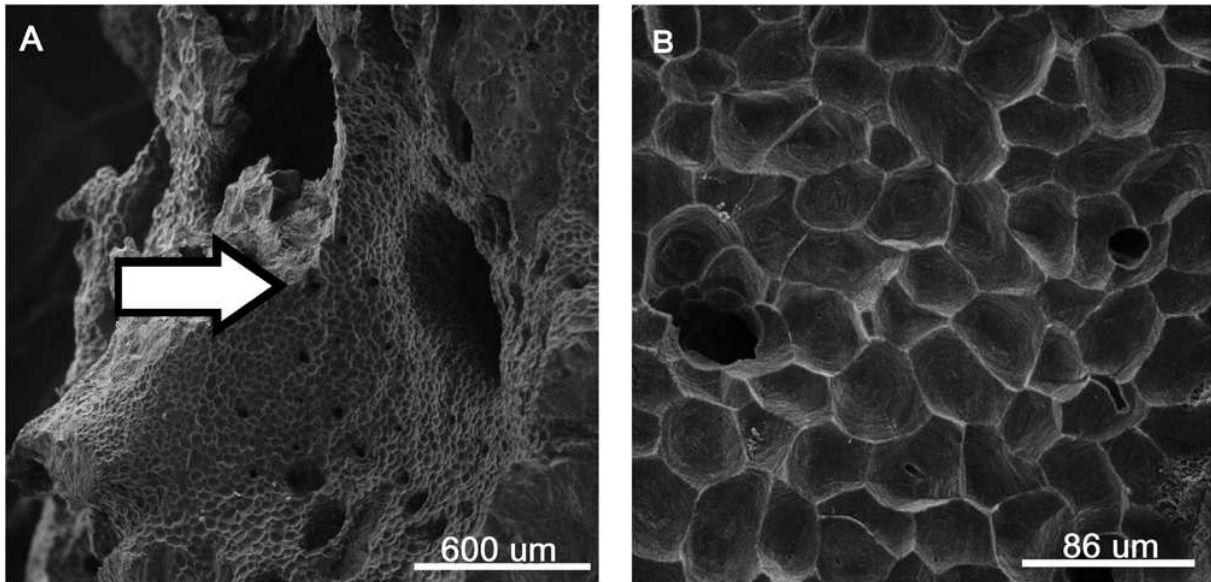


FIGURE 8. *Cliona euryphylla* bioerosion. A) Erosion chamber (arrow) and B) erosion scars.

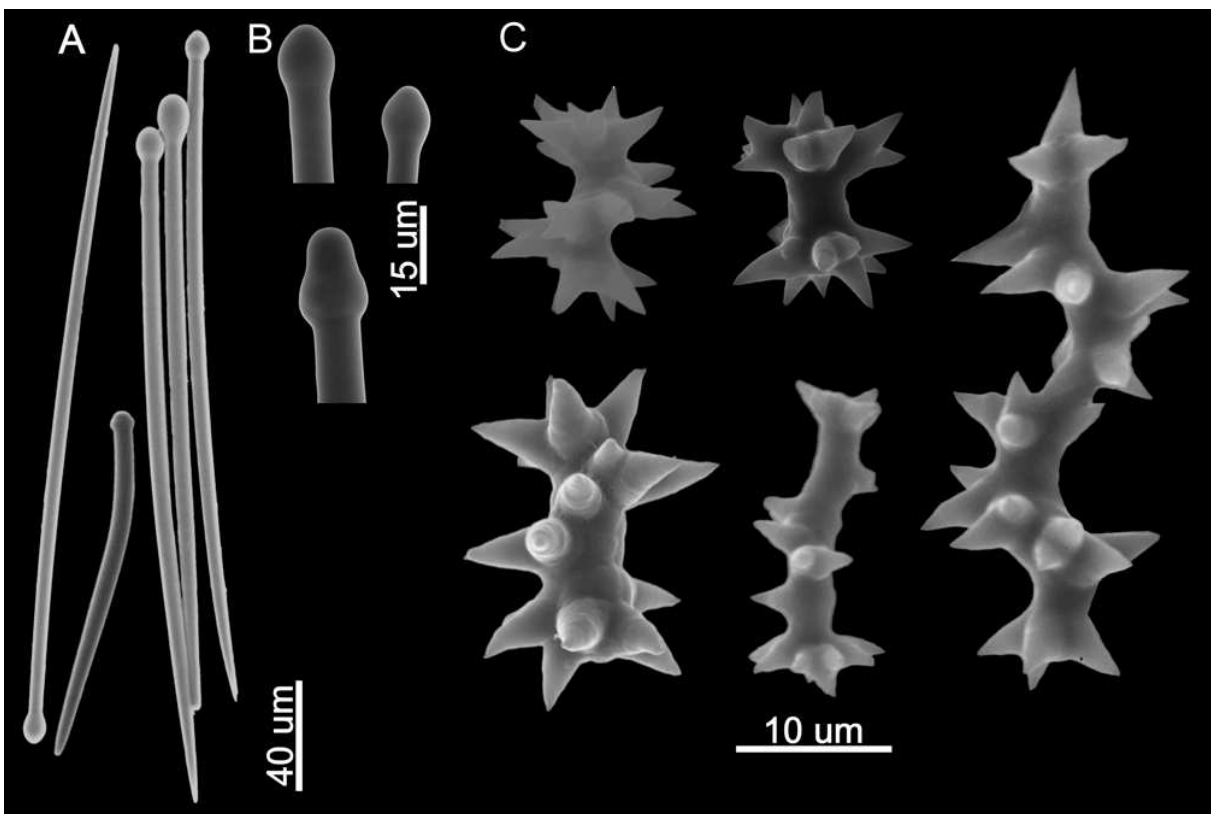


FIGURE 9. Spicules of *Cliona euryphylla*: A) tylostyles, with one short derivate, B) morphologic variation of heads of tylostyles, C) morphologic variations of spirasters.

Remarks. *C. euryphylla* appears to be the morphologically most similar known species that best compares to our material. However, it was originally described from the other side of the Mesoamerican isthmus (Topsent 1888), and thus earlier reports of this species from the Pacific have been regarded as inaccurate (Soest *et al.* 2016). Bergquist's (1968) account from temperate New Zealand may not be for *C. euryphylla*, because it concerns a sponge

with a spiraster crust, which was not mentioned by Topsent (1888); but he did list such crusts for other species in other publications. Bergquist erroneously assumed *C. euryphylla* to be of East Pacific origin, and her material should be re-assessed. Laubenfels' (1954) report of *C. euryphylla* from the Micronesian Pohnpei lacks in detail, so that no adequate comparison can be made based on that publication, but he listed other, presently recognized species with a similar spicule complement, namely the Mediterranean *Cliona burtoni* Topsent, 1932, and *Cliona aethiopicus* Burton, 1932 from the Gulf of Guinea. The spicule dimensions of *C. burtoni* and *C. aethiopicus* fit into the size range provided above (Burton 1932; Topsent 1932), but like *C. euryphylla* these two species occur in the wrong ocean, were sampled at even larger distance from the present study sites than *C. euryphylla*, and are here tentatively disregarded as possible conspecifics. *C. burtoni* also differs from our material by having different tyle and spiraster shapes (Topsent 1932; Bertolino *et al.* 2013). *C. aethiopicus* has not been reported by anyone since the original description. Another similar species is *Cliona caledoniae* Soest & Beglinger, 2009, but its tylostyles are larger than in the present samples, and its spirasters not as variable (Soest & Beglinger 2009). It is a cold-temperate Atlantic species and unlikely to be a taxonomic match.

C. euryphylla has previously been reported from the Mexican Pacific by Carballo *et al.* (2004), and we presently follow their taxonomic decision. We assume that the species may have crossed the isthmus via the Panama Canal. However, future studies should include molecular analyses comparing *C. euryphylla* from both sides of the isthmus to assess whether they are really conspecific or represent cryptic species as have been distinguished during earlier studies when comparing morphological similar sponges of the Mesoamerican Pacific and Atlantic (Boury-Esnault *et al.* 1999).



FIGURE 10. Distribution of *Cliona euryphylla* in the study area.

Cliona microstrongylata Carballo & Cruz-Barraza, 2005

Material examined. ICMYL.Cmi.45.IB: Isla Bolaños, Bahía Salinas, Costa Rica, 8 m, 4.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Cmi.31.PL: Playa Mantas, Costa Rica, <3 m, 23.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Cmi.37.PL: Playa Mantas, Costa Rica, <3 m, 23.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. Los Cobanos, ICMARES.UES.CI.70: Playa Las Veraneras, Los Cóbano, El Salvador, <3 m, 25.X.2016, coll. Alejandra Trejo, det. José Luis Carballo.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. No observations available on distribution and sizes of papillae. Live color orange.

Excavation. Samples too small to assess bioerosion traces.

Spicules. Megascleres slightly curved tylostyles, microscleres kidney- or C-shaped microstrongyles (Fig. 11). Tylostyle dimensions: 122–284 μm (\bar{x} =176.2, σ =39.4) \times 2.2–9.7 μm (\bar{x} =5.4, σ =2.4). Microstrongyle dimensions: 14.9–29.7 μm (\bar{x} =20.7, σ =4.7) \times 2.6–16.6 μm (\bar{x} =7.4, σ =4.2).

Ecology. Found in dead shells and coral skeleton of *Pocillopora* sp., between 3 and 8 m depth.

Distribution and previous records. The species was originally described (Carballo & Cruz-Barraza 2005) and was again observed from the Gulf of California (Carballo *et al.* 2008b; Vega 2012). It is presently reported for the Pacific of El Salvador and Costa Rica (Fig. 12). This new record extends the distribution of this species.

Remarks. Due to the characteristic kidney-shaped microstrongyles *C. microstrongylata* is easy to identify. It has only recently been described in detail (Carballo & Cruz-Barraza 2005), and we provided only a short taxonomic account to illustrate the present identification.

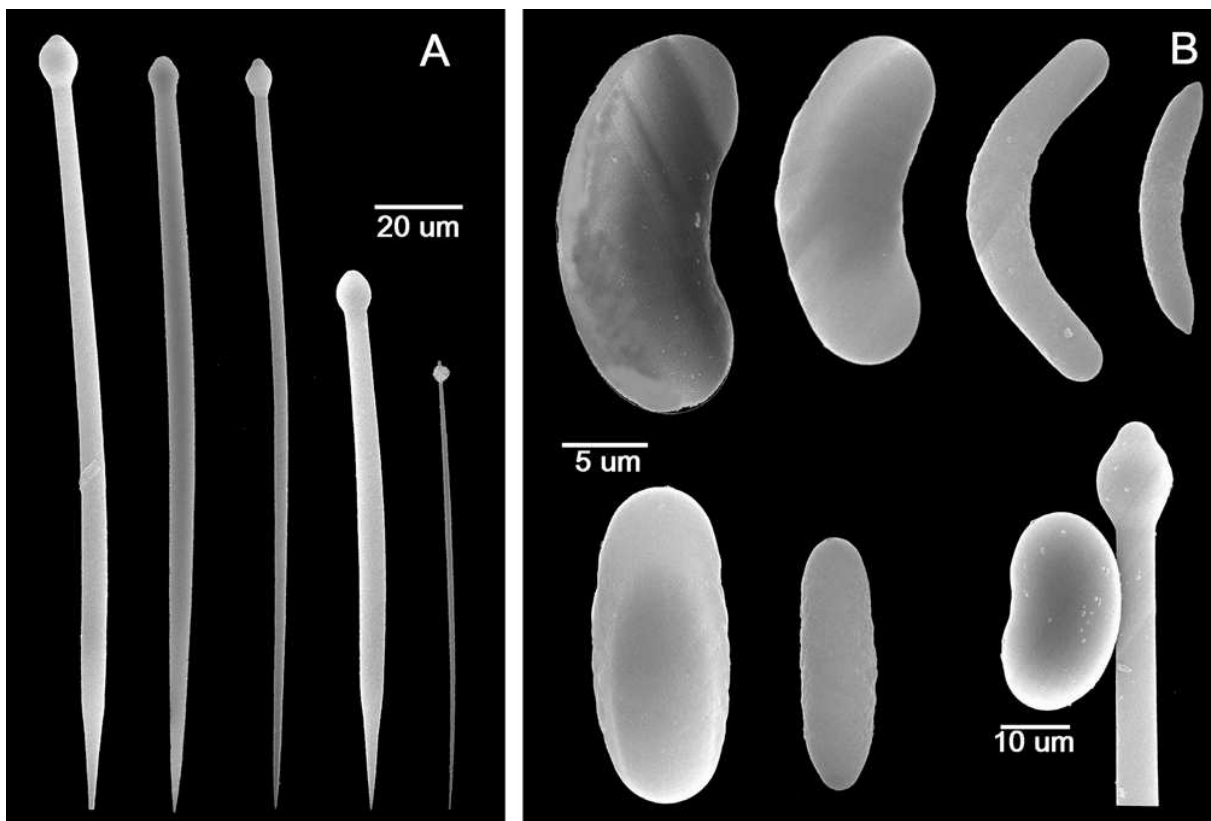


FIGURE 11. Spicules of *Cliona microstrongylata*: A) tylostyles in different sizes, and B) microstrongyles and one enlarged head of tylostyle.



FIGURE 12. Distribution of *Cliona microstrongylata* in the study area.

***Cliona* aff. *mucronata* Sollas, 1878**

Material examined. CIMAR.BS.SA01, CIMAR.BS.11, CIMAR.BS.19: Bahía Salinas, 16 m. 8.XII.2010, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.BS.21, CIMAR.BS.22, CIMAR.BS.23, CIMAR.BS.25, CIMAR.BS.26, CIMAR.BS.50, CIMAR.BS.52, CIMAR.BS.53: Bahía Salinas, 8 to 20 m, 3.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.CU.05, CIMAR.CU.09(II), CIMAR.CU.09(III), CIMAR.CU.09(IV), CIMAR.CU.09(V), CIMAR.CU.05, CIMAR.CU.08, CIMAR.CU.14: Bahía Culebra, 8 to 15 m. 21.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.CU.120, CIMAR.CU.123, CIMAR.CU.127, CIMAR.CU.200, CIMAR.CU.201, CIMAR.CU.210/1, CIMAR.CU.191(I), CIMAR.CU.191(II), CIMAR.CU.191(III), CIMAR.CU.191(IV), CIMAR.CU.191(V): Bahía Culebra, 8 to 15 m, 18.VI.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.IC.21, CIMAR.IC.32: Isla del Caño, 10 m, 12.II.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.IT.01: Isla Taboga, Panama, 1 m, 10.I.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Circular papillae with average diameter of 330 µm. Live color orange.

Excavation. Multicamerate erosion. Chambers with average diameter of 1 mm and occasionally fused. Comparatively smooth erosion scars with sharp edges, between 24 and 66 µm in diameter, smallest scars at passages of exploratory threads (Fig. 13).

Spicules. Megascleres as tylostyles (Fig. 14). Two types of tylostyles: I. larger and slimmer type slightly curved in upper half, tyles usually subterminal, and II. shorter ensiform to mucronate type, slightly curved or straight, tyles also subterminal. No microscleres observed. Spicule dimensions for tylostyle I: 92.5–247 µm

(\bar{x} =132.9, σ =23.9) x 1.0–10.0 μ m (\bar{x} =2.9, σ =0.9). Spicule dimensions for tylostyle II: 27.5–115 μ m (\bar{x} =78.7, σ =11.1) x 1–17.5 μ m (\bar{x} =4.4, σ =1.6).

Ecology. Excavating dead and living coral *Pavona* sp. Furthermore eroding dead *P. lobata* and *Pocillopora* sp. Also found excavating mollusk shells. Occurring between 1 and 20 m depth.

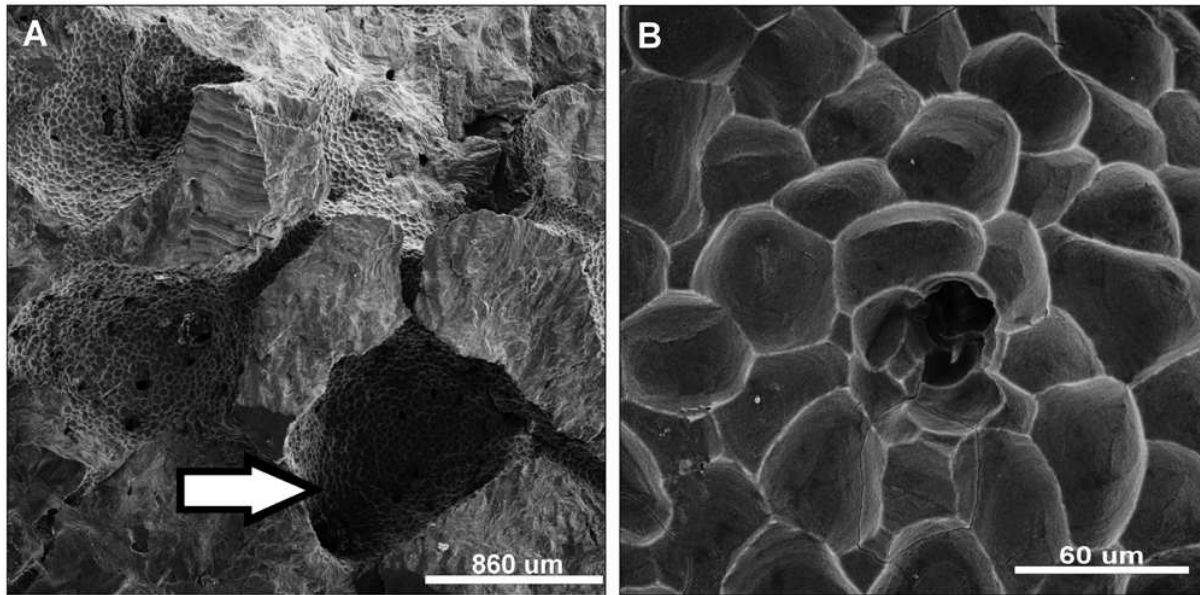


FIGURE 13. *Cliona* aff. *mucronata* bioerosion. A) Erosion chamber (arrow) and B) erosion scars.

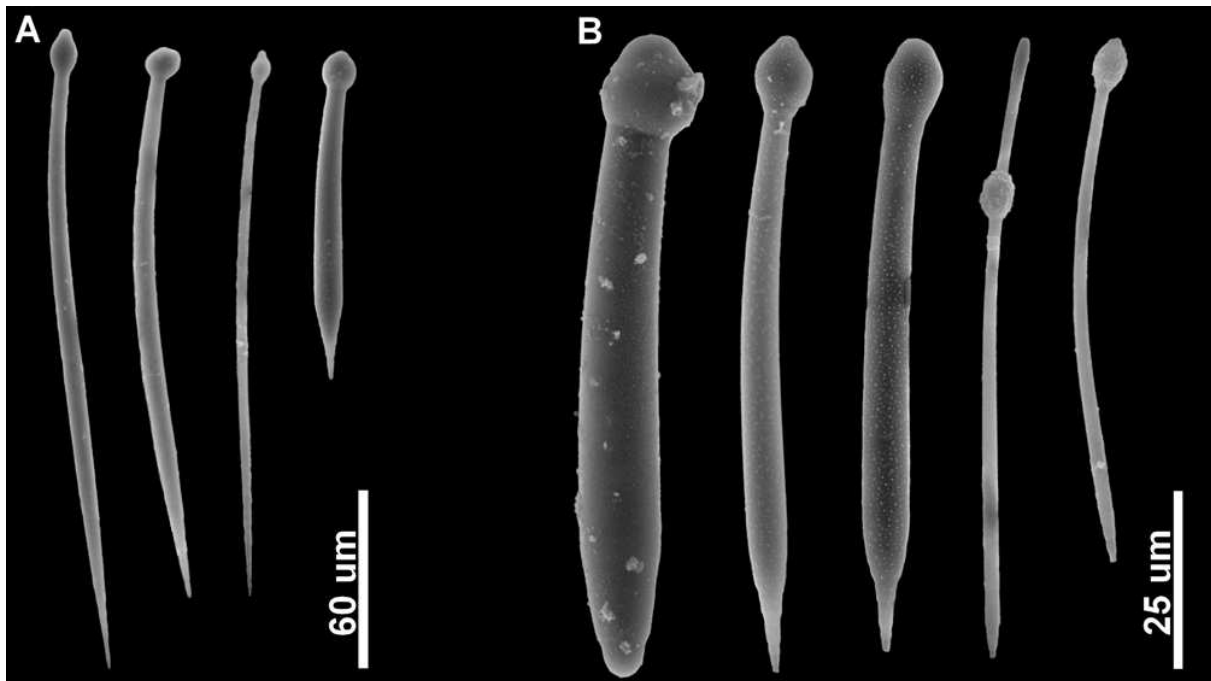


FIGURE 14. Spicules of *Cliona* aff. *mucronata*: A) spicular variation of large tylostyles and one short tylostyle, B) short, ensiform tylostyles, with two immature stages.

Distribution and previous records. *Cliona mucronata* was originally described by Sollas (1878) excavating the calcareous skeleton of the soft coral *Isis* sp., but the sample site was not specified. Later accounts for this species were usually for the Indo-Pacific (Vacelet & Vasseur 1971; Thomas 1972; Desqueyroux-Faúndez 1981;

Calcinai *et al.* 2000). Later records became available from other locations, placing the species at the shores of mainland Mexico, the Revillagigedo Archipelago, Mexico and the Caribbean Sea (Bautista-Guerrero *et al.* 2006; Carballo *et al.* 2008a, 2008b; Rützler *et al.* 2014; Vega 2012). The spicule morphology in some of these more recent accounts, however, suggested that some records may have been different from *C. mucronata* sensu stricto, but may be in better congruence with our material. Like Vega (2012), this study reports *C. aff. mucronata* from Costa Rica and Panama (Fig. 15).



FIGURE 15. Distribution of *Cliona aff. mucronata* in the study area.

Remarks. *C. mucronata* is a well-established, easy to identify and fully accepted clionaid species with a wide distributional range (Soest *et al.* 2016), even if the type location remains unknown (Sollas 1878; see Schönberg *et al.* 2017). However, due to spicule characters some recent reports under this name may not be regarded as conspecific and were partly conditioned with the insertion of “cf.,” indicating an uncertain identification (Vacelet & Vasseur 1971; Bautista-Guerrero *et al.* 2006; Carballo *et al.* 2008a, 2008b; Rützler *et al.* 2014; Vega 2012). In typical representatives of the Indo-Pacific spirasters were reported (e.g. Thomas 1972; Calcinai *et al.* 2000), but not in the above accounts or from our samples. Moreover, the shape of the shorter tylostyle appears to differ between some of these publications and implies the existence of an unresolved species complex. Due to these potential differences, we consider our specimens as being in close affinity to, but more likely different from *C. mucronata* in the strict sense, and we used the qualification “aff.”

Our specimen characters appear to differ from Sollas’ (1878) account, but match those of the previously published Mexican samples (Bautista-Guerrero *et al.* 2006). Exact matching of material will be difficult, but should be attempted due to the common occurrence of this species in the ETP.

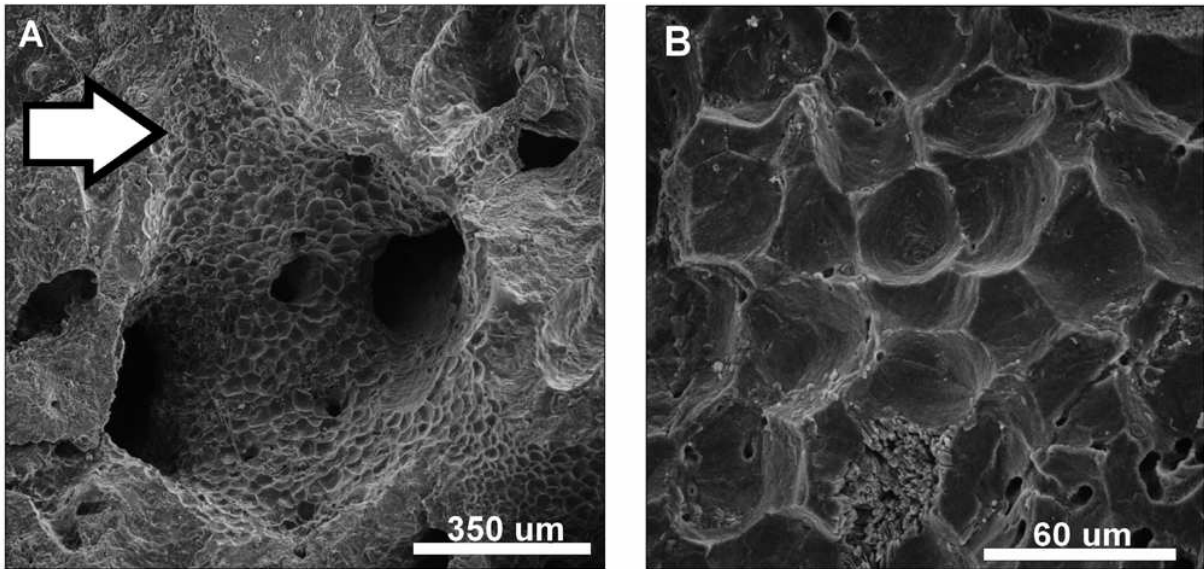


FIGURE 16. *Cliona pocillopora* bioerosion. A) Erosion chambers (arrow) and B) erosion scars.

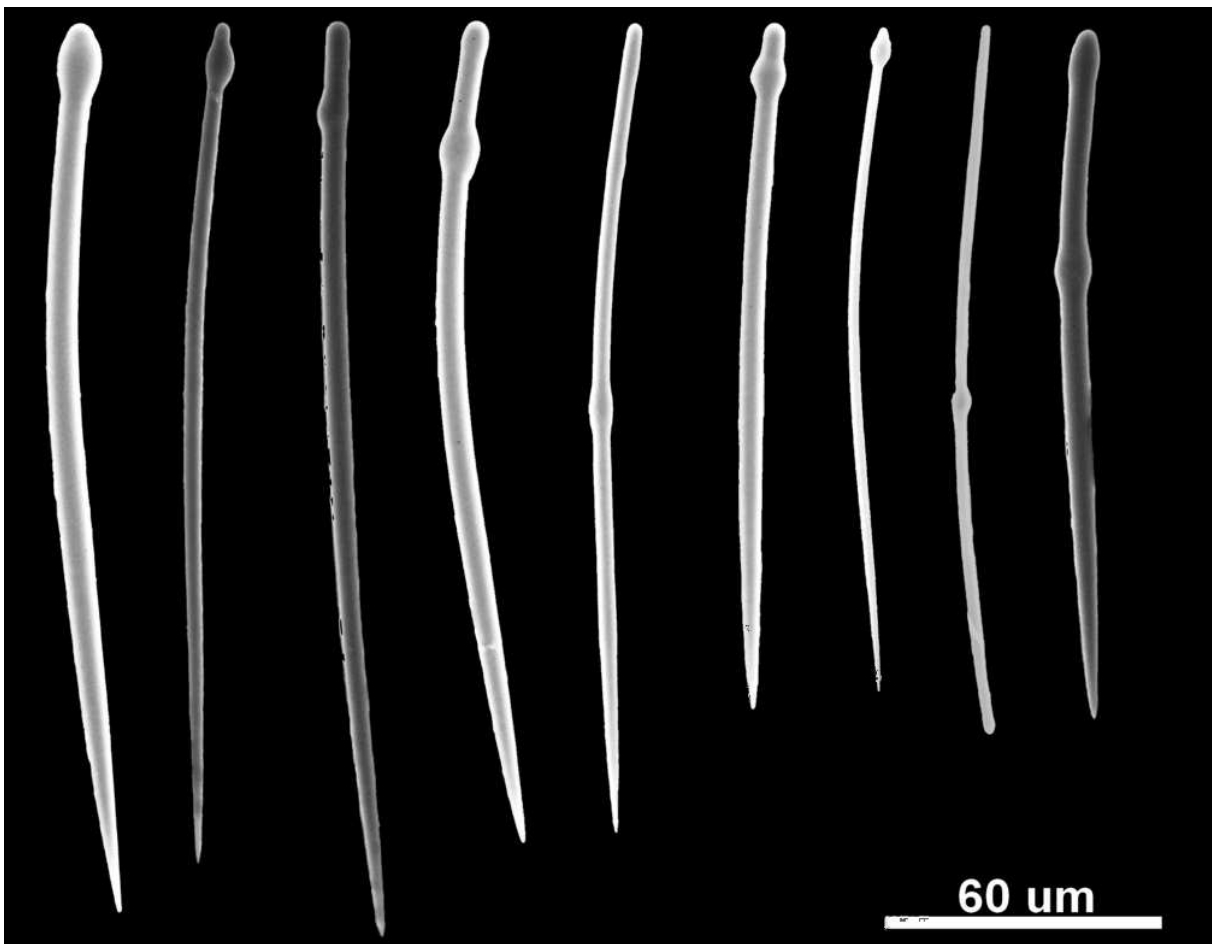


FIGURE 17. Spicules of *Cliona pocillopora*: morphological variations of tylostyles, with subterminal or displaced head.

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

Material examined. MZUCR.375: Parque Nacional Isla del Coco, 14 m, 4.XI.2011, coll. Jeffrey Sibaja Cordero. Cpo.23.E: Playa Esmeralda, Bahía Salinas, 5 m, 18.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMARES.UES.CI.69: Playa el Faro, Los Cóbanos, El Salvador, <3 m, 24.X.2016, coll. Alejandra Trejo, det. José Luis Carballo.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Small circular papillae on average 600 µm in diameter. Live color not recorded.

Excavation. Multicamerate erosion. Chambers with average diameter of 860 µm (Fig. 16A). Erosion scars 15–66 µm in diameter, with occasional circular ridges and sharp edges (Fig. 16B).

Spicules. Megascleres as small tylostyles and derivates, mostly with subterminal tyles, occasionally far displaced or duplicated, forming tylostyles, tylostrongyles, subtylostyles, and sometimes centrotylote derivates (Fig. 17). Tylostyle dimensions: 72–253 µm (\bar{x} =146.7, σ =48.0) x 2–16 µm (\bar{x} =6.8, σ =3.3).

Ecology. Found in *Pavona* sp. at 14 m depth.

Distribution and previous records. The species was described from the Mexican Pacific (Bautista-Guerrero *et al.* 2006) and again reported from the same area (Carballo *et al.* 2008a). The present specimen was collected at Isla del Coco, off Costa Rica and in El Salvador (Fig. 18). Our findings represent a new record for Central America, in particular for El Salvador and Costa Rica.

Remarks. As this species was only recently described in good detail (Bautista-Guerrero *et al.* 2006), we only provided a short taxonomic account. The tylostyles of *C. pocillopora* are comparatively short for a clionaid sponge and characteristic in shape, making this identification easy to perform.

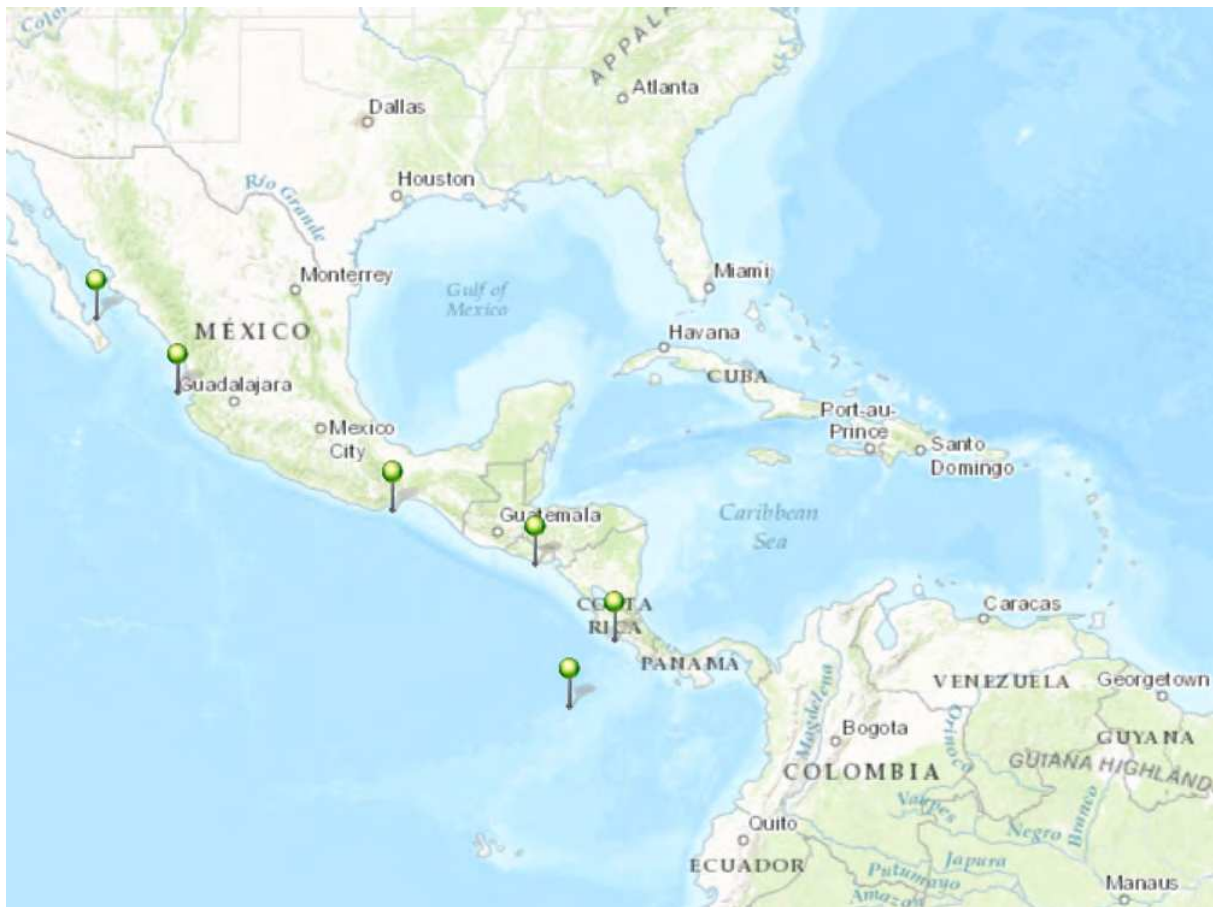


FIGURE 18. Distribution of *Cliona pocillopora* in the study area.

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

Material examined. ICMYL.Ctr.133.FS: Bahía Culebra; 3 m, 19.XII.2012. coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology and excavation. Material not sufficient to allow reliable description of external characters, erosion patterns or spicule sizes. Even so the species was recognized by the types of spicules.

Spicules consisting of megasclere tylostyles and microsclere spirasters, not pictured, see Cruz-Barraza *et al.* (2011) for further details.

Ecology. Found in dead *Pocillopora* sp. at 3 m depth.

Distribution and previous records. The species has previously been observed to occur along the Pacific coast of Mexico (Cruz-Barraza *et al.* 2011; Vega 2012; Baja California, Oaxaca, Revillagigedo and Marias Islands). Scott *et al.* (1988) reported the morphologically similar *Cliona viridis* Schmidt, 1862 from Costa Rica, which however has to be assumed to be an erroneous identification and may possibly have been *C. tropicalis*. Lacking access to their material, we cannot confirm this assumption, and thus this publication is likely the first record for *C. tropicalis* occurring in Costa Rica (Fig. 19).

Remarks. The material available for the present publication relied on only one specimen, which was too small to allow data collection for a full description. The identification was confirmed by the second author who has prior experience with this species and was an author on the original description (Cruz-Barraza *et al.* 2011).

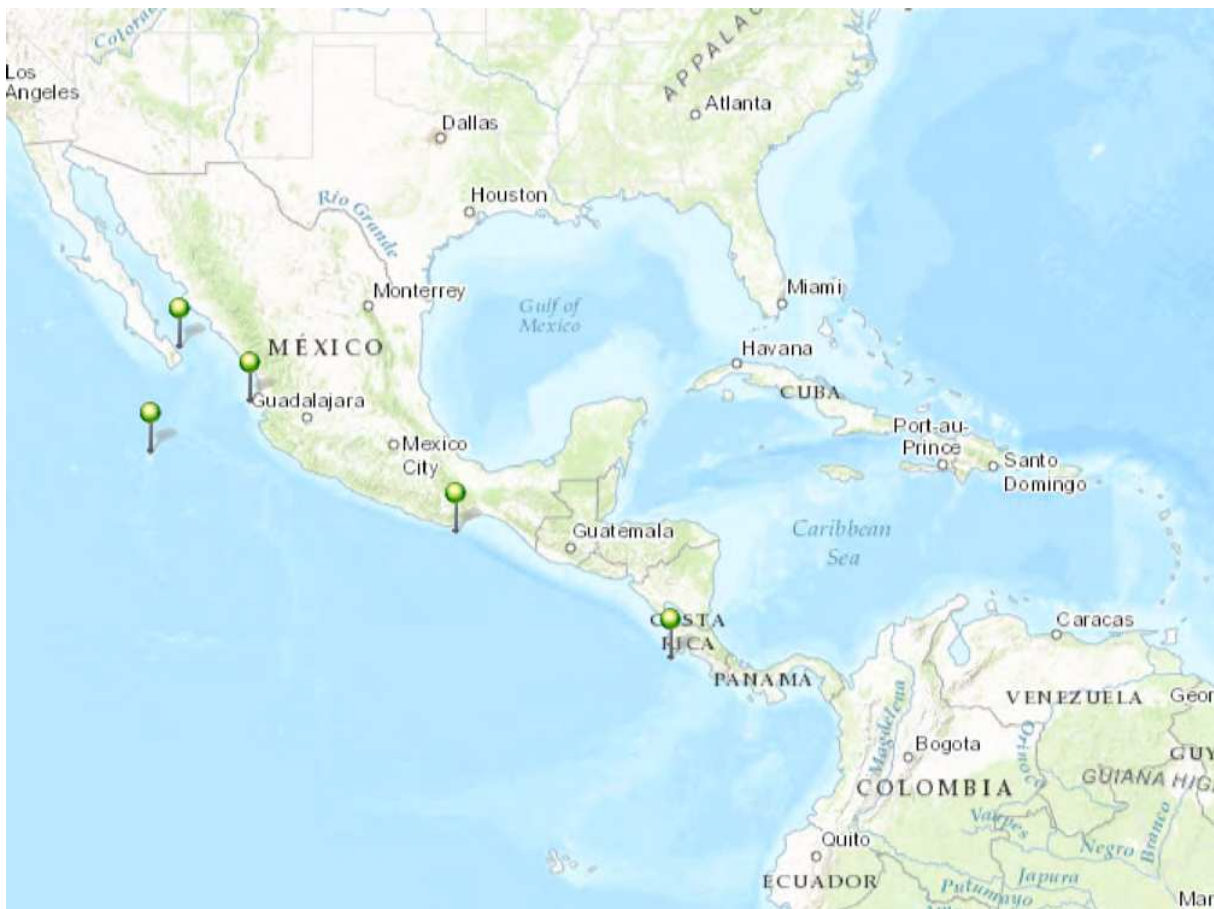


FIGURE 19. Distribution of *Cliona tropicalis* in the study area.

***Cliona vermifera* Hancock, 1867**

Material examined. CIMAR.CU.06, CIMAR.CU.8(I), CIMAR.CU.09(I), CIMAR.CU.09(IIa) MZUCR.381: Bahía Culebra, 10m, 21.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. CIMAR.CU.122, CIMAR.CU.123,

CIMAR.CU.200, CIMAR.CU.201: Bahía Culebra, 10 m, 28.VI.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR.383, MZUCR.384, CIMAR.IC.21.1, CIMAR.IC.34.1: Isla del Caño, 5 m, 12.II.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. N/A: Playa el Faro, Los Cóbanos, El Salvador, <3 m, 1-X-2016, coll. Sofía Solorzano, det. José Luis Carballo.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Circular papillae 1 mm in diameter. Live color orange.

Excavation. Erosion multicamerate. Oval or irregular chambers with diameters of 1 to 3 mm, occasionally fused. Erosion scars 35–53 μm in diameter, very smooth, with sharp edges (Fig. 20).

Spicules. Megascleres as tylostyles in two size classes, microscleres helical rods (Fig. 21). Tylostyle dimensions: 100–294 μm (\bar{x} =195.1, σ =54.8) x 1–12 μm (\bar{x} =5.3, σ =3.0). Spiraster dimensions: 25–65 μm (\bar{x} =41.9, σ =9.8) x 1–12 (\bar{x} =3.9, σ =1.6) μm .

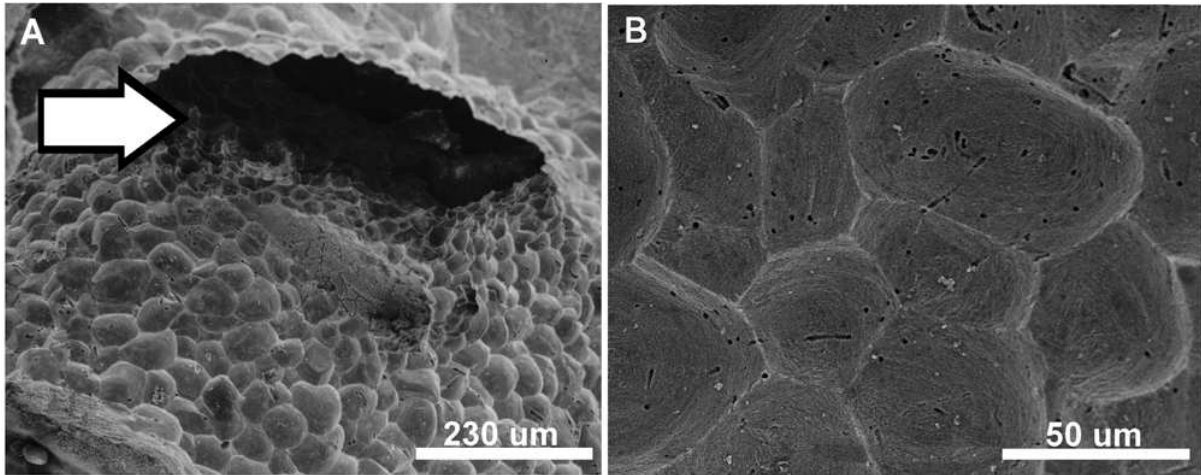


FIGURE 20. *Cliona vermifera* bioerosion. A) Erosion chamber (arrow) and B) erosion scars.

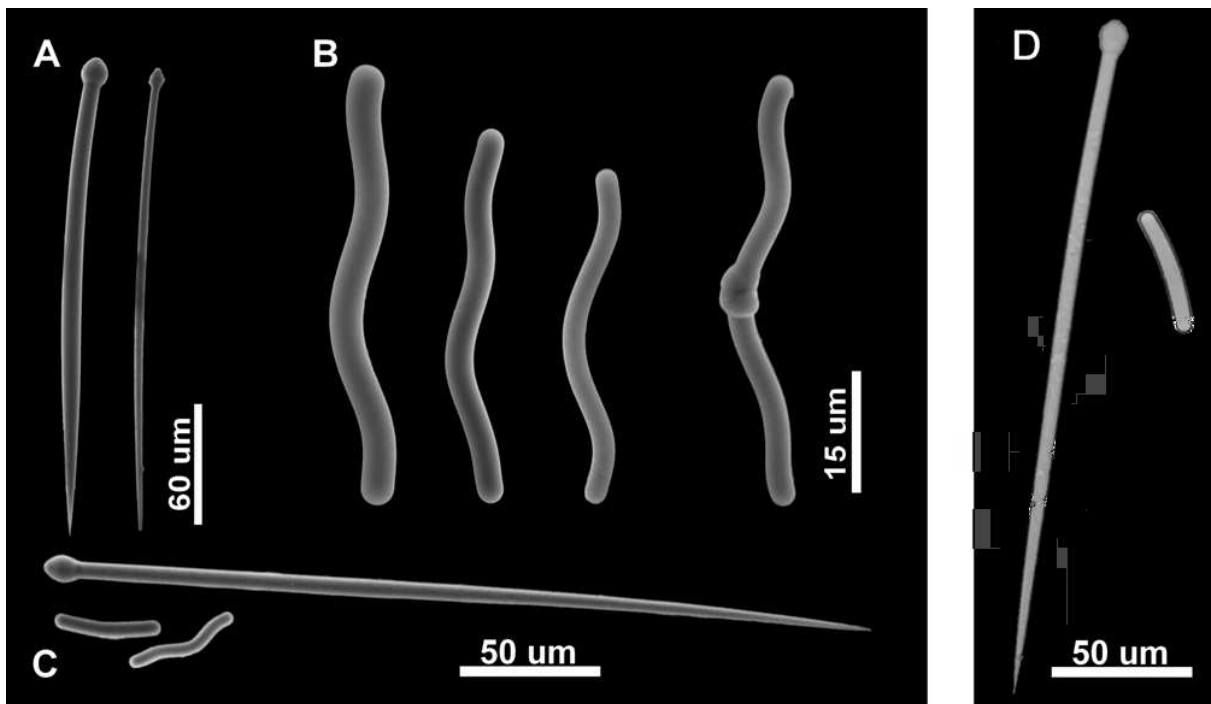


FIGURE 21. Spicules of *Cliona vermifera* from Costa Rica: A) tylostyles, B) sinuous microstrongyles, C) both spicules types to scale, D) spicules of specimen from El Salvador (light microscope).



FIGURE 22. Distribution of *Cliona vermifera* in the study area.

Previous records. Carballo *et al.* (2008a) and Vega (2012) sampled *C. vermifera* in the Mexican Pacific. Guzmán (1988) further reported it from Costa Rica. Our account is a new record for El Salvador.

Ecology. It was found in dead coral of genus *Pocillopora* and *Porites*, from 5 to 10 m depth. *C. vermifera* is the most abundant excavating sponge in the ETP and is thus of considerable importance to local bioerosion (Carballo *et al.* 2008b; Vega 2012).

Distribution and previous records. The species was described by Hancock (1867) without indication of the type locality. It has since been widely reported, from the Mediterranean Sea (Volz 1939; Bertolino *et al.* 2013), Eastern Atlantic Ocean (Carballo *et al.* 1994), Caribbean (Topsent 1889, Hechtel 1965; Rützler 1974; Ward & Risk 1977), Mexican Pacific (Carter 2009; Carballo *et al.* 2004, 2008a; Vega 2012), the Western Pacific (Schönberg 2001), and Indian Ocean (Topsent 1932). Scott *et al.* (1988) found this species in Costa Rica, and we did additionally in El Salvador (Fig. 22).

Remarks. Due to its characteristic microscleres and its two size classes of tylostyles (Fig. 21), *C. vermifera* has always been regarded as easy to identify, and it has been reported from warm waters across the whole world (Schönberg *et al.* 2017). Traditionally, *C. vermifera* was thought to be cosmopolitan (e.g. Schönberg *et al.* 2006). However, due to recent discoveries of taxonomically cryptic species within the Clionaida (Boury-Esnault *et al.* 1999; Xavier *et al.* 2010, Paula *et al.* 2012), such “cosmopolitan” species are now treated with more caution and are increasingly reviewed. A recent publication by León-Pech *et al.* (2015) showed that dispersal abilities of *C. vermifera* were limited in the Mexican Pacific, which suggests that this species could also be a species complex. We were unable to resolve this taxonomically and treated *C. vermifera* as one species.

Genus *Cliothosa* Topsent, 1905

Synonymy. *Thoosa* sensu Topsent, 1888.

Diagnosis. Excavating sponges in alpha morphology with large tylostyles and amphiasters. Amphiasters most commonly delicately branching, slim-rayed, with terminal branching, but less fragile forms in different species. Only in choanosome. Reduced forms of amphiasters occasionally in papillae or terminally in blind erosion canals. Occurrence and predominance of different amphiaster types depending on specimens or species (adapted from Rützler 2002).

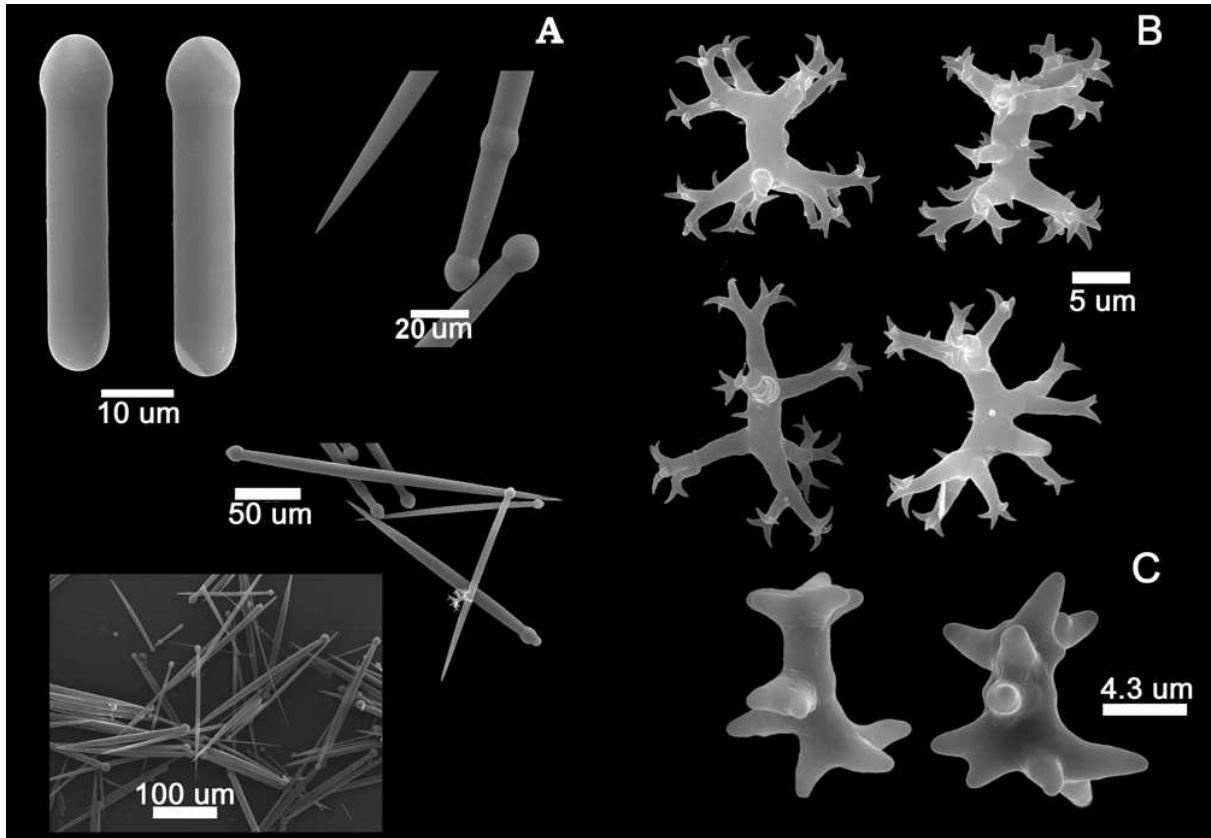


FIGURE 23. Spicules of *Cliothosa tylostrogyrata* from Costa Rica: A) tylostyles, B) branched amphiasters, C) nodulose amphiasters.

Cliothosa tylostrogyrata Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011

Material examined. ICMYL.Cty.59.IT, ICMYL.Cty.60.IT, ICMYL.Cty.61.IT, ICMYL.Cty.62.IT, ICMYL.Cty.63.IT: Islas Taboga, Panama Bay, 1 m, 15.I.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Cty.125.FS, ICMYL.Cty.130.FS: Bahía Culebra, 3 m, 19.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMARES.UES.CI.66, ICMARES.UES.CI.67, ICMARES.UES.CI.68, Playa el Faro, Los Cóbano, El Salvador, <3 m, 24.X.2016, coll. Johanna Segovia, det. José Luis Carballo.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology, with discrete papillae. Live color yellow.

Excavation. Not assessed.

Spicules. Megascleres straight, robust tylostyles, sizes variable (Fig. 23, 24). Tyles wide and sometimes slightly subterminal, shafts gradually tapering, mostly with sharp point, unless tylostyle strongly shortened and reduced to tylostyongyle. Microscleres amphiasters, either branched or reduced and conulose. With 3-4 terminal actines in branched amphiasters, or in unequal arrangement, terminally split into 2-4 strongly recurving hooks, and

sometimes again branching before reaching hooks (Fig. 23, 24). Reduced amphiasters overall shorter than branching amphiasters, similar build, but actines as conical, terminally rounded spines (Fig. 23). Tylostyle dimensions: 135–276 μm (\bar{x} =185.1, σ =39.5) \times 4–12 μm (\bar{x} =8.4, σ =2.4). Dimensions of straight tylostrogyles: 46–230 μm (\bar{x} =172, σ =28.1) \times 4–11 μm (\bar{x} =9, σ =2.0). Ramose amphiaster, length dimensions: 7–24 μm (\bar{x} =19.9, σ =3.0). Reduced amphiaster, length dimensions: 10–13 μm (\bar{x} =12, σ =1.7).

Ecology. Found in dead *Pocillopora* sp. between 1 and 3 m depth.

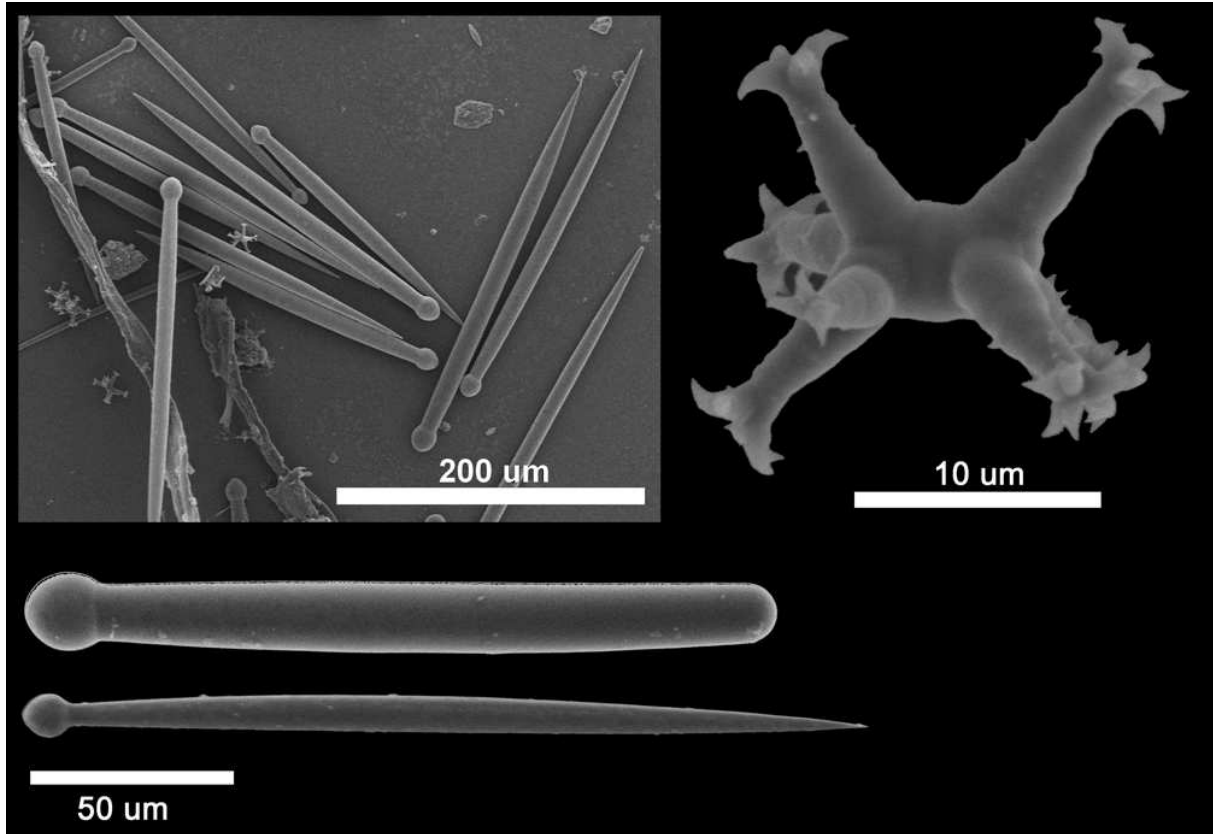


FIGURE 24. Scicules of *Cliothosa tylostrogyrata* from El Salvador.

Distribution and previous records. *C. tylostrogyrata* was described by Cruz-Barraza *et al.* (2011) as one of the less common clionaid species from the Mexican Pacific. Earlier reports of the same species misidentified it as the similar *Cliothosa hancocki* Topsent, 1905 (Carballo *et al.* 2008a, 2008b), and although we cannot be sure, we assume that Scott *et al.*'s (1988) account on *Cl. hancocki* from Costa Rica refers to the same species. Consecutive reports were again from the Mexican Pacific (Vega 2012). In this study, the species was collected at El Salvador the first time, where it is the most abundant boring sponge (Fig. 25).

Remarks. Presently six species are accepted in the genus *Cliothosa* (Soest *et al.* 2016), which for a long time almost exclusively relied on faunistic reports of *C. hancocki* (see Table 2 in Cruz-Barraza *et al.* 2011). Only *Cliothosa aurivillii* (Lindgren, 1897) was also occasionally mentioned in recent publications from the Pacific (Calcinaï *et al.* 2006; Schönberg & Wisshak 2012; Lim *et al.* 2016). *Cl. aurivillii* has characteristic microscleres and can easily be distinguished from *Cl. hancocki*, so any *Cliothosa* samples with proper amphiasters were traditionally identified as *hancocki* (see Carballo *et al.* 2008a, 2008b). More recently similar clionaid species are distinguished from each other, and the Mexican *Cliothosa* species with ramose amphiasters was described as a distinct species (Cruz-Barraza *et al.* 2011).



FIGURE 25. Distribution of *Cliothosa tylostrongylata* in the study area.

Genus *Pione* Gray, 1867

Synonymy. *Cliona* of various authors, e.g. for some species in Hancock (1849). *Archaeoclina* Czerniavsky, 1878. *Papilissa* von Lendenfeld, 1888. *Gapoda* Laubenfels, 1936.

Diagnosis. Excavating sponges in alpha and beta morphology. Delicate, commonly straight tylostyles as megascleres, microspined (rarely smooth) oxeas and microspined rhabds as microscleres. Microrhabds straight or helical, forming ectosomal crusts (adapted from Rützler 2002).

Pione cf. *carpenteri* (Hancock, 1867)

Material examined. MZUCR.377: Isla del Caño, 5 m, 12.II.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR.376: Bahía Culebra, 3 m, 21.III.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR.379: Playa Mantas, 2 m, 16.IX.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Pca.83.R, ICMYL.Pca.86.R, ICMYL.Pca.92.R, ICMYL.Pca.98.R, ICMYL.Pca.99.R, ICMYL.Pca.103.R: Playa Matapalo, 3 m, 20.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Pca.126.FS: Bahía Culebra, 3 m, 20.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMYL.Pca.137.IT: Isla Taboga, Gulf of Panama, 1 m, 13.I.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Papillae small, sometimes difficult to observe, average diameter of 390 µm. Live color yellow.

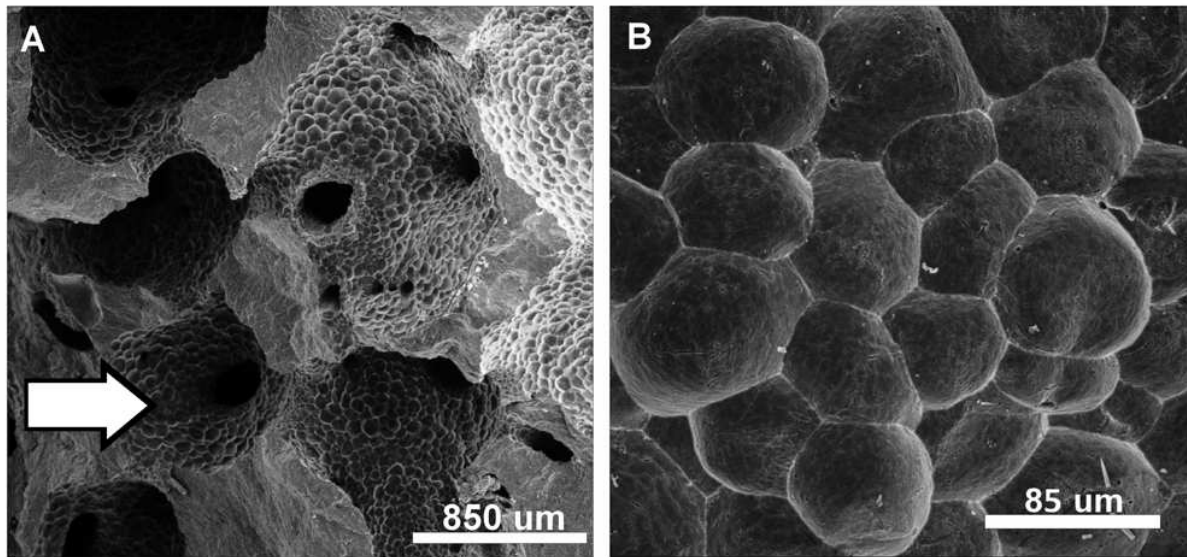


FIGURE 26. *Pione cf. carpenteri* bioerosion. A) Erosion chambers (arrow) and B) erosion scars.

Excavation. Erosion multicamerate (Fig. 26A). Oval or irregular chambers with diameters of 0.8 to 1.6 mm. Erosion scars 20 to 102 μm in diameter (Fig. 26B).

Spicules. Megascleres straight tylostyles, scarce. Microscleres microspined oxeas curving mid-shaft and straight, microspined microrhabds (Fig. 27). Tylostyle dimensions: 181–217 μm (\bar{x} =202.6, σ =17.7) x 3–5 μm (\bar{x} =4.2, σ =0.6). Oxea dimensions: 63–115 μm (\bar{x} =84.4, σ =21.4) x 3–6 μm (\bar{x} =4, σ =1.7). Microrhabd dimensions: 9–12 μm (\bar{x} =11, σ =1.9) x 1–3 μm (\bar{x} =1.7, σ =0.4).

Ecology. Found in dead *Pocillopora* sp. and shells of dead mollusks, between 1 and 5 m depth.

Distribution and previous records. The species was originally described as *Cliona carpenteri* from Mazatlan (Hancock 1867), Mexico. Recently, more specimens have been collected along the Pacific coast of Mexico (Carballo *et al.* 2004, 2008a) and Panama (Vega 2012). It has also widely been reported from other locations such as Brazil (Muricy *et al.* 2011). However, records for the Gulf of Mexico and Myanmar were considered as uncertain (Soest *et al.* 2016). Scott *et al.* (1988) mentioned the presence of *Pione lampa* (Laubenfels, 1950) at Caño Island (Costa Rica), which is most likely a misidentification for this Atlantic sponge (Soest *et al.* 2016). We have no means to assess which *Pione* species they referred to. If they decided on *P. lampa* because it had a beta morphology, then we rule out that they meant *P. carpenteri*. In this study the latter species occurred in Nicaragua, Costa Rica and Panama, with the first two countries being new records for it (Fig. 28).

Remarks. We described *P. carpenteri* with the “conferre” epithet (“cf.”), because it belongs to a taxonomically difficult and not well-documented genus and because it does not differ much from other *Pione* species in Mexico. It largely compares well to *P. carpenteri* as described by Carballo *et al.* (2004), but the microspination of the microrhabds and oxeas in the Mexican samples is less pronounced than in the Central American samples. At this stage, most records of *Pione* species cannot easily be accepted as correct, and further studies are warranted.

Pione mazatlanensis Hancock, 1867

Material examined. ICMYL.Pma.84.R, ICMYL.Pma87.R: Playa Matapalo, 3 m, 20.XII.2012, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. No data available on papillae. Live color ochre.

Excavation. Not assessed.

Spicules. Megascleres slightly curved tylostyles. Microscleres smooth or microspined, curved oxeas with or without cetrotyle and helical, microspined microrhabds in two shapes: short and straight, and long and helical (Fig.

29). Tylostyle dimensions: 152–215 μm (\bar{x} =198.9, σ =26.6) x 2.5–5 μm (\bar{x} =3.3, σ =0.9). Oxea dimensions: 52.5–110 μm (\bar{x} =81.4, σ =14.5) x 2.5–5 μm (\bar{x} =3.6, σ =0.8). Microrhabd dimensions: 10–15 μm (\bar{x} =11.9, σ =1.9) x 1–2.5 μm (\bar{x} =1.8, σ =0.4).

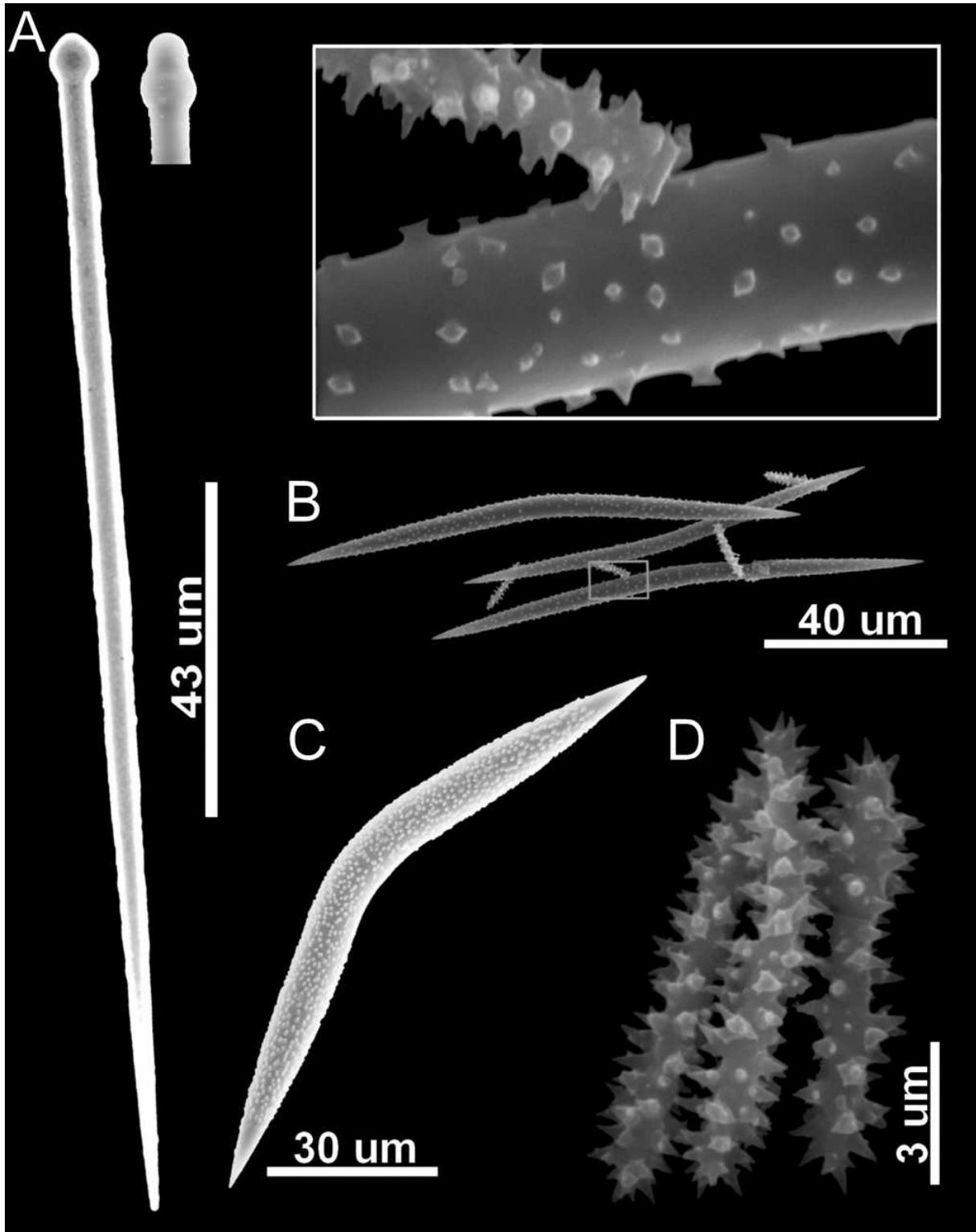


FIGURE 27. Spicules of *Pione* cf. *carpenteri*: A) tylostyles and head variations, same scale, B) oxea and microrhabds with a close-up of their microspination (inset panel), C) oxea, D) microrhabds.



FIGURE 28. Distribution of *Pione* cf. *carpenteri* in the study area.

Ecology. Found in dead pocilloporid corals at 3 m depth.

Distribution and previous records. The first report was from Mazatlan, Mexico (Hancock 1867). Carballo *et al.* (2004) found the species in the Mexican Pacific again, ranging from the north (Sonora) to the south (Oaxaca). *P. mazatlanensis* has not previously been located outside Mexican waters, and this is the first record for Costa Rica and Central America (Fig. 30).

Remarks. The microrhabdes, especially those long and helical microrhabdes are the characteristics that allow identify the species and distinguish from other *Pione*. The dimensions of the spicules from the specimens we reviewed, are similar to those described from the Mexican Pacific (Carballo *et al.* 2004).

Order Astrophorida Sollas, 1888

Family Thoosidae Rosell and Uriz, 1997

Genus *Thoosa* Hancock, 1849

Synonymy. *Annandalea* Topsent, 1928 (junior synonym). *Annandalena* Topsent, 1932 (junior synonym). *Thooce* Laubenfels, 1936 (junior synonym). Not *Thoosa sensu* Topsent (1888).

Diagnosis. Sponges always in alpha morphology, with wide array of different spicule types including monaxons such as tylostyles and oxeas as megascleres. Tylostyles only in some species, and occasionally missing in some specimens or populations. Microscleres most commonly as amphiasters, oxyasters and their derivates. Amphiasters mostly tylote, with microspination on all extremities, but variations in different species include smooth oxeote rays.

Oxyasters with small centre, rays commonly reduced, leading to centrotylote sigmoid or tylostylote forms. Biradiate forms can appear like birdwings (adapted from Carballo *et al.* 2004).

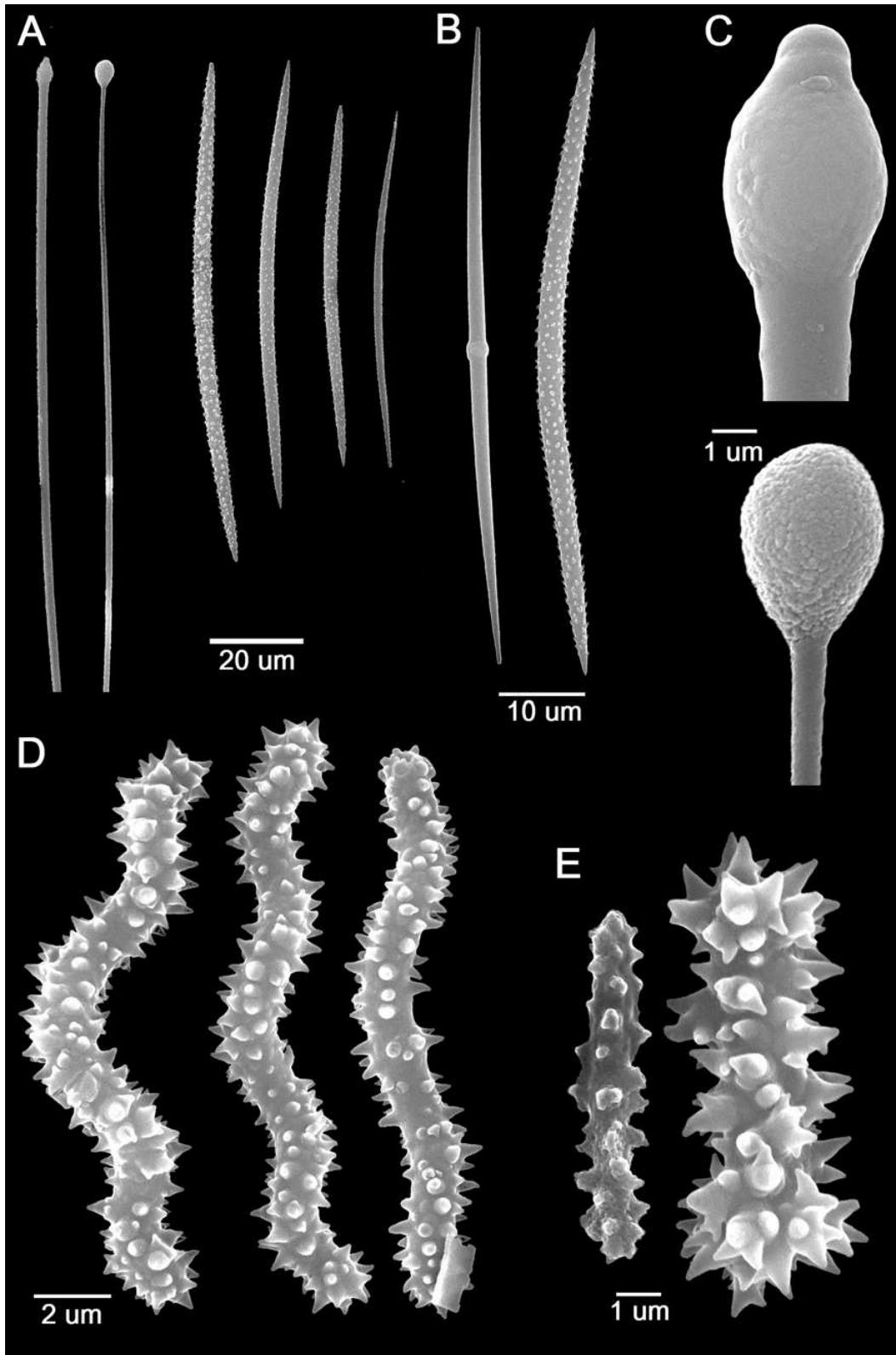


FIGURE 29. Spicules of *Pione mazatlanensis*: A) tylostyles and acanthoxeas, B) enlarged acanthoxeas, C) enlarged head of mature (top) and immature tylostyles (bottom), D) helical microrhabds, E) straight microrhabds.



FIGURE 30. Distribution of *Pione mazatlanensis* in the study area.

Toosa calpulli Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004

Material examined. ICMYL.Tca.140.E: Bahía Culebra, 5 m, 12.II.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano. ICMARES.UES.CI.72: Playa el Faro, Los Cóbanos, El Salvador, <3 m, 24.X.2016, coll. Alejandra Trejo, det. José Luis Carballo.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Material not sufficient to allow full description of external characters. Live color yellow.

Excavation. No data available.

Spicules. Megascleres as oxeas, spined or smooth, centrotylote or simple (Fig. 32). According to length, two types of oxeas. Smaller oxea dimensions: 27.5–101.5 (\bar{x} =54.7, σ =18.1) x 1.5–9 μ m (\bar{x} =4.8, σ =2.1); larger oxea dimensions: 110–297 μ m (\bar{x} =196.2, σ =69.1) x 3.5–13 μ m (\bar{x} =8.2, σ =3.2). Microscleres as oxyaster derivates and amphiasters (Fig. 31, 32). Smooth oxyasters with actines extending from nodular centre, form variable depending on number of actines, ranging between two and four (V-shaped biactine, triactine or tetractine). Dimensions of oxyaster actines: 17.5–51 μ m (\bar{x} =31.1, σ =9.4) x 1–4 μ m (\bar{x} =1.9, σ =0.8). Amphiasters with five or six actines with microspination on each axis, actine tips coniform or as branch terminating in groups of spines or hooks. Depending on actine lengths, amphiasters symmetric or asymmetric. Amphiaster length from tip to tip 7.9–17.3 μ m (\bar{x} =12.9, σ =3.5), axis width 1.0–2.2 μ m (\bar{x} =1.6, σ =0.4), actine length 1–5 μ m (\bar{x} =3.6, σ =1.5).

Ecology. Found at 5 m depth.

Distribution and previous records. *T. calpulli* was described by Carballo *et al.* (2004) from Nayarit, Mexican Pacific. In this study it was found in El Salvador and Costa Rica (Fig. 33). This represents new records for the two countries, as well as for Central America.

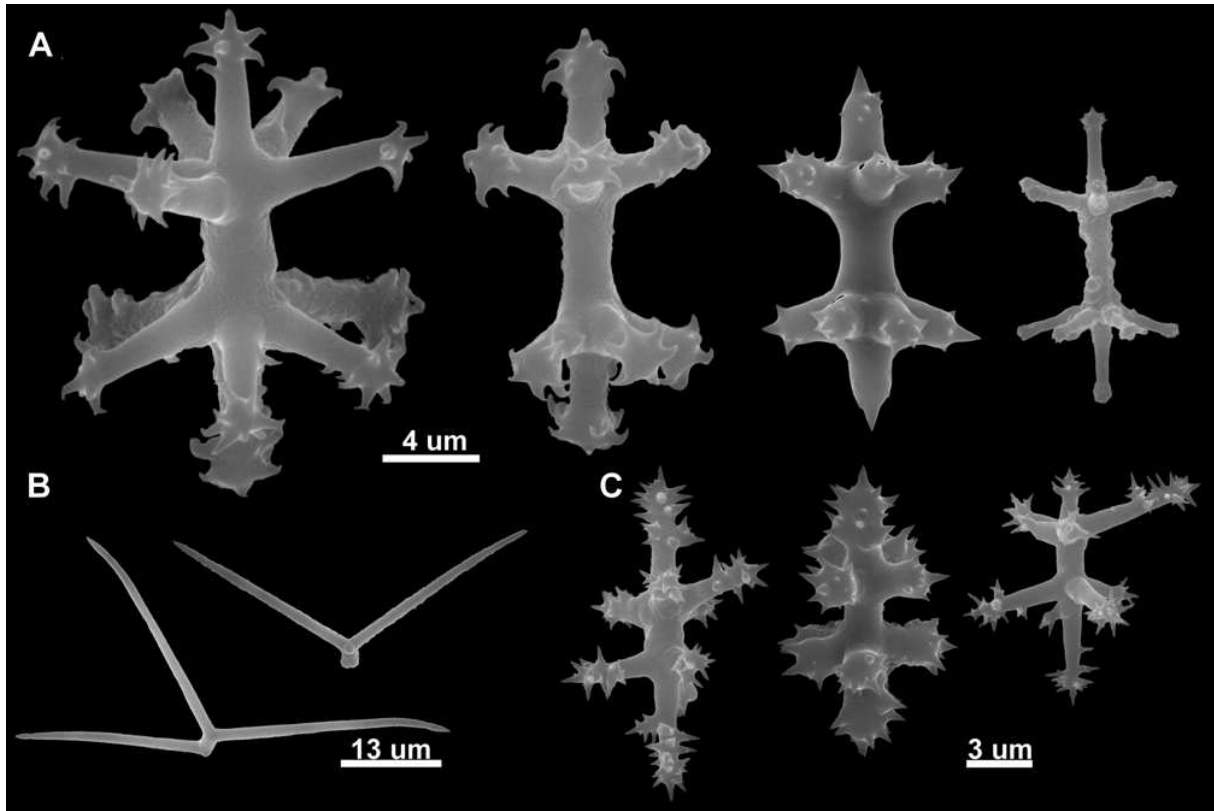


FIGURE 31. Spicules of *Thoosa calpulli*: A) symmetric amphiasters, B) reduced oxyasters, with the upper one in the “bird-wing” form, C) asymmetric amphiasters.

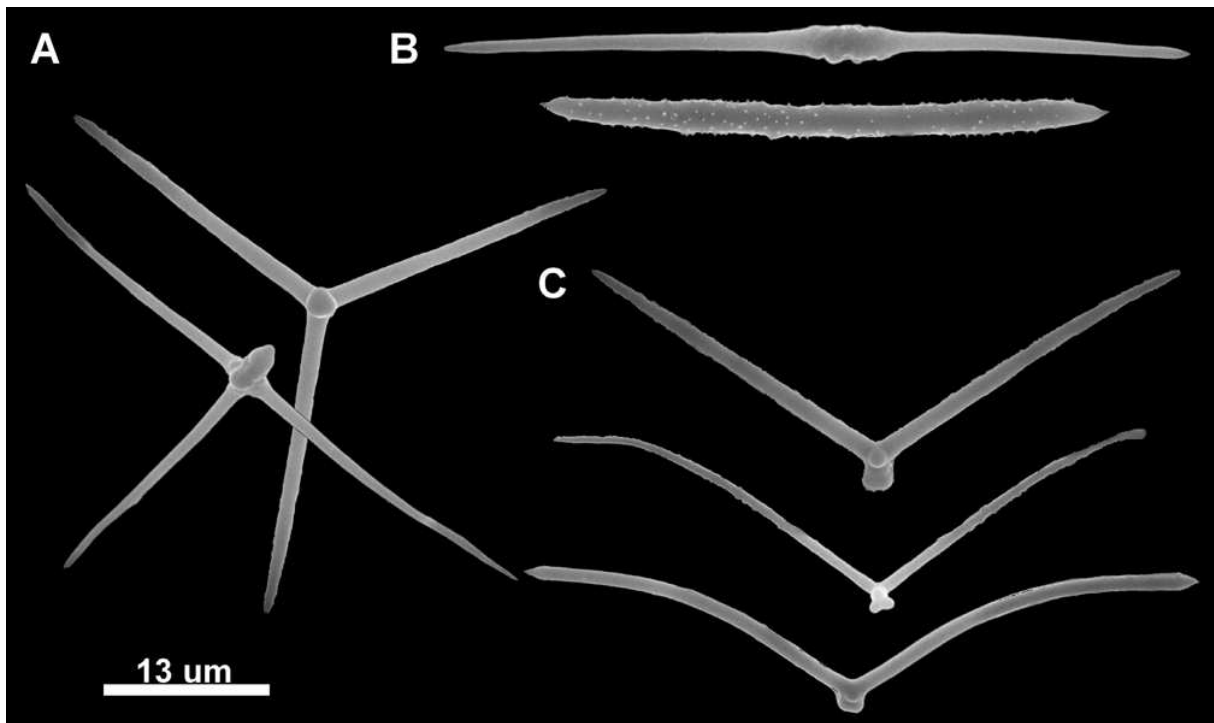


FIGURE 32. Spicules of *Thoosa calpulli*: A) triradial oxyasters, B) centrotylote oxea (also a reduced oxyaster) and microspined oxea, C) biradial oxyasters in “bird-wing” form.

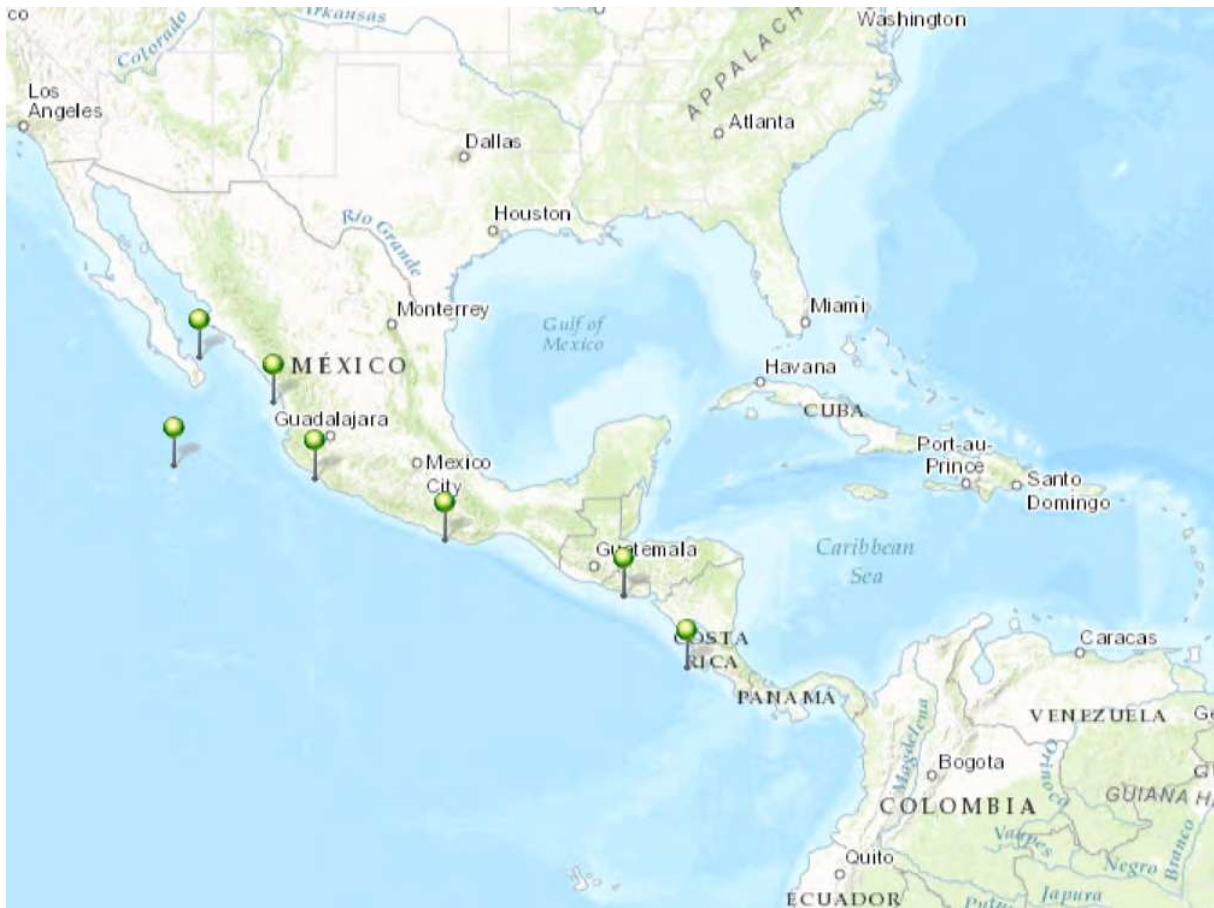


FIGURE 33. Distribution of *Thoosa calpulli* in the study area.

Remarks. The characteristic ornamentation of amphiasters with conical spines, and the spicular complex with tylostyles, oxyasters and centrotylotes oxeas distinguished this species from other *Thoosa* (Carballo *et al.* 2004).

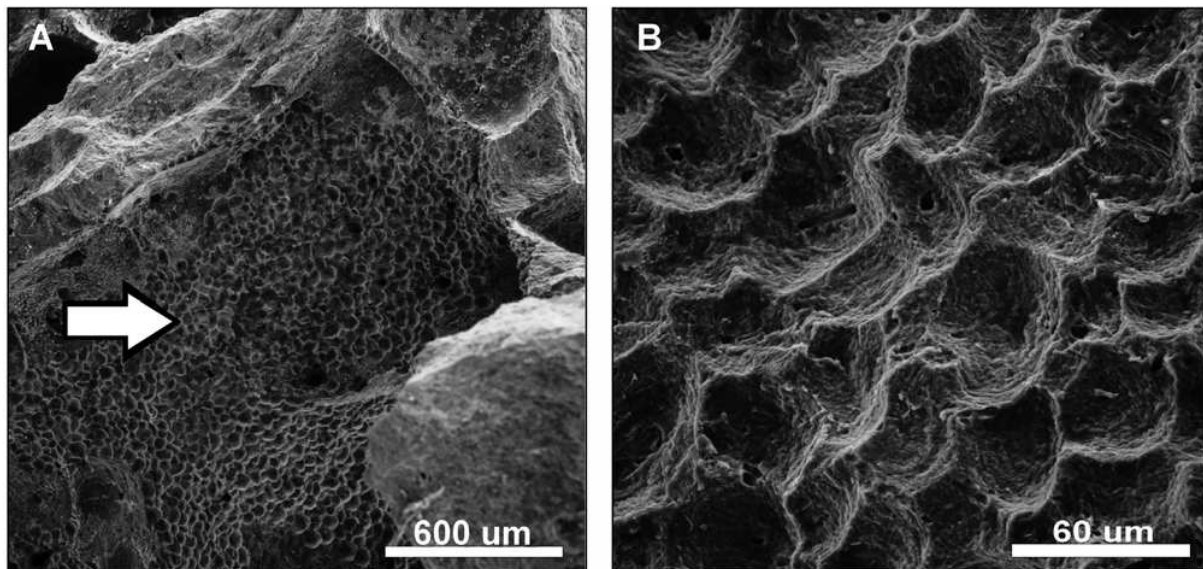


FIGURE 34. *Thoosa mismalolli* bioerosion. A) Erosion chamber (arrow) and B) erosion scars.

Material examined. MZUCR.182: Isla del Caño, 4 m, 1984, coll. Jorge Cortés Núñez, det. Cristian Pacheco Solano. MZUCR.380: Isla del Caño, 10 m, 12.II.2011, coll. and det. Cristian Pacheco Solano.

External morphology. Endolithic sponge in alpha morphology. Material not sufficient to allow reliable description of external characters.

Excavation. Fused galleries with average diameter of 2 mm. Erosion scars with diameters between 29 and 56 μm . Inner surface of scars irregular, with pronounced ridges and radial structures (Fig. 34), providing additional information to distinguish between *Thoosa* and *Cliona* (Calcinai *et al.* 2004).

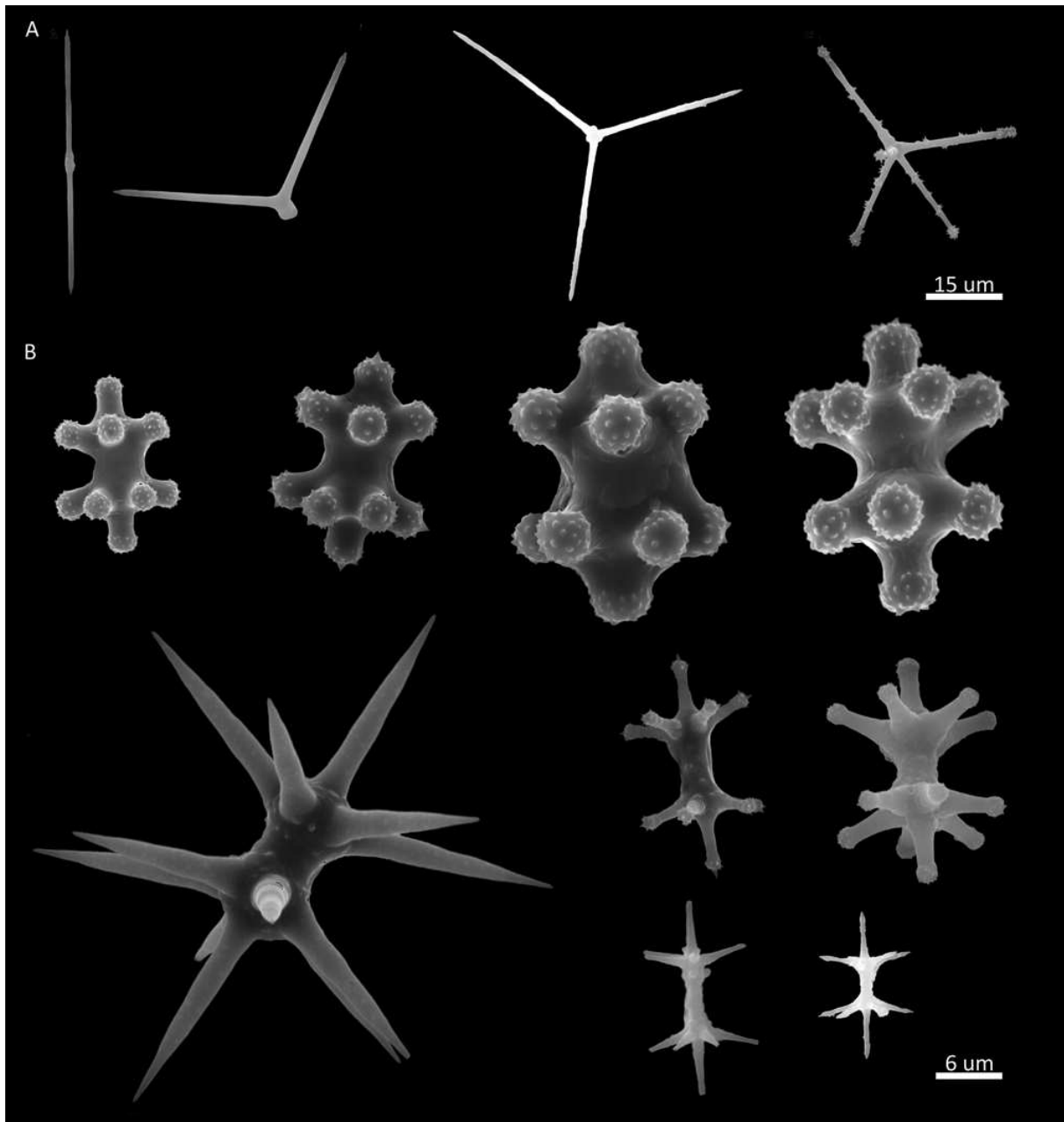


FIGURE 35. Spicules of *Thoosa mismalolli*: A) centrotylote oxea or straight biradial oxyaster, biradial oxyaster in “bird wing” form, triradial and pentaradial oxyasters, the latter microspined, B) thick and slim nodulose and reduced amphiasters, and larger smooth and hastate-rayed amphiaster.

Spicules. Megascleres tylostyles and oxeas, microscleres oxyaster derivates and amphisters (Fig. 35). Tylostyles scarce, not measured. Oxeas centrotylote, with length average of 57.4 μm ($\sigma=7.7$). Thick amphisters with 14 nodules, 2 at each apex and 6 per verticil, in alternating arrangement. Nodules microspined. Nodulose amphister average dimensions of 21,3 μm ($\sigma=2.3$) x 14,1 μm ($\sigma=2.4$). Thinner amphisters with fourteen nodules in arrangement as described above, irregular endings or smooth, with average dimensions of 17,1 ($\sigma=3.0$) x 10,2 μm ($\sigma=2.4$). Biradiate, triradiate or tetradiate oxyasters, some with microspination, length average of 50,5 μm ($\sigma=7.2$).

Ecology. The specimens were found in dead pocilloporid corals at 10 m depth.

Distribution and previous records. The species was described from Mexico (Carballo *et al.* 2004), and Guzmán (1988) probably from Costa Rica (see Remarks), which our study confirmed (Fig. 36). Totate Costa Rica was the only site in Central America where this species was detected.

Remarks. The three *Thoosa* species presently known in the ETP—*T. calpulli*, *T. mismalolli* and *Thoosa purpurea* Cruz-Barraza *et al.*, 2011—are quite easy to distinguish by comparing the most common spicule, the main amphister (Fig. 31, 35 and Fig. 9A in Cruz-Barraza *et al.* 2011). However, all three species were only recently described and any findings before 2004 relied on the then existing literature. Guzmán (1988) sampled a *Thoosa* species from Costa Rica and identified it as *Thoosa mollis* Volz 1939. However, the distribution of this species is restricted to the Adriatic Sea in the Eastern Mediterranean (Soest *et al.* 2016). In this study, we found two species of this genus, *T. mismalolli* and *T. calpulli* in Costa Rica. Guzmán's material was very likely *T. mismalolli*, as the spicules of *T. mollis* and *T. mismalolli* are similar.



FIGURE 36. Distribution of *Thoosa mismalolli* in the study area.

Order Haplosclerida Topsent, 1928

Family Phloeodictyidae Carter, 1882

Genus *Siphonodictyon* Bergquist, 1965

Synonymy. *Acca* Johnson, 1899, preoccupied by *Acca* Hübner, 1819 (Lepidoptera) (following Soest 2011 in Soest *et al.* 2016). *Aka* Laubenfels, 1936, preoccupied by *Aka* White, 1879 (Fulgoromorpha) (following Schönberg & Soest 2012 in Soest *et al.* 2016). *Siphonodictyon* Bergquist, 1965.

Diagnosis. Excavating sponges in papillate or fistulate morphology, former with porous excavation, latter usually with larger cavities. Choanosomal skeleton unordered or forming sinuous bands of spicule fibres. Densely anastomosing fibres in fistules. Spicules curved oxeas, no microscleres. Commonly mucoid (adapted from Desqueyroux-Faúndez & Valentine 2002).

***Siphonodictyon crypticum* (Carballo, Hepburn, Nava, Cruz-Barraza & Bautista-Guerrero, 2007)**

Material examined. ICMARES.UES.CI.71: Playa el Faro, Los Cóbano, El Salvador, 1.5 m, 24.X.2016, coll. Sofía Solórzano, det. José Luis Carballo.

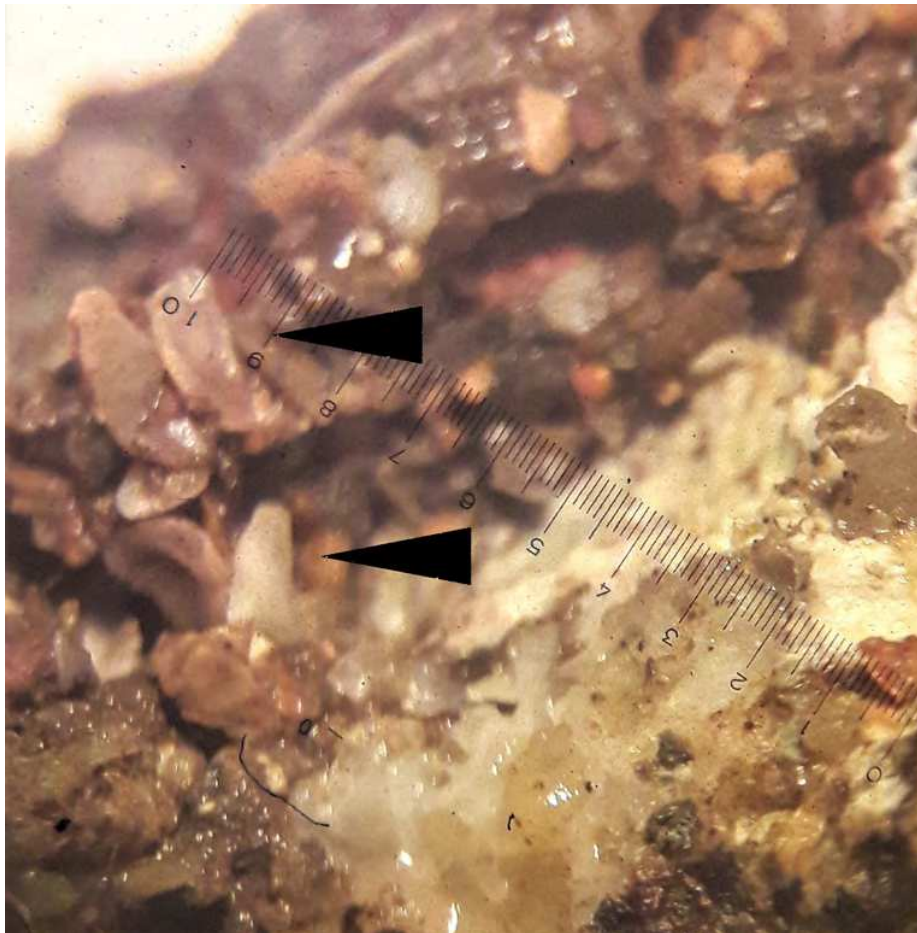


FIGURE 37. Small fistules of *Siphonodictyon crypticum* (arrows).

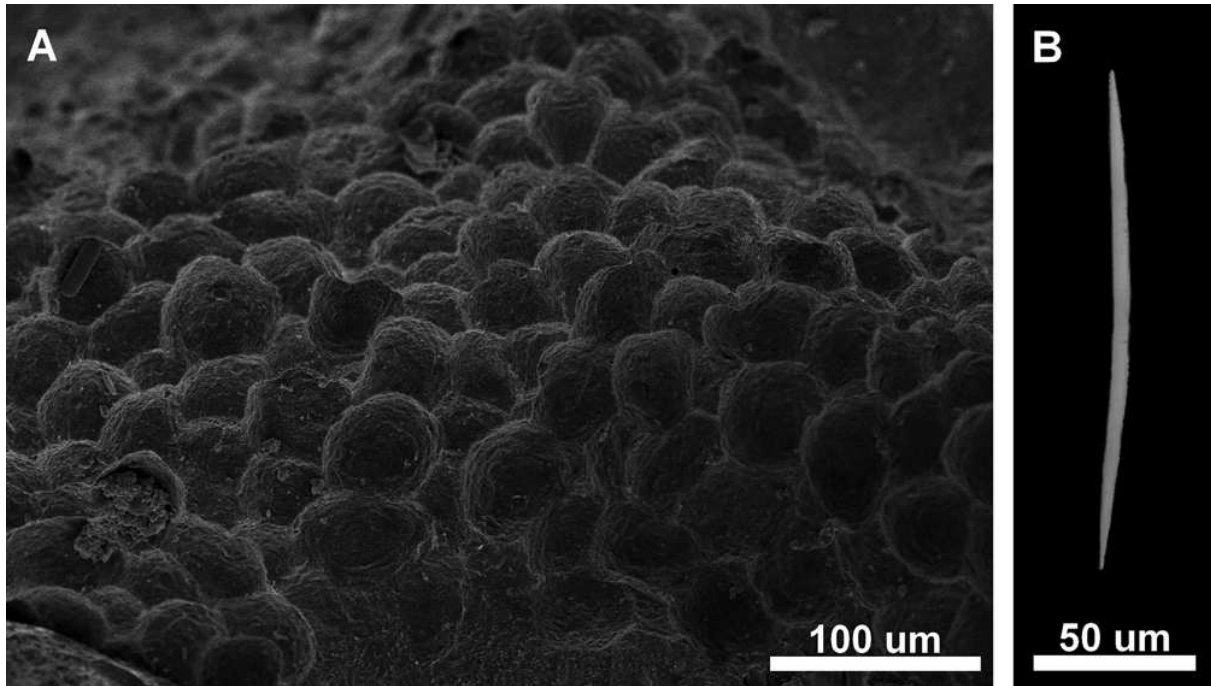


FIGURE 38. *Siphonodictyon crypticum*: A) erosion scars, B) spicule (light microscope).

External morphology. Endolithic sponge with three small fistulose tubes of 1.8 x 0.9 cm approximately (Fig. 37). Color of fistules and choanosome white in life.

Excavation. Erosion extended multicamerate. Sponge scars with faint concentric ridges characteristic for *Siphonodictyon* (Fig. 38A), diameters between 35 and 85 μm .

Spicules. Megascleres smooth, acerate oxeas, centrally slightly curved (Fig. 38B). Microscleres absent. Oxea dimensions: 73–188 μm (\bar{x} =123.3, σ =35.6) x 3–11 μm (\bar{x} =4.9, σ =2.2).

Ecology. Found at 1.5 m depth in rubble.

Distribution and previous records. *S. crypticum* was described by Carballo *et al.* (2007) from Nayarit, Mexico. Only three later reports are available and were again for the Mexican Pacific (Carballo *et al.* 2008a, 2008b, 2013). The latter publication stated that abundances of *S. crypticum* may have increased after reef deterioration. Scott *et al.* (1988) listed a *Siphonodictyon* species for Costa Rica. However, even though *S. crypticum* is common in the East Pacific and to date the only *Siphonodictyon* species known from there (Schönberg *et al.* 2017), we have no means to confirm the occurrence of *S. crypticum* in Costa Rica. Our account is the first report for Central America and El Salvador (Fig. 39).

Remarks. We presently did not provide a very comprehensive description, because of the recent date and the detail of the original description (Carballo *et al.* 2007). Our material agreed well with that of Carballo *et al.* (2007), and further information can be taken from that publication.

Discussion

Our collections yielded fourteen species of excavating sponges from three orders, three families, and five genera, from the four countries El Salvador, Nicaragua, Costa Rica and Panama. We compared our findings with previous accounts from Central America, which were reviewed with regards to the taxonomic allocations of the studied species (Table 1). Some of these accounts were doubtful and cannot be adequately assessed (e.g. where records were just given at genus level). Some other reports had obviously received erroneous names, and we placed them under more likely names where it appeared reasonable, but did not confirm these decisions by viewing respective material. Proceeding like this, we suggest that presently 14 species of excavating sponges are known from Central America: *C. amplicavata*, *C. californiana*, *C. euryphyllae*, *C. microstrongylata*, *C. aff. mucronata*, *C. pocillopora*,

C. tropicalis, *C. vermifera*, *Cl. tylostyongylata*, *P. cf. carpenteri*, *P. mazatlanensis*, *T. calpulli*, *T. mismalolli*, and *S. crypticum* (Table 1). Of these species, seven or nine reported by us are new records for Central America: *C. amplicavata*, *C. californiana*, *C. euryphylla*, *C. microstrongylata*, *C. pocillopora*, *P. mazatlanensis*, *T. calpulli*, and possibly *T. mismalolli* and *S. crypticum*. All species reported by us are also present in the Mexican Pacific (Carballo *et al.* 2004; Bautista-Guerrero *et al.* 2006; Carballo *et al.* 2008a; Cruz-Barraza *et al.* 2011).

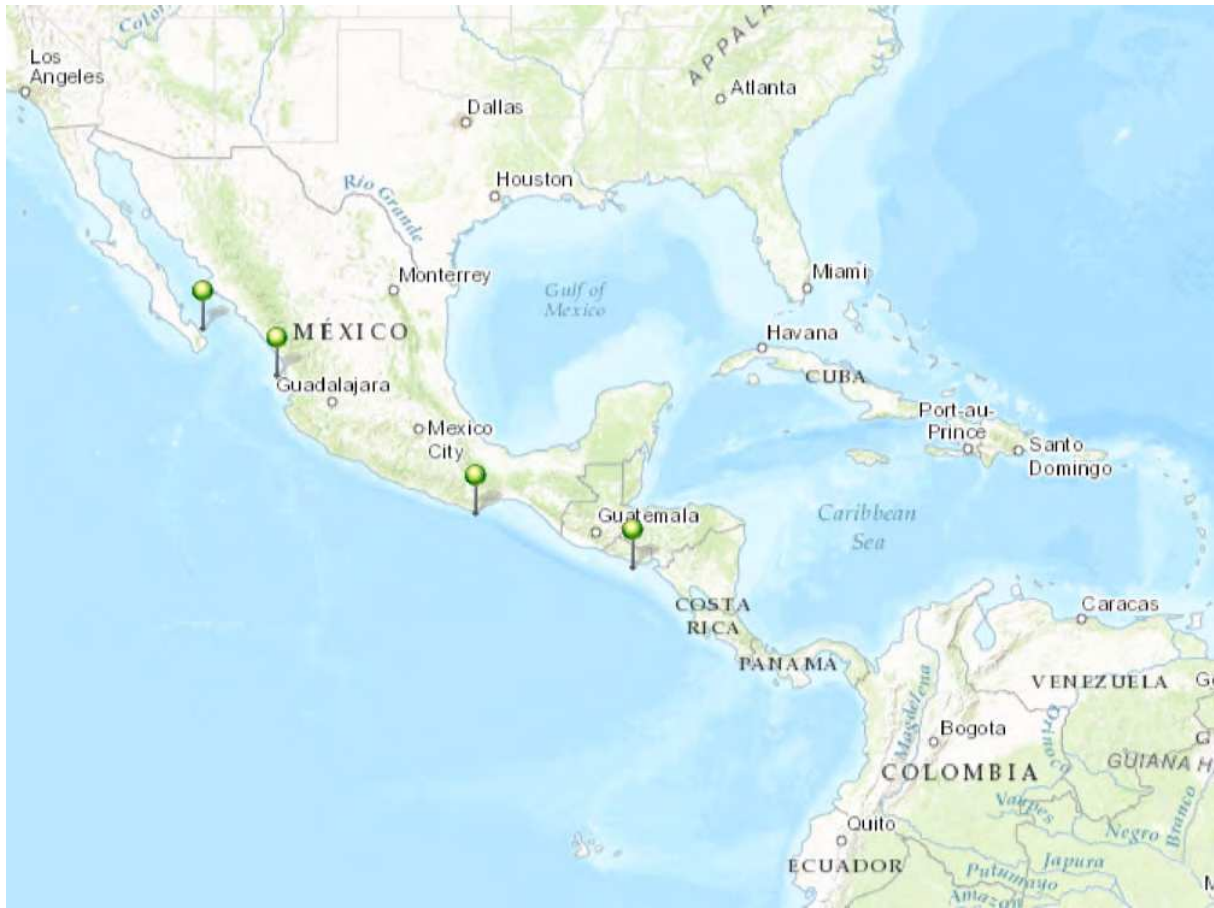


FIGURE 39. Distribution of *Siphonodictyon crypticum* in the study area.

Considering the scarcity and the patchy distribution of studies assessing the occurrence of excavating sponges in Central America (Table 1), the diversity record of 14 is considerable. A total of 27 excavating sponges is known from the Mexican Pacific (Alvarado *et al.* 2017; Schönberg *et al.* 2017), which has been investigated much more intensively than any sites further south in the Eastern Pacific. The proportional distribution of species across orders is very similar between the Mexican (Schönberg *et al.* 2017) and the Pacific of Central America (Table 1). We suggest that the levels of biodiversity should be similar as well and that future investigations should quickly increase the faunistic record for the Pacific of Central America. In this respect, we recommend to pay special attention to *Cliona viridis* complex and *Siphonodictyon* species, which can at times be difficult to distinguish and may easily be lumped, as well as also targeting massive and endopsammic species, as presently only three species of *Sphaciospongia* have been described from the Eastern Pacific (Schönberg *et al.* 2017).

Some species reported in this study appear to have a wide, sometimes inter-ocean distribution. Such distribution patterns have previously been discussed as unlikely and were generally rejected (e.g. Rosell & Uriz 2002; Soest *et al.* 2016). Unexpected distribution patterns in possibly different species with very similar morphologies require assessment with molecular techniques (e.g. Boury-Esnault 1999; Xavier *et al.* 2010; Paula *et al.* 2012; Leal *et al.* 2016), an opportunity that was presently unavailable to us. Based on our taxonomic decisions and until further data become available, we propose wide distributional ranges for *C. amplicavata*, *C. euryphylla*, *C. aff. mucronata*, *C. vermifera*, and *P. cf. carpenteri*. For example, *P. carpenteri*, was reported from the Caribbean

(Rützler 1974), the Mediterranean (Rosell & Uriz 2002), the Mexican Pacific (Carballo *et al.* 2004) and the Pacific of Central America (Vega 2012). We accept, however, that *Pione* is a taxonomically difficult genus that desperately needs to be revised, and respective species records cannot presently be regarded as reliable. Cosmopolitan distributions in excavating sponges should therefore be studied more closely, and molecular analysis will be required to check whether some records are erroneous and if there are cryptic species (see Boury-Esnault 1999; Xavier *et al.* 2010; Paula *et al.* 2012).

Our study provides a better understanding of the excavating sponge distributions and diversities in the Pacific of Central America, which were previously only fleetingly investigated (Table 1). Worldwide, excavating sponges are the most prominent macroborers (Schönberg *et al.* 2017) and appear to increase in abundance with environmental deterioration and global change (Ramsby *et al.* 2017). Community shifts can only be detected if common species can be recognized and distinguished, and the recent descriptions and checklists of species are important tools to improve future biodiversity analyses and to support management and conservation purposes (Schönberg 2015, Murphy 2016).

TABLE 1. Species of excavating sponges reported from the Pacific of Central America. EL = El Salvador, NI = Nicaragua, CR = Costa Rica, PA = Panama, * = reported in this study.

Species	Country	Reference	Comments
<i>Cliona amplicavata</i> Rützler, 1974	NI*, CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Cliona californiana</i> Laubenfels, 1932	NI*, CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Cliona ensifera</i> Sollas, 1878 DOUBTFUL RECORD?	CR	Cortés 1992, Guzmán and Cortés 1993	Not found in present study. The two records may possibly refer to <i>Cliona</i> aff. <i>mucronata</i> . We cannot confirm or reject this, but we did not consider this as a separate species.
<i>Cliona euryphylla</i> Topsent, 1888	CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Cliona microstrongylata</i> Carballo & Cruz-Barraza, 2005	CR*, EL*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Cliona</i> aff. <i>mucronata</i> Sollas, 1878	CR*, PA*	Vega 2012, *	New record for Costa Rica, unless the records by Cortés (1992) and Guzmán and Cortés (1993) referred to <i>C.</i> aff. <i>mucronata</i> (see above).
<i>Cliona pocillopora</i> Bautista-Guerrero, Carballo, Cruz-Barraza & Nava, 2006	EL*, CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Cliona tropicalis</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011	CR*, PA	Vega 2012, *	New record for Costa Rica, unless one of the records in Scott <i>et al.</i> (1988) referred to <i>C. tropicalis</i> (see below).
<i>Cliona vermifera</i> Hancock, 1867	EL*, CR*, PA	Guzmán 1988, Vega 2012, *	New record for El Salvador
<i>Cliona viridis</i> DOUBTFUL RECORD	CR	Scott <i>et al.</i> 1988	Likely misidentification. Presently assumed that this record refers to <i>C. tropicalis</i> , which is known to occur in the area (see above).
<i>Cliona</i> sp.	CR	Scott <i>et al.</i> 1988	Reported as <i>Anthosigmella</i> sp. This species belongs to a taxonomically different group and cannot reliably be matched to known species without laboratory analyses. As Scott <i>et al.</i> (1988) reported two different species from this group, this one is here accepted as a different species than their <i>C. viridis</i> , but cannot presently be further identified.
<i>Cliothisa tylostrongylata</i> Cruz-Barraza, Carballo, Bautista-Guerrero & Nava, 2011	EL*, CR*, PA	Scott <i>et al.</i> 1988, Vega 2012, *	Reported for Costa Rica as <i>Cliothisa hancocki</i> by Scott <i>et al.</i> 1988; new record for El Salvador
<i>Pione</i> cf. <i>carpenteri</i> (Hancock, 1867)	CR*, PA*, NI*	Vega 2012, *	New record for Costa Rica

.....continued on the next page

TABLE 1. (Continued)

Species	Country	Reference	Comments
<i>Pione lampa</i> (Laubenfels, 1950) DOUBTFUL RECORD	CR	Scott <i>et al.</i> 1988	Reported as <i>Cliona lampa</i> . This species is not considered as valid for the Pacific Ocean (Soest <i>et al.</i> 2016), but if referring to a beta morphology sponge, it would be different from <i>P. carpenteri</i> and <i>P. mazatlanensis</i> . A beta-form species that occurs in the Indo-Pacific is <i>Pione velans</i> (Hentschel, 1909) (see Fromont <i>et al.</i> 2005). However, the exact species identity could not be assessed and we do not know whether this record in fact refers to a beta sponge. We presently ignored this record.
<i>Pione mazatlanensis</i> (Hancock, 1867)	CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Thoosa calpulli</i> Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004	EL*, CR*	*	New record for the Pacific of Central America.
<i>Thoosa mismalolli</i> Carballo, Cruz-Barraza & Gómez, 2004	CR*	*	New record for the Pacific of Central America, unless Guzmán (1988) referred to this species (see below).
<i>Thoosa mollis</i> Volz, 1939 DOUBTFUL RECORD	CR	Guzmán 1988	Not accepted as valid for the Pacific Ocean (Soest <i>et al.</i> 2016). The spicules in <i>T. mollis</i> are similar to those in <i>T. mismalolli</i> , which may be the more likely species identity, but was not confirmed by us.
<i>Thoosa</i> sp.	CR	Cortés <i>et al.</i> 2009	Not further identified. As several species of <i>Thoosa</i> are known from the Pacific (Schönberg <i>et al.</i> 2017), this record remains at genus level and cannot presently be used to enhance our faunistic record.
<i>Siphonodictyon</i> sp.	CR	Scott <i>et al.</i> 1988	Not further identified by the authors, but could be referring to <i>S. crypticum</i> , which is the only species of this genus recorded in the West Pacific, and very common in the Mexican Pacific (Carballo <i>et al.</i> 2008).
<i>Siphonodictyon crypticum</i> (Carballo, Hepburn, Nava, Cruz-Barraza & Bautista-Guerrero, 2007)	EL*	*	New record for the Pacific of Central America, unless Scott <i>et al.</i> (1988) referred to this species.

Aknowledgements

We are grateful to Benjamín Yáñez, Eleazar Ruiz, Andrés Gonzalez and Jaime Nivia for their assistance during field research. Fieldwork in Costa Rica was supported by the Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), Universidad de Costa Rica (projects: 808-98-013, 808-A5-037 and 808-B0-654). We appreciate the invaluable collaboration of the Centro de Investigación en Estructuras Microscópicas (CIEMic), Universidad de Costa Rica for their support with SEM photomicrography, especially Ethel Sánchez. We also thank María Berenit Mendoza from the UNAM, for some of the SEM images used in this paper. Cristian Pacheco thanks the Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología de Mexico (CONACYT) for financial support that made this work possible and the Sistema Nacional de Áreas de Conservación of Costa Rica for the permits given, enabling the fieldwork. We also acknowledge Paso Pacífico in Nicaragua for the assistance in the fieldwork. José Luis Carballo thanks the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología of the University of El Salvador (ICMARES) for the travel and board funds in El Salvador, and to project CONACYT SEP 2016-254806. Johanna Segovia is grateful for the Scientific Research Secretary (SIC UES, project 13.10) of the University of El Salvador (UES) and the Ministry of Education of El Salvador for financing part of the study, and for the Ministry of Environment and Natural Resources of El Salvador for the environmental permits.

References

- Acker, K.L. & Risk, M.J. (1985) Substrate destruction and sediment production by the boring sponge *Cliona caribbaea* on Grand Cayman Island. *Journal of Sedimentary Research*, 55, 705–711.
<https://doi.org/10.1306/212F87C4-2B24-11D7-8648000102C1865D>
- Alvarado, J.J. Grassian, B., Cantera-Kintz, J.R., Carballo, J.L. & Londoño-Cruz, E. (2017) Coral reef bioerosion in the Eastern Tropical Pacific. In: Glynn, P.W., Manzello, D. & Enochs, I. (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment. Coral Reefs of the World 8*. Springer, Dordrecht, pp. 369–403.
https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_12
- Bavestrello, G., Bonito, M. & Sarà, M. (1993) Influence of depth on the size of sponge spicules. *Scientia Marina*, 57, 415–420.
- Bergquist, P.R. (1968) The marine fauna of New Zealand: Porifera, Demospongiae, Part 1 (Tetractinomorpha and Lithistida). *New Zealand Oceanographic Institute Memoir*, 188, 1–105.
- Bertolino, M., Cerrano, C., Bavestrello, G., Carella, M., Pansini, M. & Calcinai, B. (2013) Diversity of Porifera in the Mediterranean coralligenous accretions, with description of a new species. *ZooKeys*, 336, 1–37.
<https://doi.org/10.3897/zookeys.336.5139>
- Bautista-Guerrero, E., Carballo, J.L., Cruz-Barraza, J.A. & Nava, H.H. (2006) New coral reef boring sponges (Hadromerida: Clionidae) from the Mexican Pacific Ocean. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86, 963–970.
<https://doi.org/10.1017/S0025315406013932>
- Boury-Esnault, N. (1973) Résultats scientifiques des Campagnes de la ‘Calypso’ X. Campagne de la ‘Calypso’ au large des côtes atlantiques de l’Amérique du Sud (1961–1962). I. 29. Spongiaires. *Annales de l’Institut Océanographique*, 49, 263–295.
- Boury-Esnault, N., Klautau, M., Bézac, C., Wulff, J. & Solé-Cava, A.M. (1999) Comparative study of putative conspecific sponge populations from both sides of the Isthmus of Panama. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 79, 39–50.
<https://doi.org/10.1017/s0025315498000046>
- Burton, M. (1932) Sponges. *Discovery Reports*, 6, 237–392.
<https://doi.org/10.5962/bhl.part.24379>
- Calcinai, B., Azzini, F., Bavestrello, G., Cerrano, C., Pansini, M. & Thung, D.C. (2006) Boring sponges from the Ha Long Bay, Tonkin Gulf, Vietnam. *Zoological Studies*, 45, 201–212.
- Calcinai, B., Bavestrello, G. & Cerrano, C. (2004) Bioerosion micro-patterns as diagnostic characteristics in boring sponges. *Bollettino dei Musei e degli Istituti Biologici dell’Università di Genova*, 68, 229–238.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., Cuttone, G. & Cerrano, C. (2011) Excavating sponges from the Adriatic Sea: description of *Cliona adriatica* sp. nov. (Demospongiae: Clionidae) and estimation of its boring activity. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91, 339–346.
<https://doi.org/10.1017/s0025315410001050>
- Calcinai, B., Cerrano, C., Sarà, M. & Bavestrello, G. (2000) Boring sponges (Porifera, Demospongiae) from the Indian Ocean. *Italian Journal of Zoology*, 67, 203–219.
<https://doi.org/10.1080/11250000009356314>
- Carballo, J.L., Bautista-Guerrero, E. & Leyte-Morales, G.E. (2008b) Boring sponges and the modeling of coral reefs in the east Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 356, 113–122.
<https://doi.org/10.3354/meps07276>
- Carballo, J.L., Bautista, E., Nava, H., Cruz-Barraza, J.A. & Chávez, J.A. (2013) Boring sponges, an increasing threat for coral reefs affected by bleaching events. *Ecology and Evolution*, 3, 872–886.
<https://doi.org/10.1002/ece3.452>
- Carballo, J.L. & Cruz-Barraza, J.A. (2005) *Cliona microstrongylata*, a new species of boring sponge from the Sea of Cortés (Pacific Ocean, México). *Cahiers de Biologie Marine*, 46, 379–387.
- Carballo, J.L., Cruz-Barraza, J.A. & Gómez, P. (2004) Taxonomy and description of clionid sponges (Hadromerida, Clionidae) from the Pacific Ocean of México. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 141, 353–397.
<https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2004.00126.x>
- Carballo, J.L., Cruz-Barraza, J.A., Nava, H. & Bautista, E. (2008a) *Esponjas perforadoras de sustratos calcáreos: importancia en los ecosistemas arrecifales del Pacífico este*. CONABIO, México City, 187 pp.
- Carballo, J.L., Hepburn, L., Nava, H.H., Cruz-Barraza, J.A. & Bautista-Guerrero, E. (2007) Coral boring *Aka*-species (Porifera: Phloeodictyidae) from Mexico with description of *Aka cryptica* sp. nov. *Journal of Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87, 1477–1484.
<https://doi.org/10.1017/s0025315407055373>
- Carballo, J.L., Sanchez-Moyano, J.E. & Garcia-Gomez, J.C. (1994) Taxonomic and ecological remarks on boring sponges (Clionidae) from the Straits of Gibraltar (Southern Spain): tentative bioindicators? *Zoological Journal of Linnean Society*, 112, 407–424.
<https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1994.tb00329.x>
- Carroll, J.M., Shaughnessy, K.A., Diedrich, G.A. & Finelli, C.M. (2015) Are oysters being bored to death? Influence of *Cliona celata* on *Crassostrea virginica* condition, growth and survival. *Diseases of Aquatic Organisms*, 117, 31–44.
<https://doi.org/10.3354/dao02928>

- Carter, H.J. (2009) Some sponges from the West Indies and Acapulco in the Liverpool Free Museum described, with general and classificatory remarks. *Annals and Magazine of Natural History*, 9, 266–301.
<https://doi.org/10.1080/00222938209459039>
- Chaves-Fonnegra, A. & Zea, S. (2007) Observations on reef coral undermining by the Caribbean excavating sponge *Cliona delitrix* (Demospongiae, Hadromerida). In: Custódio, M.R., Lôbo-Hajdu, G., Hajdu, E., Muricy, G. (Eds.), *Porifera Research. Biodiversity, Innovation and Sustainability. Série Livros. Vol. 28*. National Museum, Rio de Janeiro, pp. 247–264.
- Cortés, J. (1992) Los arrecifes coralinos de Golfo Dulce, Costa Rica: aspectos ecológicos. *Revista de Biología Tropical Universidad de Costa Rica*, 40, 19–26.
<https://doi.org/10.15517/rgac.v0i13.13059>
- Cortés, J. (2007) Coastal morphology and coral reefs. In: Bundschuh, J. & Alvarado, G.E. (Eds.), *Central America: Geology, Resources and Hazards. Vol. 1*. Taylor & Francis, London, pp. 1–16.
<https://doi.org/10.1201/9780203947043.ch7>
- Cortés, J., Hal, N. van der & Soest, R.W.M. van (2009) Sponges. In: Wehrtmann, I.S. & Cortés, J. (Eds.), *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America. Monographiae Biologicae. Vol. 86*. Springer, Dordrecht, pp. 137–142.
https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8278-8_9
- Cortés, J. & Reyes-Bonilla, H. (2017) Human influences on Eastern Tropical Pacific coral communities and coral reefs. In: Glynn, P.W., Manzello, D. & Enochs, I. (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment. Coral Reefs of the World. Vol. 8*. Springer, Dordrecht, pp. 549–563.
https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_20
- Cruz, A. da (2017) PhotoFiltre Studio. Available from: <http://www.photofiltre-studio.com> (accessed 13 December 2017)
- Cruz-Barraza, J.A., Carballo, J.L., Bautista-Guerrero, E. & Nava, H. (2011) New species of excavating sponges (Porifera: Demospongiae) on coral reefs from the Mexican Pacific Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 91, 999–1013.
<https://doi.org/10.1017/s0025315410002079>
- Custódio, M.R., Hajdu, E. & Muricy, G. (2002) In vivo study of microsclere formation in sponges of the genus *Mycale* (Demospongiae, Poecilosclerida). *Zoomorphology*, 121, 203–211.
<https://doi.org/10.1007/s00435-002-0057-9>
- Desqueyroux-Faúndez, R. (1981) Revision de la collection d'éponges d'Amboine (Moluques, Indonésie) constituée par Bedot et Pictet et conservée au Muséum d'histoire naturelle de Genève. *Revue Suisse de Zoologie*, 88, 723–764.
<https://doi.org/10.5962/bhl.part.82404>
- Desqueyroux-Faúndez, R. & Valentine, C. (2002) Family Phloeodictyidae Carter, 1882. In: Hooper, J.N.A. & Soest, R.W.M. van (Eds.), *Systema Porifera. Vol. 1. A Guide to the Classification of Sponges*. Academic/Plenum, New York, pp. 893–905.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0747-5_94
- Diaz, M.C. & Rützler, K. (2001) Sponges: an essential component of caribbean coral reefs. *Bulletin of Marine Science*, 69, 535–546.
- Dickinson, M.G. (1945) Sponges of the Gulf of California. *Reports on the collections obtained by Alan Hancock Pacific Expeditions of Veleró III off the coast of Mexico, Central America, South America, and Galapagos Islands in 1932, in 1933, in 1934, in 1935, in 1936, in 1937, in 1939, and 1940. Vol. 11*. The University of Southern California Press, Los Angeles, 251 pp.
- Esri (2017) ArcGIS. Available from: <http://www.arcgis.com/home/index.html> (accessed 20 January 2016)
- Fromont, J., Craig, R., Rawlinson, L. & Alder, J. (2005) Excavating sponges that are destructive to farmed pearl oysters in Western and Northern Australia. *Aquaculture Research*, 36, 150–162.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2004.01198.x>
- Fütterer, D.K. (1974) Significance of the boring sponge *Cliona* for the origin of fine grained material of carbonate sediments. *Journal of Sedimentary Petrology*, 44, 79–84.
<https://doi.org/10.1306/74D72987-2B21-11D7-8648000102C1865D>
- Glynn, P.W., Mones, A.B., Podestá, G.P., Colbert, A. & Colgan, M.W. (2017) El Niño-Southern Oscillation: effects on Eastern Pacific coral reefs and associated biota. In: Glynn, P.W., Manzello, D. & Enochs, I. (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment. Coral Reefs of the World 8*. Springer, Dordrecht, pp. 251–290.
https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_8
- Goreau, T.F. & Hartman, W.D. (1963) Boring sponges as controlling factors in the formation and maintenance of coral reefs. In: Sognaes, R.F. (Ed.), *Mechanisms of hard tissue destruction*. American Association for the Advancement of Science, Washington D.C., pp. 25–54.
- Green, G. & Gómez, P. (1986) Estudio taxonómico de las esponjas de la Bahía de Mazatlán, Sinaloa, México. *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la Universidad Nacional Autónoma de México*, 13, 273–300.
- Guzmán, H.M. (1988) Distribución y abundancia de organismos coralívoros en los arrecifes coralinos de la Isla del Caño, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 36, 191–207.
- Guzmán, H.M. & Cortés, J. (1993) Arrecifes coralinos del Pacífico oriental tropical: revisión y perspectivas. *Revista de Biología Tropical*, 41, 535–557.
- Hancock, A. (1867) Note on the excavating sponges; with descriptions of four new species. *Annals and Magazine of Natural History*, 19, 229–242.
- Hechtel, G.J. (1965) A systematic study of the Demospongiae of Port Royal, Jamaica. *Bulletin of the Peabody Museum of*

- Natural History, Yale University*, 20, 1–103.
- Hill, M.S. (1999) Morphological and genetic examination of phenotypic variability in the tropical sponge *Anthosigmella varians*. *Memoirs of the Queensland Museum*, 44, 234–247.
- Hofknecht, G. (1978) Descriptions and key to the intertidal sponges of the Puerto Peñasco area in the Gulf of California. *Journal of the Arizona-Nevada Academy of Science*, 13, 51–56.
- Jefford, C.W., Rossier, J.C., Boukouvalas, J., Sledeski, A.W. & Huang, P.Z. (2004) A concise synthesis of siphonodictidine. *Journal of Natural Products*, 67, 1383–1386.
<https://doi.org/10.1021/np0400860>
- Laubenfels, M.W. de (1932) The marine and freshwater sponges of California. *Proceedings of the United States National Museum*, 81, 1–40.
<https://doi.org/10.5479/si.00963801.81-2927.1>
- Laubenfels, M.W. de (1936) A comparison of the shallow-water sponges near the Pacific end of the Panama Canal with those at the Caribbean end. *Proceedings of the United States National Museum*, 83, 441–466.
<https://doi.org/10.5479/si.00963801.83-2993.441>
- Laubenfels, M.W. de (1950) The Porifera of the Bermuda Archipelago. *Transactions of the Zoological Society of London*, 27, 1–154.
<https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1950.tb00227.x>
- Laubenfels, M.W. de (1954) The sponges of the West-Central Pacific. *Oregon State Monographs. Studies in Zoology*, 7, 1–306.
- Leal, C.V., Paula, T.S. de, Lôbo-Hajdu, G., Schönberg, C.H.L. & Esteves, E.L. (2016) Morphological and molecular systematics of the ‘*Cliona viridis* complex’ from south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96, 313–322.
<https://doi.org/10.1017/s0025315415001642>
- León-Pech, M.G., Cruz-Barraza, J.A., Carballo, J.L., Calderon-Aguilera, L.E. & Rocha-Olivares, A. (2015) Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific. *Coral Reefs*, 34, 887–897.
<https://doi.org/10.1007/s00338-015-1316-9>
- Lim, S.C., Puchakarn, S., Thai, M.Q., Wang, D. & Huang, Y.M. (2016) Inventory of sponge fauna from the Singapore Strait to Taiwan Strait along the western coastline of the South China Sea. *The Raffles Bulletin of Zoology*, 34 (Supplement), 104–129.
- López-Victoria, M., Zea, S. & Weil, E. (2006) Competition for space between encrusting excavating Caribbean sponges and other coral reef organisms. *Marine Ecology Progress Series*, 312, 113–121.
<https://doi.org/10.3354/meps312113>
- Muricy, G., Lopes, D.A., Hadju, E., Carvalho, M.S., Moraes, F.C., Klautau, M., Menegola, C. & Pinheiro, U. (2011) *Catalogue of Brazilian Porifera*. Museu Nacional, Série Livros 46, Rio de Janeiro, 300 pp.
- Murphy, G.N., Perry, C.T., Chin, P. & McCoy, C. (2016) New approaches to quantifying bioerosion by endolithic sponge populations: applications to the coral reefs of Grand Cayman. *Coral Reefs*, 35, 1109–1121.
<https://doi.org/10.1007/s00338-016-1442-z>
- Nava, H. & Carballo, J.L. (2016) Assessment of the effectiveness of natural coral fragmentation as a dispersal mechanism for coral reef boring sponges. *Marine Ecology*, 37, 1008–1018.
<https://doi.org/10.1111/maec.12314>
- Nichols, S.A. & Barnes, P.A. (2005) A molecular phylogeny and historical biogeography of the marine sponge genus *Placospongia* (Phylum Porifera) indicate low dispersal capabilities and widespread crypsis. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 323, 1–5.
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.02.012>
- Paula, T.S. de, Zilberberg, C., Hajdu, E. & Lôbo-Hajdu, G. (2012) Morphology and molecules on opposite sides of the diversity gradient: Four cryptic species of the *Cliona celata* (Porifera, Demospongiae) complex in South America revealed by mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 529–541.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.001>
- Ramsby, B.D., Hoogenboom, M.O., Whalan, S., Webster, N.S. & Thompson, A. (2017) A decadal analysis of bioeroding sponge cover on the inshore Great Barrier Reef. *Scientific Reports*, 7, 2706.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-02196-z>
- Reegan, A.D., Kinsalin, A.V., Paulraj, M.G. & Ignacimuthu, S. (2015) Larvicidal, ovicidal and repellent activities of marine sponge *Cliona celata* (Grant) extracts against *Anopheles stephensi* Liston (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8, 29–34.
[https://doi.org/10.1016/s1995-7645\(14\)60183-8](https://doi.org/10.1016/s1995-7645(14)60183-8)
- Ridley, S.O. & Dendy A. (1886) Preliminary report on the Monaxonida collected by H.M.S. ‘Challenger’. *Annals and Magazine of Natural History*, 107, 325–351, 470–493.
<https://doi.org/10.1080/00222938609459982>
- Rosell, D. & Uriz, M.J. (1991) *Cliona viridis* (Schmidt, 1862) and *Cliona nigricans* (Schmidt, 1862) (Porifera, Hadromerida): evidence which shows they are the same species. *Ophelia*, 33, 45–53.
<https://doi.org/10.1080/00785326.1991.10429741>
- Rosell, D. & Uriz, M.J. (2002) Excavating and endolithic sponge species (Porifera from the Mediterranean: species descriptions and identification key. *Organisms Diversity & Evolution*, 2, 55–86.

- <https://doi.org/10.1078/1439-6092-00033>
- Rützler, K. (1974) The burrowing sponges of Bermuda. *Smithsonian Contributions to Zoology*, 165, 1–32.
<https://doi.org/10.5479/si.00810282.165>
- Rützler, K. (2002) Family Clionidae D'Orbigny, 1851. In: Hooper, J.N.A. & Soest, R.W.M. van (Eds.), *Systema Porifera. Vol. 1. A Guide to the Classification of Sponges*. Academic/Plenum, New York, pp. 173–185.
https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0747-5_19
- Rützler, K., Piantoni, C., Soest, R.W.M. van & Díaz, M.C. (2014) Diversity of sponges (Porifera) from cryptic habitats on the Belize Barrier Reef near Carrie Bow Cay. *Zootaxa*, 3805 (1), 1–129.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.3805.1.1>
- Schönberg, C.H.L. (2000) Bioeroding sponges common to the Central Australian Great Barrier Reef: descriptions of three new species, two new records, and additions to two previously described species. *Senckenbergiana Maritima*, 30, 161–221.
<https://doi.org/10.1007/bf03042965>
- Schönberg, C.H.L. (2001) Small-scale distribution of Great Barrier Reef bioeroding sponges in shallow water. *Ophelia*, 55, 39–54.
<https://doi.org/10.1080/00785236.2001.10409472>
- Schönberg, C.H.L. (2015) Monitoring bioeroding sponges: using rubble, quadrat or intercept surveys? *Biological Bulletin*, 228, 137–155.
<https://doi.org/10.1086/bblv228n2p137>
- Schönberg, C.H.L., Fang, J.K.H. & Carballo, J.L. (2017) Bioeroding sponges and the future of coral reefs. In: Bellm, J.J. & Carballo, J.L. (Eds.), *Climate Change, Ocean Acidification and Sponges*. Springer, Cham, pp 179–372
- Schönberg, C.H.L., Fang, J.K.H., Carreiro-Silva, M., Tribollet, A. & Wisshak, M. (2017) Bioerosion: the other ocean acidification problem. *ICES Journal of Marine Science*, 74, 895–925.
<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsw254>
- Schönberg, C.H.L., Grass, S. & Heiermann, A.T. (2006) *Cliona minuscula*, sp. nov. (Hadromerida: Clionidae) and other bioeroding sponges that only contain tylostyles. *Zootaxa*, 1312, 1–24.
- Schönberg, C.H.L. & Ortiz, J.C. (2008) Is sponge bioerosion increasing? *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium, Florida*, 1, 520–523.
- Schönberg, C.H.L. & Wisshak, M. (2012) The perks of being endolithic. *Aquatic Biology*, 17, 1–5.
<https://doi.org/10.3354/ab00473>
- Scott, P.J.B., Risk, M.J. & Carriquiry, J.D. (1988) El Niño, bioerosion and the survival of East Pacific reefs. *Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, Australia*, 2, 517–520.
- Soest, R.W.M. van & Beglinger, E.J. (2009) New bioeroding sponges from Mingulay coldwater reefs, north-west Scotland. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89, 329–335.
<https://doi.org/10.1017/s0025315408002725>
- Soest, R.W.M. van, Boury-Esnault, N., Hooper, J.N.A., Rützler, K., Voogd, N.J. de, Alvarez de Glasby, B., Hajdu, E., Pisera, A.B., Manconi, R., Schönberg, C.H.L., Klautau, M., Picton, B., Kelly, M., Vacelet, J., Dohrmann, M., Díaz, M.C., Cárdenas, P. & Carballo, J.L. (2016) World Porifera Database. Available from: <http://www.marinespecies.org/porifera> (accessed 10 December 2016)
- Sollas, M.A. (1878) On two new and remarkable species of *Cliona*. *Annals and Magazine of Natural History*, 5, 54–67.
<https://doi.org/10.1080/00222937808682289>
- Thomas, P.A. (1972) Boring sponges of the reefs of Gulf of Mannar and Palk Bay. *Proceedings of the 1st Symposium on Corals and Coral Reefs*. Journal of Marine Biological Association of India, Mandapam Camp, 333–362.
- Topsent, E. (1888) Contribution a l'étude des Clionides. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 5, 1–165.
- Topsent, E. (1889) Quelques spongiaires du Banc de Campêche et de la Pointe-à-Pître. *Mémoires de la Société Zoologie de France*, 8, 1–331.
- Topsent, E. (1932) Notes sur les Clionides. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 74, 549–579.
- Tunncliffe, V. (1979) The role of boring sponges in coral fracture. In: Lévi, C. & Boury-Esnault, N. (Eds.), *Biologie des Spongiaires. Colloques Internationaux CNRS*, 291, 309–315.
- Ugalde, D., Gómez, P. & Simões, N. (2015) Marine sponges (Porifera: Demospongiae) from the Gulf of México, new records and redescription of *Erylus trisphaerus* (Laubenfels, 1953). *Zootaxa*, 3911 (2), 151–183.
<https://doi.org/10.11646/zootaxa.3911.2.1>
- Vacelet, J. & Vasseur, P. (1971) Esponges des récifs coralliens de Tuléar (Madagascar). *Tethys*, 1, 51–126.
- Vega, C. (2012) *Composición y afinidades biogeográficas de esponjas (Demospongiae) asociadas a comunidades coralinas del Pacífico Mexicano*. Doctoral thesis, Instituto Politécnico Nacional, México, 231 pp.
- Volz, P. (1939) Die Bohrschwämme (Clioniden) der Adria. *Thalassia*, 3, 1–64.
- Ward, P. & Risk, M.J. (1977) Boring pattern of the sponge *Cliona vermifera* in the coral *Montastrea annularis*. *Journal of Paleontology*, 51, 520–526.
- Xavier, J.R., Rachello-Dolmen, P.G., Parra-Velandia, F., Schönberg, C.H.L., Breeuwer, J.A. & Soest, R.W.M. van (2010) Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolitan” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 13–20.
<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.030>

- .3. Pacheco et al. 2020. Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to *Cliona mucronata* (Demospongiae).**




Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to *Cliona mucronata* (Demospongiae)

Cristian PAcheco, José Luis Carballo, José Antonio Cruz-Barraza, Christine Hanna Lydia Schönberg & Barbara Calcinaï


To cite this article: Cristian PAcheco, José Luis Carballo, José Antonio Cruz-Barraza, Christine Hanna Lydia Schönberg & Barbara Calcinaï (2020) Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to *Cliona mucronata* (Demospongiae), Systematics and Biodiversity, 18:6, 573-591, DOI: [10.1080/14772000.2020.1776785](https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1776785)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/14772000.2020.1776785>

 View supplementary material 

 Published online: 17 Jul 2020.

 Submit your article to this journal 



 Article views: 38

 View related articles 

 View Crossmark data 

Research Article

Delimiting boundaries between species: excavating sponges close to *Cliona mucronata* (Demospongiae)

 CRISTIAN PACHECO¹, JOSÉ LUIS CARBALLO² , JOSÉ ANTONIO CRUZ-BARRAZA²,
CHRISTINE HANNA LYDIA SCHÖNBERG^{3,4} & BARBARA CALCINAI⁵ 
¹Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlán, México

²Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlán, México

³Oceans Graduate School and UWA Oceans Institute, the University of Western Australia, Crawley, Western Australia

⁴Aquatic Zoology, Western Australian Museum, Welshpool, Western Australia

⁵Dipartimento di Scienze della Vita e dell'Ambiente, Università Politecnica delle Marche, Le Marche, Italia

(Received 17 December 2019; accepted 28 May 2020)

The integration of morphological and molecular markers is essential in the recognition of inter- and intraspecific variability, as well as to distinguish species. Spicular characters of the excavating sponge *Cliona mucronata* Sollas, 1878 were reported to vary depending on sample origin, suggesting the existence of an unrecognized species complex. We analyse specimens from central Indo-Pacific, Eastern Tropical Pacific (ETP) and the south-western Caribbean in a morpho-molecular approach. All specimens were in alpha morphology and had two types of tylostyles, a slimmer-longer and a wider-shorter one. Spicule measurements from 35 specimens resulted in three morphologically distinct clades consistent with the perceived species and the region of provenance. Molecular markers COI mtDNA and 28S rDNA of the Mesoamerican material showed a well-supported separation between these species and confirmed our morphological results. Based on the above evidence we described two new species, *Cliona mariae* sp. nov. from the ETP and *Cliona yorkin* sp. nov. from the south-western Caribbean Sea. Both are close to, but different from *C. mucronata sensu stricto*. We also detected intraspecific variability within *C. mariae* sp. nov. along the ETP. A circumtropical distribution of *C. mucronata* is here rejected, and we propose that other species of excavating sponges with a wide distribution in different oceans need to be carefully reviewed as well.

<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:act:453CFFBC-9F22-471C-9AC5-42E970133A75>
<http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:act:CE75AB79-2569-48AE-AA70-B6B9CA2FE340>

Key words: Caribbean, Eastern Tropical Pacific, molecular taxonomy, morphology, new species, Porifera, spicule biometry

Introduction

Sponges are often difficult to identify, and species characterization involves laboratory analyses that represents a comparatively large effort. This situation has often resulted in the accidental lumping of morphologically similar, but different species under one name, thereby creating species complexes with cryptic, undiscovered species (e.g. Uriz & Turon, 2012, Table 1). The case may be even more difficult for some excavating sponges that have previously been described as

taxonomically challenging and were often either incorrectly or incompletely identified, leading to formerly unresolved species complexes (Schönberg et al., 2017, Table 7.2, p. 191).

Recent work progressively looked into well-established species complexes of excavating sponges, either by investigating the morphological characters (e.g. Schönberg, 2002; Zea & Weil, 2003) or with a main focus on molecular means (e.g. de Paula, Zilberberg, Hadju, & Lôbo-Hajdu, 2012; Escobar et al., 2012; Leal et al., 2016; Xavier et al., 2010). Other, less well-studied species groups remained largely unresolved, even though subtle morphological differences implied the necessity for further work.

Correspondence to: Cristian Pacheco. E-mail: cristian.pachecosolano@gmail.com

Table 1. Key records of the occurrence of *Cliona* cf. *mucronata* species.

Location	Source	Remarks, based on information from the respective publication
Tropical Atlantic: Caribbean		
Belize	Rützler <i>et al.</i> , 2014	unusual spicules, as 'cf.'
Cuba	Buznego & Alcolado, 1987	as 'cf.'
Jamaica	Scott, 1987	
Barbados	MacGeachy & Stearn, 1976; MacGeachy, 1977; Holmes, 2005	
Panama	Lukowiak, 2016	spicules in sediment
Indian Ocean:		
Persian Gulf	Jafari <i>et al.</i> , 2016	
Madagascar	Vacelet & Vasseur, 1971; Vacelet <i>et al.</i> , 1976	partly with unusual spicule features (see Schönberg <i>et al.</i> , 2017, appendix A)
Seychelles	Thomas, 1973 ¹ ; Calcinai <i>et al.</i> , 2000	¹ unusual spicules
Maldives	Calcinai <i>et al.</i> , 2000	
Laccadives	Thomas, 1989	
South India	Annandale, 1915; Thomas, 1972 ²	² typical spicules
Andaman and Nicobar Islands	Pattanayak, 2006; Namboothri & Fernando, 2012; Immanuel <i>et al.</i> , 2015	
Ningaloo Reef	Schönberg <i>et al.</i> , 2017, appendix A	typical spicules
Pacific:		
Gulf of Thailand	Dawydoff, 1952	
Vietnam	Dawydoff, 1952	
Philippines	Calcinai <i>et al.</i> , 2005	unusual spicules
Indonesia	Desqueyroux-Faundes, 1981 ³ ; Calcinai <i>et al.</i> , 2005 ⁴	³ typical spicules, ⁴ unusual spicules
Great Barrier Reef	Schönberg <i>et al.</i> , 2017	authors already cautioned that this location may have >1 species
Micronesia	Kelly-Borges & Valentine, 1995	
Gulf of California and Mexico	Bautista-Guerrero <i>et al.</i> , 2006; Carballo <i>et al.</i> , 2008	unusual spicules
Eastern Tropical Pacific	Pacheco <i>et al.</i> , 2018	unusual spicules, as 'aff.'

Cliona mucronata is such a case. It was originally described from an unknown locality that was inferred to be in the Indo-Pacific, which was supported by later reports (Calcinai *et al.*, 2005; Calcinai *et al.*, 2006; Schönberg *et al.*, 2017; Sollas, 1878). Further accounts on morphologically similar excavating sponges from the Eastern Tropical Pacific (ETP) and the Caribbean led to the assumption that *C. mucronata* may have a wide, continuous circumtropical distribution (Table 1). However, when employing modern concepts of evolution and connectivity, this assumption becomes less likely.

Thus, it appears possible that different, morphologically similar sponges were reported under the same name. The original description of *C. mucronata* mentioned three types of spicules, 'a straight acute [...], having a cylindrical shaft, which terminates at one end in a more or less spherical head and at the other is rounded off bluntly and then produced axially into a short sharp spin or mucrone [...]; a slender pin-like acute [...], straight or curved, with a more or less spherical head and sharp point [...]; a minute or flesh-spicule, body spirali-sinuously curved once or oftener, or straight, irregularly spined' (Sollas, 1878). As the latter spicules, the spirasters are extremely rare

(Calcinai *et al.*, 2005), occasional reports of missing microscleres cannot be used as a taxonomic character without a meticulous re-examination of respective specimens (e.g., Thomas, 1972). Most accounts strongly relied on the robust mucronate tylostyles for species recognition (e.g., Jafari *et al.*, 2016), yet the morphology of this tylostyle slightly varies across specimens (e.g., Sollas, 1878 compared to Calcinai *et al.*, 2005; Rützler *et al.*, 2014 and to Vacelet *et al.*, 1976). Therefore, to date the differences in tylostyle shape were not seriously questioned and were accepted as an expression of natural variability. Notwithstanding, when comparing Indo-Pacific with ETP or Caribbean material, differences in shape and size of short tylostyles seems to be difficult to explained with natural variability (e.g., Rützler *et al.*, 2014; Sollas, 1878).

In order to test geographic variability in spicule morphology, we re-assessed specimens of *C. mucronata sensu stricto* (with spirasters) from the Indo-Pacific, as well as similar sponges from the ETP and the south-western Caribbean integrating molecular and morphological systematics. In the past, molecular markers such as 28S, COI, ITS, ATP6 have been used to solve species complexes in excavating sponges (e.g. Xavier *et al.*, 2010; de Paula *et al.*, 2012; Escobar *et al.*, 2012; León-

Pech et al., 2015; Leal et al., 2016). We aimed at recognizing and distinguishing the different species within the putative species complex and to provide taxonomic descriptions.

Materials and methods

Sample acquisition and reference collections

Mesoamerican specimens close to *Cliona mucronata* were collected from the Pacific side of Mexico and Costa Rica, and the Caribbean Sea of Costa Rica between 2013 and 2017. Samples were compared to type specimens from the central Indo-Pacific (Fig. 1). Thereby, our samples corresponded to biogeographic realms as proposed by Spalding et al. (2007): Eastern Tropical Pacific or ETP (for material from the Mexican and Costa Rican Pacific), central Indo-Pacific (for the Indonesian and Australian material), and the south-western Caribbean (for material from the Caribbean Sea of Costa Rica). Sponges from the central Indo-Pacific were assumed to be the most similar specimens with regards to the original *C. mucronata* and represented the most typical material. All coordinates displayed for sample sites are WGS84 decimal degrees, approximate locations.

All sponges were collected by scuba, either using a hammer and chisel or by picking up coral fragments from the bottom. The material was preserved in ethanol (70–100% depending on sampling method). All Mesoamerican specimens were deposited in the sponge collection of the Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Mazatlán (acronym LEB-ICML-UNAM abbreviated as LEB) and in the Zoological Museum, Universidad de Costa Rica, San Pedro, Montes de Oca (acronym MZUCR). Comparative material consisted of one specimen from Bunaken, North Sulawesi, Indonesia (Calcinai et al., 2013) and nine specimens from north-western Australia and the central Great Barrier Reef. These samples originated from the Western Australian Museum (acronym WAM) and the co-author's reference collections as listed in 'Material examined' (BC – collection Barbara Calcinai, CS – collection Christine Schönberg).

Morphological analysis

Small subsamples of sponge tissue were digested in glass test tubes in heated, concentrated nitric acid (70%). Freed spicules were then washed three times in distilled water and 100% ethanol after settling out and after carefully removing the supernatant with a pipette. Spicules were kept in the last volume of ethanol and resuspended to produce permanent spicule preparations

on slides. The remaining aliquot was placed onto a stub for scanning electron microscopy.

Tylostyles were measured for maximum length, shaft and tyle diameter (perpendicular to the spicule axis) with light microscopy (CH30RF100, Olympus, Japan). Per specimen (35), per tylostyle type (2) and per spicule dimension (3) 25 measurements were obtained, resulting in a total of 5250 measurements. At least eight samples per region were analysed. Tylostyles with a shaft width less than 2 μm were considered to be immature and were not taken into account. Spirasters were absent in Mesoamerican sponges and very rare in central Indo-Pacific material, where present they were measured for total length ($N=25$). A table with spicule dimensions for each specimen is available in appendix A1 (Table S1).

A problem associated with sponges is the possibility that the species of interest is accompanied by foreign spicules from neighbouring species or that there is more than one excavating sponge in the same substratum. To avoid bias, statistical analysis based on spicule measurements were carried out using only the short tylostyles that are very characteristic for *C. mucronata*-like sponges.

Short tylostyle dimensions were quantitatively compared across specimens and regions. Data-grouping was examined by cluster analysis with the statistics software JMP® (v. 7, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). The specimens were further examined using the Ward hierarchical clustering method (Ward, 1963). The groups detected were later analysed via Box Plot Graphics and Tukey–Kramer HSD (Honestly Significant Difference) to compare means between groups.

To observe bioerosion traces, sponge tissue was removed from fragments of coral with 6% sodium hypochlorite. Fragments were then washed with distilled water, dried and placed onto a stub and gold-sputtered for SEM (JFC-1100, JEOL, Japan). Erosion traces, as well as spicules, were photographed by light microscopy and SEM (JSM6360LV, JEOL, Japan). Resulting images were edited with PhotoFiltre 7 (Da Cruz, 2018) for optimal contrast.

Molecular analysis

Mesoamerican specimens from the ETP and the Tropical Atlantic were further assessed by molecular means, extracting, purifying, amplifying, and sequencing. DNA extraction and PCR amplification of specimens from the Indo-Pacific was unsuccessful and depleted the available material, so these samples were not included in the molecular analysis. Total genomic DNA was extracted and purified with the Wizard SV Kit (Promega, Madison, USA), following product instructions. Analyses were

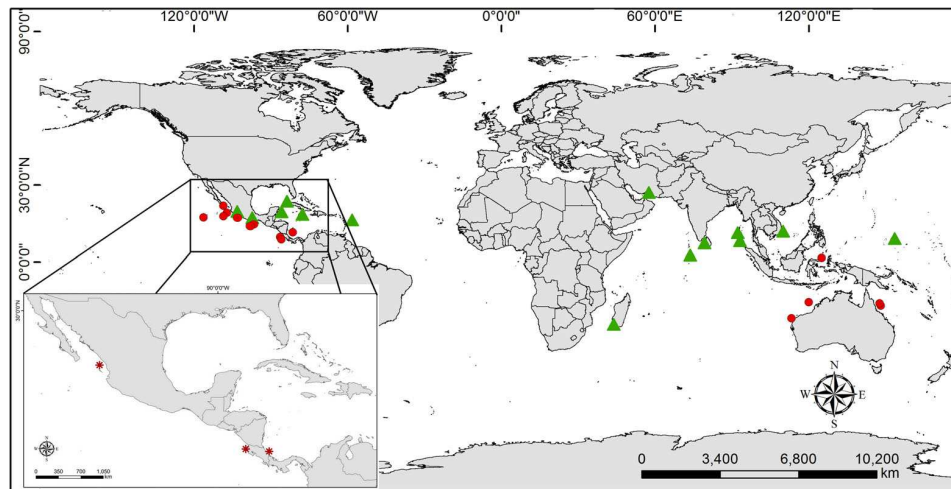


Fig. 1. Sampling sites of specimens of the *Cliona mucronata* species complex. The triangles on the map show locations for published records of occurrence, suggesting a nearly continuous circumtropical distribution for this species complex (see references in Table 1). The circles show the sites of the individuals used for the present morphological analysis. The inset map displays the sample sites of the Mesoamerican specimens that were used for the genetic analysis.

performed for two molecular markers, mitochondrial cytochrome oxidase subunit 1 (COI), employing the primers LCO1490 (Folmer *et al.*, 1994) and dgHCO2198 (Meyer *et al.*, 2005); and partial sequence of nuclear ribosomal 28S rDNA with the primers C2 and D2 (Chombard *et al.*, 1998). These two markers have previously been successfully implemented for species identification and systematics in clionaid species (e.g., Barucca *et al.*, 2007; Leal *et al.*, 2016; León-Pech *et al.*, 2015; Mote *et al.*, 2019; Xavier *et al.*, 2010).

PCR reactions were carried out in a volume of 12.5 μ l and consisted of 6.4 μ l distilled water (sterile MilliQ), 0.75 μ l deoxyribonucleotide triphosphates (0.2 mM), 0.75 μ l MgCl₂ (8 mM), 0.50 μ l of each primer (10 μ M), 2.50 μ l 5 \times PCR buffer (Promega, Madison, USA), 0.1 μ l Taq DNA polymerase, and 1 μ l genomic DNA (~50–100 ng). Thermal cycling conditions for COI were maintained by an internal cycler with 5 min at 94 $^{\circ}$ C, 5 cycles of 94 $^{\circ}$ C for 30 s, 45 $^{\circ}$ C for 1:30 min, and 72 $^{\circ}$ C for 1 min. Afterward, 35 cycles of 94 $^{\circ}$ C for 30 s, 54 $^{\circ}$ C for 1:30 min, 72 $^{\circ}$ C for 1 min, and final extension of 72 $^{\circ}$ C for 7 min. For 28S the thermal cycling conditions were 94 $^{\circ}$ C for 5:30 min, 30 cycles each at 94 $^{\circ}$ C for 30 s, 50 $^{\circ}$ C for 30 s, 72 $^{\circ}$ C for 1:30 min, and a final extension of 72 $^{\circ}$ C for 10 min (Multigene Optimax, Labnet International, Inc., USA).

Products were purified using the Wizard purification kit (Promega) and then sequenced in both directions (forward and reverse) using Applied Biosystems 3730xl DNA analysers by Macrogen (<https://dna.macrogen.com>). Once obtained, the sequences were verified and edited with CodonCode Aligner 2.0.1 ([\[www.codoncode.com/aligner/trial.php\]\(http://www.codoncode.com/aligner/trial.php\)\). The Basic Local Alignment Search Tool of the National Center for Biotechnology Information was applied to verify the identity of sequences \(BLAST NCBI; <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>\), as well as to obtain nearby sequences that could be used as outgroups, such as *Cliona celata* Grant, 1826, *Cliona chilensis* Thiele, 1905, and *Cliona vermifera* Hancock, 1867. We also sequenced one sample from the Mexican Pacific for *C. vermifera* \(Table 2\). The sequences were deposited in GenBank under the accession numbers MT184919–MT184927, MT186655–MT186668 and MT186151.](https://</p>
</div>
<div data-bbox=)

The alignments were accomplished with Mesquite v.2.75 (Maddison & Maddison, 2011). Employing the program JModelTest 2.0.1 generated the best substitution model (Posada, 2008). According to the Akaike Information Criterion Corrected and the Bayesian Information Criterion, HKY+I provided the most accurate model of sequence evolution for both molecular markers. A Parsimony analysis was implemented in the TNT program according to Goloboff *et al.* (2008). Consistency and retention index were also obtained. A Maximum likelihood analysis was completed in RAxML on the CIPRES platform (Stamatakis, 2014; Miller *et al.*, 2010), and the consensus trees were assembled in PAUP (Swofford, 2002). Finally, MrBayes 3.2.1 was used for Bayesian Inferences analysis (Ronquist & Huelsenbeck, 2003). The program was run with four Markov chains, each 10,000,000 generations long. These were sampled every 200 trees with a burn-in of 25%. Finally, the Bayesian topology is here

Table 2. Sequences of clionaid specimens used in the molecular analysis, separating the two Mesoamerican species *Cliona mariae* sp. nov. and *Cliona yorkin* sp. nov.

Species	Region	Collection site	Code	Marker	GenBank	Fuente
<i>Cliona mariae</i> sp. nov.	ETP Costa Rica	Playa Esmeralda	LEB-3153	28S/COI	MT184914/MT186655	This study
	ETP Costa Rica	Bahía Salinas	LEB-3159	28S/COI	MT184915/MT186661	This study
	ETP Costa Rica	Bahía Culebra	LEB-3155	COI	MT186660	This study
	ETP Costa Rica	Playa Virador	LEB-3158	28S	MT184916	This study
	ETP Costa Rica	Bahía Salinas	LEB-3157	28S/COI	MT184917/MT186662	This study
	ETP Costa Rica	Playa Esmeralda	LEB-3154	28S	MT184918	This study
	ETP Costa Rica	Playa Esmeralda	LEB-3175	28S/COI	MT184919/MT186666	This study
	ETP Costa Rica	Bahía Salinas	LEB-3156	28S	MT184920	This study
	ETP Costa Rica	Playa Blanca-Matapalo	LEB-3152	28S/COI	MT184921/MT186667	This study
	ETP Mexico	Isla Isabel, Mexico	LEB-1187	28S/COI	MT184922/MT186656	This study
	ETP Mexico	Isla Isabel, Mexico	LEB-3176	28S/COI	MT184923/MT186657	This study
	ETP Mexico	Isla Isabel, Mexico	LEB-3177	28S/COI	MT184924/MT186658	This study
	ETP Mexico	Isla Isabel, Mexico	LEB-3178	COI	MT186659	This study
	<i>Cliona yorkin</i> sp. nov.	Caribbean Sea	Cahuita, Costa Rica	LEB-3160	28S/COI	MT184925/MT186664
Caribbean Sea		Cahuita, Costa Rica	LEB-3161	28S	MT184926	This study
Caribbean Sea		Cahuita, Costa Rica	LEB-3163	28S/COI	MT184927/MT186663	This study
Caribbean Sea		Cahuita, Costa Rica	LEB-3162	COI	MT186665	This study
<i>Cliona vermifera</i>	ETP Mexico	Isla Isabel, Mexico		28S/COI	MT186151/MT186668	This study
	ETP Mexico	Pacific of Mexico		COI	KP702141.1	León-Pech et al., 2015
<i>Cliona chilensis</i>	South America	Chile		COI	HM999012	de Paula et al., 2012
	South America	Chile		28S	MG883732.1	Gastaldi et al., 2018
<i>Cliona cf. celata</i>	Tropical Atlantic	Brazil		COI	HM999029	de Paula et al., 2012
	Tropical Atlantic	Brazil		28S	MG883734	Gastaldi et al., 2018

Cliona cf. celata, *Cliona chilensis*, and *Cliona vermifera* were used as outgroup.

presented with their respective posterior probability (BY) and bootstrap values of Parsimony (P) and Maximum likelihood (ML).

Results

Systematics

Family Clionidae DOrbigny, 1851

Genus *Cliona* Grant, 1826

Synonymy: See Van Soest *et al.*, 2019.

Type species: *Cliona celata* Grant, 1826.

Diagnosis for genus: Sponges mainly in alpha morphology (endolithic-excavating, connecting to ambient water through papillae), some species predominantly in beta morphology by also forming a coherent surface crust, and some epilithic species in gamma form. Some gamma-form species attaining large sizes, irregular massive or cup shapes, but not developing specialized incurrent or excurrent features other than the original pori- and oscula-bearing papillae. Spicules are tylostyes as megascleres, raphides as accessory scleres, but never of structural importance, and spiraster-like microscleres. Spirasters are straight, bent, kinked, spiraled, or helical spiny rhabds, including amphisterose forms clearly derived from true spirasters; extreme microsclere forms may be entirely smooth (Rützler, 2002).

Taxonomic descriptions

Cliona mucronata Sollas, 1878

Synonyms. *Cliona mucronata* Sollas, 1878. *Cliona mucronata*. –Annandale (1915); Dawydoff (1952); Vacelet and Vasseur (1971); Thomas (1972, 1973, 1989); Vacelet *et al.* (1976); Desqueyroux-Faundez (1981); Kelly-Borges and Valentine (1995); Calcinaï *et al.* (2000); Calcinaï *et al.* (2013); Pattanayak (2006); Namboothri and Fernando (2012); Immanuel *et al.* (2015); Jafari *et al.* (2016); Schönberg *et al.* (2017).

Material examined. BC-BU79, Bunaken, North Sulawesi, Indonesia, Celebes Sea, western Pacific (1.620, 124.750), 5 m, Mar/22/2000, coll. C. Cerrano and B. Calcinaï. CS-FJB2013-10 (extra slide LEB-3165), Juno Bay, Fantome Island, central Great Barrier Reef, Australia, western Pacific (–18.680, 146.513), 1 m, Jan/18/2013. CS-LPB2011-rTS1-1p (extra slide LEB-3167), Little Pioneer Bay, Orpheus Island, central Great Barrier Reef, Australia, western Pacific (–18.598, 146.490), 0.5 m, May/21/2011. CS-LPB2011-rTS1-2p (extra slide LEB-3168), Little Pioneer Bay, Orpheus Island, central Great Barrier Reef, Australia, western

Pacific (–18.598, 146.490), 0.5 m, May/22/2011. CS-SB-1.2 (extra slide LEB-3169), Sandy Bay, Ningaloo Reef, Western Australia, eastern Indian Ocean (–22.224, 113.835), 4.8 m, Mar/16/2012. WAM Z97511 (extra slide LEB-3170), Clerke Reef, Rowley Shoals, Western Australia, eastern Indian Ocean (–17.289, 119.376), 12–18 m, Oct/10/2013. CS-FJB2013-09, Juno Bay, Fantome Island, central Great Barrier Reef, Australia, western Pacific (–18.680, 146.513), 1 m, Jan/18/2013. CS-FJB2013-16, Juno Bay, Fantome Island, central Great Barrier Reef, Australia, western Pacific (–18.680, 146.513), 1 m, Jan/18/2013.

Diagnosis. Sponges exclusively in papillate alpha morphology, with two types of tylostyes as megascleres, longer slim and shorter robust, latter mucronate. Rare spirasterose microscleres. Diaphragms consisting of densely packed shorter, mucronate tylostyes.

Description. The specimens were found in alpha morphology and excavating coral substratum, commonly being less than 2 cm in diameter and occurring in 0.5–18 m depth. The choanosome colour in life was yellow or ochre, becoming very light beige in ethanol. The contracted papillae are minute, no fusion was observed. The bioerosion chambers were mostly circular in outline, often in vaguely chain-of-bead arrangement in the densest parts of the substratum. The erosion scars were polygonal, with a mean diameter of 48.3 μm (SD = 13.3, $n = 15$; Fig. 2A). Apertures connecting the bioerosion chambers were minute and 100–150 μm in diameter (Fig. 2B).

The sponge has two types of megascleres, both tylostyes (Fig. 3A). (i) Longer and slimmer tylostyes, straight or curved, with terminal or slightly subterminal spherical tyles. This type of tylostyle forms the papillar palisade. Length 122.5 – (204.3) – 392.5 μm , shaft width 2.5 – (6.3) – 17.5 μm , tyle diameter 2.5 – (9.2) – 17.5 μm (all spicule data used in this description are means across specimens after calculating means per specimen, with $n = 25$ per specimens; see Appendix A1 for means per specimen). (ii) Short and robust mucronate tylostyes, straight or slightly curved, with predominantly terminal or occasionally subterminal, spherical tyle. Their shaft commonly ends in a small, sharp, clearly demarcated mucron (Fig. 3A, arrow). This type of tylostyle forms the diaphragms (Fig. 2C) and is abundant in the choanosome. Length 52.5 – (90.4) – 175 μm , shaft width 5 – (13.1) – 20 μm , tyle diameter 5 – (14.3) – 20.3 μm . Microscleres are spirasters with a maximum of four bends, slim spines that end in sharp points that can occasionally be branching or split. Total spiraster length 11 – (16.9) – 22.8 μm (mean across

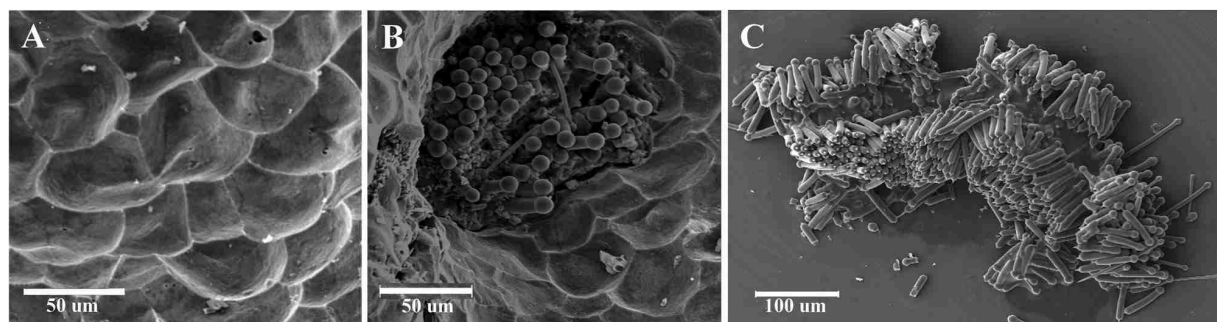


Fig. 2. Morphological characteristics of *Cliona mucronata*, from Indonesia (BC-BU79); A. Erosion scars on chamber walls, resulting from the removal of sponge chips; B. Aperture connecting two bioerosion chambers with spicules still in place; C. Diaphragm with densely packed mucronate tylostyles, damaged by preparation.

the following specimens: BC-BU79, CS-FJB2013-09, CS-FJB2013-16; each with $n = 25$).

Distribution and ecology. Our specimens of *Cliona mucronata* occurred in tropical shallow water to about 20 m depth, which matches earlier reports (Vacelet & Vasseur, 1971; Calcinai et al., 2013). These reports and our data give *C. mucronata* a distribution between the western Indian Ocean and the central western Pacific (Schönberg et al., 2017). To date this species has only been found in coral and gorgonian substrata (Sollas, 1878; Thomas, 1972; Vacelet et al., 1976; Calcinai et al., 2000, 2013; Namboothri & Fernando, 2012), where it often lives in close vicinity with other excavating sponges, at times even with tissue contact (Calcinai et al., 2000; C. Schönberg, pers. obs).

Remarks. Sollas (1878) described *C. mucronata* as a sponge excavating at the base of a gorgonian belonging to the genus *Isis* Linnaeus, 1758. This genus of octocorals is predominantly distributed in the Indo-Pacific (Costello et al., 2007), therefore the type locality of *C. mucronata* is assumed to be in the Indo-Pacific. Following records of specimens with typical spicules were mostly generated from the Indian Ocean or western Pacific, which confirms the Indo-Pacific origin and which we regarded as the distribution range of *C. mucronata* (distribution records e.g., Calcinai et al., 2006; Schönberg et al., 2017). Our material from Indonesia and Australia had characteristic spicules consistent with the original description, and we assume that these represented specimens conspecific with Sollas' type. For the quantitative analysis, we only included specimens from central Indo-Pacific that had spirasters, and those were treated as *Cliona mucronata sensu stricto* in accordance with the original description of Sollas (1878).

The diaphragms mentioned in the description are structures that were first defined by Sollas (1878) as conical or tubular, open at both ends, and formed of spicules closely packed together side by side. They are attached to the walls of the chambers in sections where

two chambers are connected and there is flow of water. This could be indicative of a regulatory function of the water flow inside the chambers of some excavating sponges, or as a defence barrier to preserve the integrity of the chamber, as Topsent (1932) suggested.

Cliona mariae sp. nov.

Synonyms. *Cliona mucronata*. – sensu Bautista-Guerrero et al. (2006); Carballo et al. (2008).

Cliona aff. *mucronata*. – sensu Pacheco et al. (2018).

Not *Cliona mucronata* Sollas, 1878 (a valid species).

Type specimens. HOLOTYPE: LEB-3159, Bahía Salinas, north Pacific of Costa Rica (11.046, –85.697), 8 m, Dec/03/2012. PARATYPES: LEB-1425, Cabo Pulmo, San Lucas, Baja California, Mexican Pacific (23.438, –109.426), 7 m, Mar/10/2007. LEB-1462, Canal de San Lorenzo, La Paz, Baja California, Mexican Pacific, 5 m, Mar/12/2007. LEB-1666, Playa Blanca, Isla Socorro (Islas Revillagigedo), Mexican Pacific (18.814, –111.041), 4 m, May/5/2008. LEB-1722, Islas Mariás, Mexican Pacific (21.844, –105.884), 5 m, Jun/20/2008. LEB-3155, Bahía Culebra, Gulf of Papagayo, north Pacific of Costa Rica (10.618, –85.658), 15 m, Dec/04/2012. LEB-3156, Bahía Salinas, north Pacific of Costa Rica (11.046, –85.697), 20 m, Dec/03/2012. LEB-3157, Bahía Salinas, north Pacific of Costa Rica (11.046, –85.697), 10 m, Dec/03/2012. LEB-3178, Isla Isabel, Mexican Pacific (21.844, –105.884), Mar/21/2017.

Additional exemplars. LEB-1187, Islas Isabel, Mexican Pacific (21.844, –105.884), 4 m, May/25/2006. LEB-1275, Michoacán, Mexican Pacific, 8 m, Jun/24/2005. LEB-3150, Playa Coral, Oaxaca, Mexican Pacific (15.861, –97.086), Jan/25/2018. LEB-3151, San Agustín, Oaxaca, Mexican Pacific (15.749, –96.120). LEB-3152, Playa Matapalo, north Pacific of Costa Rica (10.531, –85.752), Eastern Tropical Pacific, 2 m, Dec/

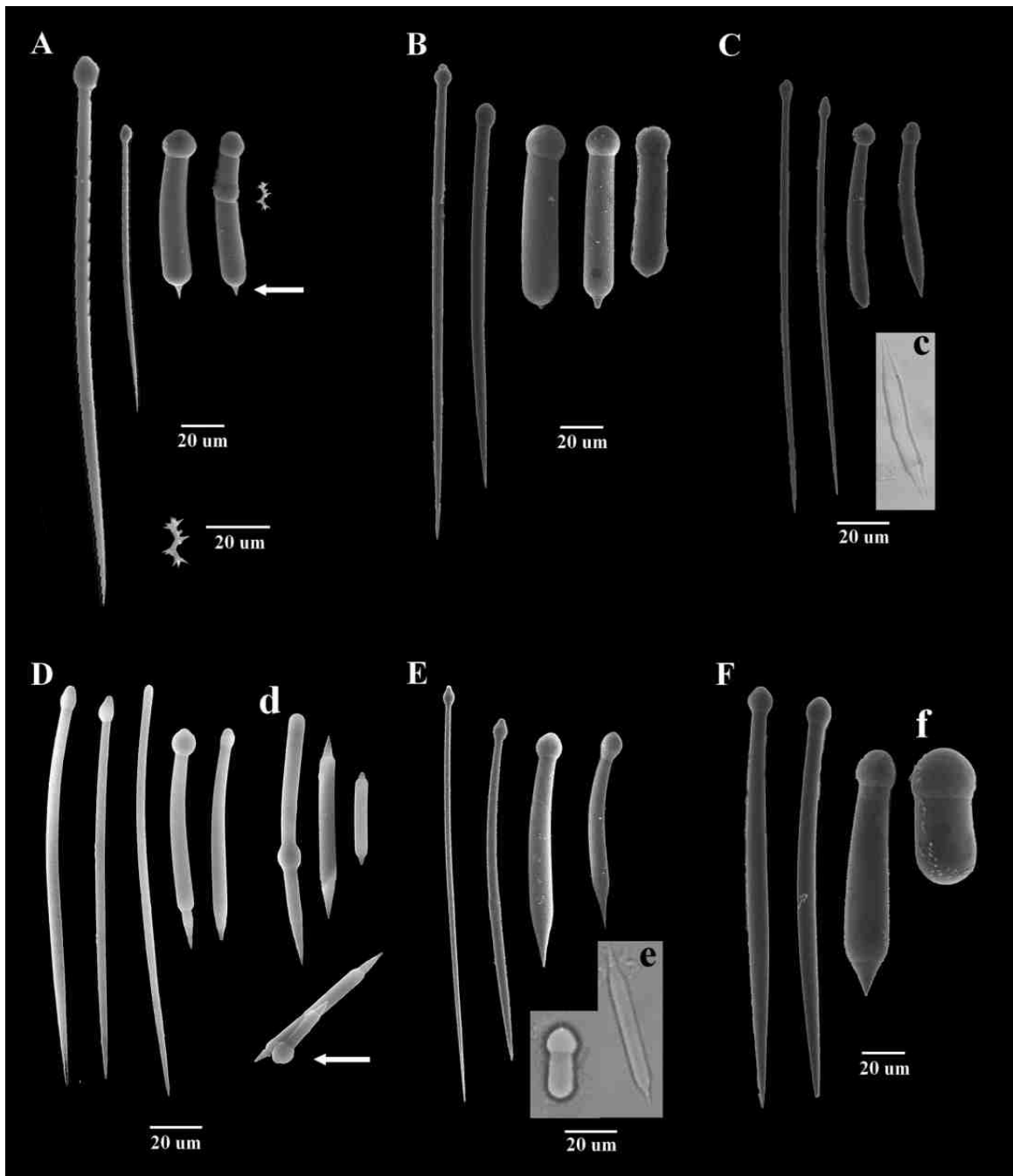


Fig. 3. Scicules from specimens of *Cliona mucronata*-like sponges. A. Scicules from Indonesia with spirasters (BC-BU79) – this spiculation is regarded by us as typical for *C. mucronata sensu stricto*, the arrow marks the mucron; B. Scicules from a single specimen from Australia, in which no spirasters were found (CS-LPB2011-TS2-130); C. Scicules of *Cliona mariae* sp. nov. from the coastal Mexican Pacific (LEB-3150); D. from Marias Islands (LEB-1722); and E. from the Costa Rican Pacific (LEB-3154); F. Scicules of *Cliona yorkin* sp. nov. from the south-western Caribbean (LEB-3160). Malformed scicules are marked with lowercase letters (c–f), tylostyle-like thumb tacks marked with the arrow (d).

20/2012. LEB-3153, Playa Esmeralda, Golfo de Papagayo, north Pacific of Costa Rica (10.591, –85.669), 5 m, Dec/18/2012. LEB-3154, Playa

Esmeralda, Golfo de Papagayo, north Pacific of Costa Rica (10.591, –85.669), 5 m, Dec/18/2012. LEB-3175, Playa Esmeralda, Golfo de Papagayo, north Pacific of

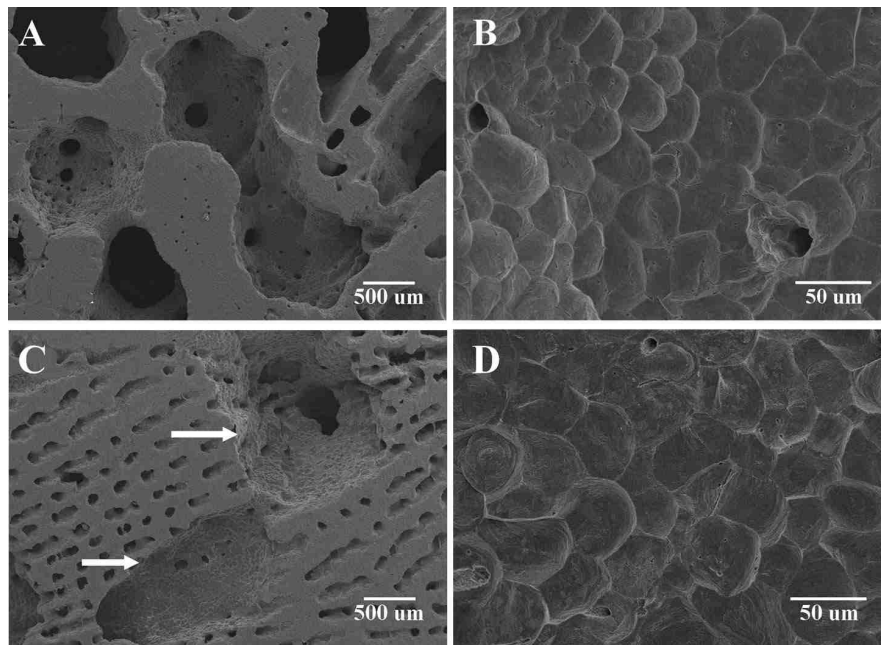


Fig. 4. Erosion traces of *Cliona mariae* sp. nov. holotype (A – B) and *Cliona yorkin* sp. nov. holotype (C – D); A, C. Erosion chambers in cross-section; B, D. Erosion scars on the chamber walls, resulting from the removal of sponge chips.

Costa Rica (10.591, –85.669), 1 m, Dec/18/2012. LEB-3176, Isla Isabel, Mexican Pacific (21.844, –105.884), Mar/21/2017. LEB-3177, Isla Isabel, Mexican Pacific (21.844, –105.884), Mar/21/2017.

Zoobank registration. <http://zoobank.org/act:453CFFBC-9F22-471C-9AC5-42E970133A75>

Etymology. The species is named after Mrs Maria Santana, who was the person that assisted us during fieldwork.

Diagnosis. Sponge of the *C. mucronata* species complex in alpha morphology, with two types of tylostyles as megascleres, slimmer-longer tylostyles and ensiform-shorter tylostyles, and derivates. Short tylostyles thinner than in *C. mucronata*. Tylostyles overall shorter than in other known *C. mucronata* species complex. No microscleres.

Description. The holotype of *C. mariae* sp. nov. was found in alpha morphology, growing into live coral *Pavona gigantea* Verrill, 1869 at 8 m depth. Paratypes were on dead corals *Porites* sp. and *Pocillopora* sp., as well as in shells of dead molluscs, at depths of 8–20 m. The colour in life is orange, preserved it is beige or ochre. No differences of colouration between the ecto- and choanosome were seen. Papillae were measured after being ethanol-preserved, their diameter was 405 µm on average (SD=95.6, $n=10$), separated from each other by a maximum distance of 200–1700 µm,

and without papillar fusion. Bioerosion chambers were circular, ovoid or irregular in outline, with a mean maximum diameter of 1.4 mm in the holotype (SD=0.6, $n=10$; Fig. 4A). Erosion scars were polygonal, with a mean maximum diameter of 44.1 µm (SD=9.1, $n=15$; Fig. 4B).

The species has two types of megascleres, both are tylostyles (Fig. 3C–E). (i) The long and thin tylostyles had a length of 110.0 – (127.2) – 150.0 µm, shaft width of 2.5 – (2.6) – 3.8 µm, and tyle diameter of 5.0 – (5.2) – 7.5 µm ($n=25$ for the holotype; see Appendix A1 for means of further specimens). (ii) The shaft of the short and ensiform tylostyles was straight or slightly curved and gradually widened with distance from the tyle, with the widest diameter in the lower half of the shaft (ensiform shape). Where the shaft was terminally slimming to a point, it looked triangular in silhouette. The occurrence of a terminal mucron was rare, but at times a fine notch occurred before the shaft attenuated to a point (Fig. 3C–E). The shorter tylostyles had a length of 65.0 – (78.7) – 105.0 µm, a shaft width of 2.5 – (3.9) – 6.3 µm, and tyle diameter of 5.0 – (6.2) – 10.0 µm. These tylostyles formed the diaphragms and were also abundant in the choanosome. Some variability and occasional malformations were found in the ensiform tylostyles, such as the tyle being displaced (Fig. 3d), more or less shortened tylostyles resembling thumb tacks (Fig. 3d, arrow) or fat mushrooms (Fig. 3e), tylostyles with terminal notches close to the tip (Fig. 3D), or

oxea-like spicules with triangular terminations at both sides (Fig. 3c–e). The latter spicule form was common in the paratype from Marias Islands, Mexican Pacific (LEB-1722) and yielded measurements for the length of 40 – (69.8) – 102 μm , and for the width of 2.5 – (5.8) – 7.5 μm (Fig. 3 d). Other spicular variations of this specimen are shown in Figure 5. Malformations in *C. mariae* sp. nov. were rare, but present in many of the specimens checked.

Distribution. We consider that all the previous records of *C. mucronata* in the ETP should be regarded as *C. mariae* sp. nov. (Bautista-Guerrero et al., 2006; Carballo et al., 2008; Pacheco et al., 2018). These reports and our present samples indicate that *C. mariae* sp. nov. is distributed from Baja California to the Pacific side of Panama.

Remarks. We found sufficient morphological evidence in *C. mariae* sp. nov. spicules to distinguish it from *C. mucronata sensu stricto*. The shorter, ensiform tylostyles of *C. mariae* sp. nov. differed in shape compared with the mucronate tylostyles of *C. mucronata*. In *C. mariae* sp. nov. they gradually widen from the tyle towards the lower half and then attenuate towards the point. The latter part forms a triangular termination that is usually demarcated at the widest part by a fine notch. The small, fine mucron that is so typical in *C. mucronata* is missing in *C. mariae* sp. nov. Overall, the shorter tylostyles in *C. mariae* sp. nov. are slimmer than in *C. mucronata*. While rare spirasters occur in *C. mucronata*, we did not locate any in *C. mariae* sp. nov. *Cliona ecaudis* Topsent, 1932, from the eastern Indo-Pacific, is a species very similar to *C. mucronata*, due to its two size classes of tylostyles and the occurrence of diaphragms (Sollas, 1878; Topsent, 1932). Its tylostyle dimensions are comparable to those in *C. mucronata*, but the tylostyles are distinctly slimmer (long tylostyles 130 – 160 \times 1 – 3 μm , short tylostyles 60 – 80 \times 7 – 8 μm ; Topsent, 1932). Allowing for some intraspecific variation, the tylostyle length ranges of *C. ecaudis* resemble those in *C. mariae* sp. nov., but both tylostyles of *C. ecaudis* are significantly thinner than in *C. mariae* sp. nov. As in *C. mucronata* the short tylostyles of *C. ecaudis* are truncate and rounded and have a delicate mucron, while the respective terminations in *C. mariae* sp. nov. lack a mucron and are triangular and pointed. Another sponge with diaphragms, *Cliona ensifera* Sollas, 1878, from the western Indo-Pacific has similar tylostyles with comparable, ensiform shapes resembling those in *C. mariae* sp. nov. However, its two types of tylostyles are longer than in *C. mariae* sp. nov. (lengths 241 μm and 190 μm respectively; Sollas, 1878). Spirasters are also present in *C. ensifera* but could not

be found in *C. mariae* sp. nov. We furthermore excluded *Cliona desimoni* Bavestrello et al., 1995 from Taiwan, in which the tylostyles shape strongly resembled that of the shorter tylostyles in *C. mariae* sp. nov., but tylostyles were significantly longer and wider (165 \times 7.8 \times 13.2 μm ; Bavestrello et al., 1995). *Cliona macgeachii* Holmes, 2005, was considered, because it also has two length classes of tylostyles, but the dimensions do not match those of *C. mariae* sp. nov. (~140 and 50 μm , see Fig. 4 in Holmes, 2005), and *C. macgeachii* originates from Barbados on the margins of the south-eastern Caribbean Sea, not from the ETP. Two other species with only tylostyles as megascleres were reported from the ETP. *Cliona californiana* de Laubenfels, 1932, however, is part of the *Cliona celata* species complex and has longer tylostyles (mean dimensions 240 – 310 \times 5.4 – 10.8 \times 7.1 – 12.0 μm ; Carballo et al., 2004). In *Cliona pocillopora* Bautista-Guerrero et al., 2006, the tylostyle shape strongly varies with respect to the position of the tyle, and their shafts are wider than in the long tylostyles in *C. mariae* sp. nov. (148 \times 5.3 \times 7.6 μm ; Bautista-Guerrero et al., 2006). In the latter two species the main difference to *C. mariae* sp. nov. is the absence of short, ensiform tylostyles.

Cliona yorkin sp. nov.

Synonyms. *Cliona mucronata*. – MacGeachy and Stearn (1976); MacGeachy (1977); Holmes (2005) – latter three for Barbados; Scott (1987) – for Jamaica. *Cliona* cf. *mucronata*. – *sensu* Buznego and Alcolado (1987) – for Cuba; Rützler et al. (2014) – for Belize; confirmed by spicule morphology. Not *Cliona mucronata* Sollas, 1878 (a valid species).

Type specimens. HOLOTYPE: LEB-3160, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 4 m, Oct/23/12. PARATYPES: MZUCR-503, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 3 m, Oct/23/12. LEB-3161, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 1 m, Oct/25/12. LEB-3162, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 4 m, Oct/23/12. LEB-3163, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 2 m, Apr/15/14. LEB-3171, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 0.5 m, Apr/15/14. LEB-3172, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 0.5 m, Apr/15/14. LEB-3173, Parque Nacional Cahuita, Limón, Costa Rica, south-western Caribbean (9.737, –82.836), 1 m, Apr/15/14.

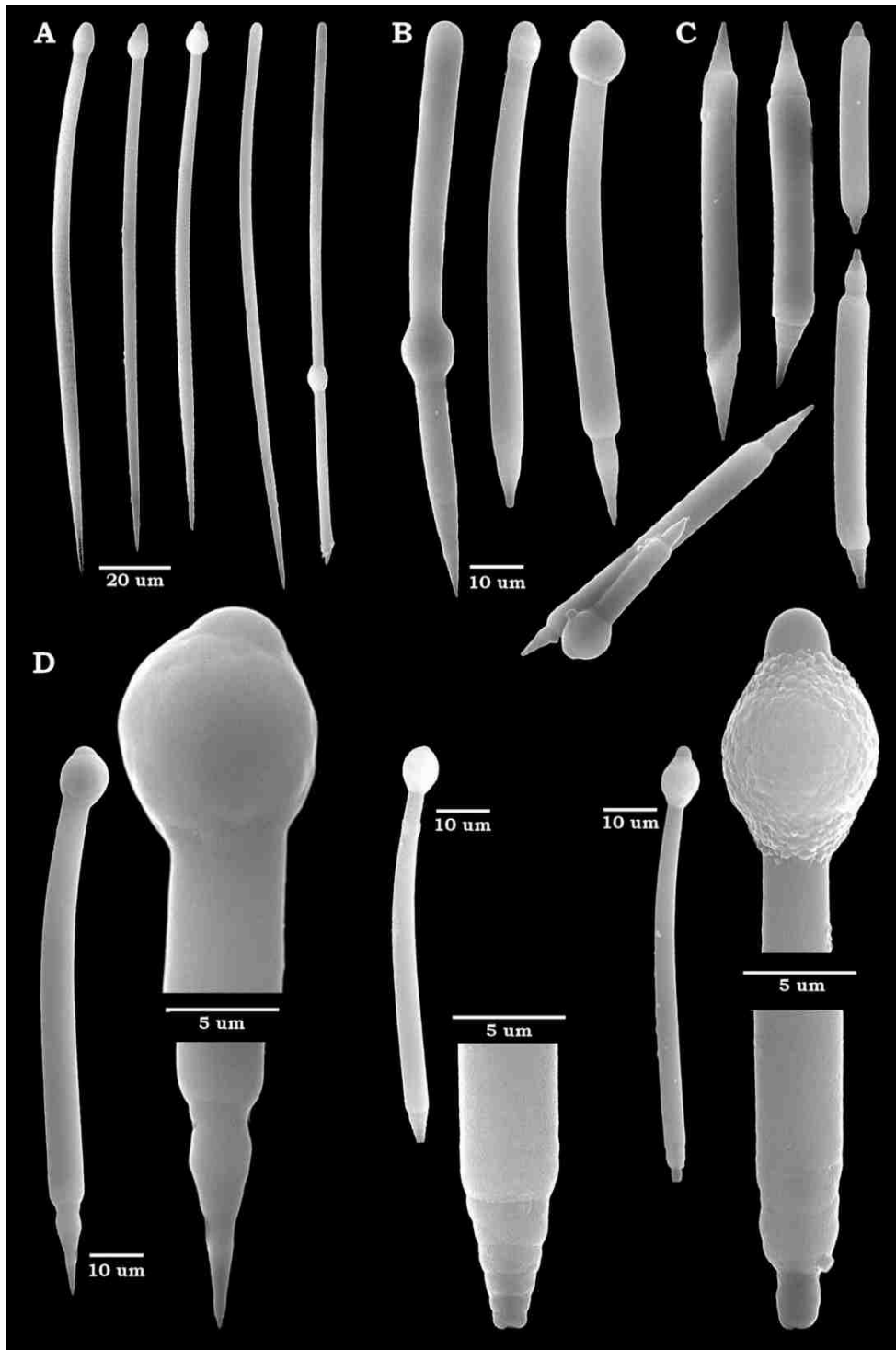


Fig. 5. Morphological variability and malformations of tylostyles of *Cliona mariae* sp. nov. found in a specimen from Marias Islands, Mexico (LEB-1722). A. Tylostyles and styler derivatives. B. Ensiform tylostyles, one of them with a displaced tyle. C. Malformations can generate short oxea-like forms; D. Variations in tyle shape and of the stepped terminations of the shorter tylostyle.

Zoobank registration. <http://zoobank.org:act:CE75AB79-2569-48AE-AA70-B6B9CA2FE340>.

Etymology. The name of the species is dedicated to the educational centre in Costa Rica where the first author studied and worked, Yorkín School, and to a Costa Rican indigenous community, known to the first author. The river that separates this community bears the same name 'Yorkín' and flows into the Caribbean Sea. This species name is here used as a noun in apposition.

Diagnosis. Sponge of the *C. mucronata* species complex in alpha form with two types of tylostyles as megascleres, slimmer-longer tylostyles and ensiform-shorter tylostyles. Short tylostyles overall longer than in other known *C. mucronata* species complex. No microscleres.

Description. All specimens of *C. yorkin* sp. nov. were found exclusively in alpha morphology. The holotype was growing into live coral *Siderastrea* sp. at 4 m depth. The living sponge is orange, when preserved it is beige or ochre. No differences in colour were observed between ecto- and choanosome. Papillae were measured after being preserved and had a mean diameter of 640 µm (SD=333, N=10, from the holotype). They were spaced 350 µm to 9 mm and showed no papillar fusion. The bioerosion chambers had a circular, ovoid or irregular outline with a mean maximum diameter of 1.7 mm (SD=0.5, *n*=10; Fig. 4C). The erosion scars were polygonal, with a mean maximum diameter of 48 µm (SD=9.1, *n*=15; Fig. 4D).

The species has two types of megascleres, both tylostyles (Fig. 3F). (i) The primary megascleres in the holotype were long and thin tylostyles with a length of 142.5 – (185.8) – 215.0 µm, a shaft width of 2.5 – (5.2) – 10.0 µm, and a tyle diameter of 5.0 – (9.0) – 12.5 µm (*n*=25 for the holotype; see [Supplemental material – Appendix 1](#) for means of other specimens). The second tylostyle type (ii) was ensiform, lacking a discrete mucron and displaying the silhouette of a short sword with triangular terminations and a sharp point. This type of tylostyle formed the diaphragms and was also abundant in the choanosome. Commonly the shaft is gradually widening from the tyle towards the point, then suddenly attenuating, resulting in a triangular termination that is usually demarcated by a fine notch (Fig. 3F). In some of these ensiform tylostyles the width of the shaft was similar to the diameter of the tyle. The overall mean dimensions of these shorter tylostyles were: length 80.0 – (117.3) – 140.0 µm, shaft width 2.5 – (13.5) – 18.8 µm, tyle diameter 5.0 – (14.6) – 20.0 µm. Rare tylostyle malformations in form of fat, mushroom-like tylostrogyles occurred in all examined specimens (Fig. 3f). They had a length of 52.5 – (88.5) – 120.0 µm, a shaft width of 6.3 – (14.9) – 23.5 µm,

and a tyle diameter of 12.5 – (18.7) – 27.5 µm (Fig. 3f).

Distribution. Our specimens were sampled in the Cahuita National Park in Costa Rica, in the south-western Caribbean. However, we think that previous records assigned to *C. mucronata* at Barbados, Belize, Jamaica and Cuba should possibly also be considered as *C. yorkin* sp. nov. and that this species may thus be found throughout the Caribbean (MacGeachy & Stearn, 1976; MacGeachy, 1977; Buznego & Alcolado, 1987; Scott, 1987; Holmes, 2005; Rützler *et al.*, 2014). This needs to be confirmed during future studies.

Remarks. The tylostyle morphology of *C. yorkin* sp. nov. is different from that in previously known *C. mucronata*-like species. The pointed end of the shorter tylostyle was commonly triangular, lacking the delicate mucron of *C. mucronata* and *C. ecaudis*. Moreover, unlike in *C. mariae* sp. nov., all spicule dimensions are larger in *C. yorkin* sp. nov. and molecular data separated the two species (see below). *C. yorkin* sp. nov. was further distinguished from *C. mucronata*, *C. ecaudis* and *C. ensifera* by the lack of microscleres, and by the significantly longer tylostyles. We also considered a range of other clonoid species with tylostyle shapes similar to the shorter tylostyle in *C. yorkin* sp. nov. *C. argus* Thiele, 1898 from Japan presents two types of tylostyles as consistent with the *C. mucronata* species complex, but both are considerably longer than in *C. yorkin* sp. nov. (250–550 and 140–150 µm respectively or even larger in the variety *laevicollis*; Thiele, 1898). While the tylostyles in *C. argus* are also ensiform, it is the longer tylostyle, not the shorter one that displays this shape, and the species also contains nodulous spirasters not observed in the Mesoamerican sponges. *C. desimoni* is regarded as different from *C. yorkin* sp. nov., because it has microscleres and only one type of tylostyle, which is shorter, but wider than the short tylostyle in *C. yorkin* sp. nov. (165 × 7.8 × 13.2 µm; Bavestrello *et al.*, 1995). Likewise, the two tylostyle lengths of *C. macgeachii* are inconsistent with those in *C. yorkin* sp. nov. (~140 and 50 µm, see Holmes, 2005, Fig. 4). We concluded that *C. yorkin* sp. nov. did not match the morphology of any previously known *Cliona* species and described it as new. However, based on the occurrence in the Caribbean we assume that there is a strong likelihood that earlier reports for *C. mucronata* in the Tropical Atlantic referred to *C. yorkin* sp. nov. (MacGeachy & Stearn, 1976; MacGeachy, 1977; Buznego & Alcolado, 1987; Scott, 1987; Holmes, 2005; Rützler *et al.*, 2014). In 2016 Lukowiak found spicules of similar shape and size to those of *C. yorkin* sp. nov. in sediment samples from Bocas del Toro, Panamá. She identified the species

as *Cliona mucronata*. We also consider that this report refers to our new species. Nevertheless, apart from Rützler et al. (2014) and Lukowiak (2016), we had neither images nor specimens to compare, and our assumption will have to be confirmed at a later stage.

Morphological comparison based on tylostyles for *Cliona mucronata* complex

Across all specimens of the *Cliona mucronata* complex here studied we recognized differences in the shape of the tylostyles (Figs 3, 5). In addition, tylostyle dimensions varied as well between the species we distinguished and described above. Because spirasters were very rare, even in species where they are known to occur, we did not use their presence/absence or dimensions as a reliable discriminating character in further analyses. Quantitative comparison of the longer tylostyles was difficult, as we perceived a possible bias from tylostyles from different species in some samples of *C. mucronata sensu stricto*. Thus, aiming for additional evidence to support the perceived patterns and the new species, we conducted statistical evaluations using the dimensions of the short tylostyle (*C. mucronata sensu stricto* versus the Mesoamerican species) and later also molecular analysis (the Mesoamerican species only).

Based on the dimensions (total length, shaft width and tyle diameter) for short tylostyles from each of the studied specimens belonging to the *C. mucronata* complex, a cluster analysis generated three major taxon groups that are clearly consistent with the three sample regions represented in this work (Fig. 6): the Eastern Tropical Pacific (ETP), the south-western Caribbean (SWC) and the central Indo-Pacific (CIP). Moreover, the cluster groups also divided into the species we had perceived based on spicule shapes: *Cliona mariae* sp. nov. in the ETP, *Cliona yorkin* sp. nov. in the SWC, and *C. mucronata* in the CIP.

Using the above three main clusters and separating the ETP samples for the northern, Mexican, and the southern, Costa Rican groups, we further compared the short tylostyle data looking for statistical differences through box plots. This revealed an overlap in all the tylostyle variables, but also generated significant post-hoc differences between the perceived species (Fig. 7). *C. yorkin* sp. nov. (SWC) was significantly different from the rest and had the longest and widest spicules. Compared with *C. mucronata* the length of the short tylostyles is similar to that of *C. mariae* sp. nov., but the analysis found significant differences for shaft, and tyle diameter. These last two dimensions were different for all three regions. No significant differences were found for *C. mariae* sp. nov. along the ETP (ETP-CR and ETP-MX).

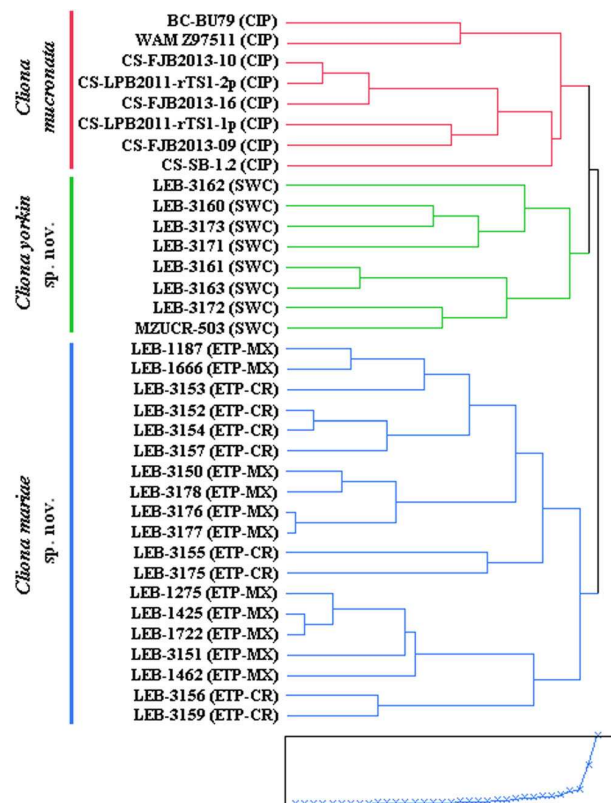


Fig. 6. Dendrogram resulting from a cluster analysis using specimens of the *Cliona mucronata* species complex from the three different regions: central Indo-Pacific (CIP), ETP (-MX: Mexico, -CR: Costa Rica), and the south-western Caribbean in the Tropical Atlantic (SWC), relying on three dimensions for the short tylostyles (length, shaft width, tyle diameter; $n = 25$). The distance graph below the dendrogram denotes the sequence of the clusters, showing the most significant separations in the initial steps on the right that separates the main three clusters: the x-axis represents the number of clusters, the y-axis the distance between the clusters that were separated at a given step.

Molecular results

Only 17 specimens of the Mesoamerican sponges yielded good quality DNA after the process of extraction. Of these, 13 samples produced sequences with a size of 565 bp and 66 variable sites within the COI region. 14 DNA samples produced sequences with a size of 421 bp and 72 variable sites for the 28S rRNA. The concatenated analysis relied on 10 *C. mucronata*-like specimens (986 bp with 138 variable sites), and three outgroup specimens.

The resulting phylogenies presented slight differences in topology, depending on the marker, but all supported the main findings. The concatenated phylogeny had the same topology as that of the COI marker (Figs 8, 9): The Mesoamerican *mucronata*-like species were joined

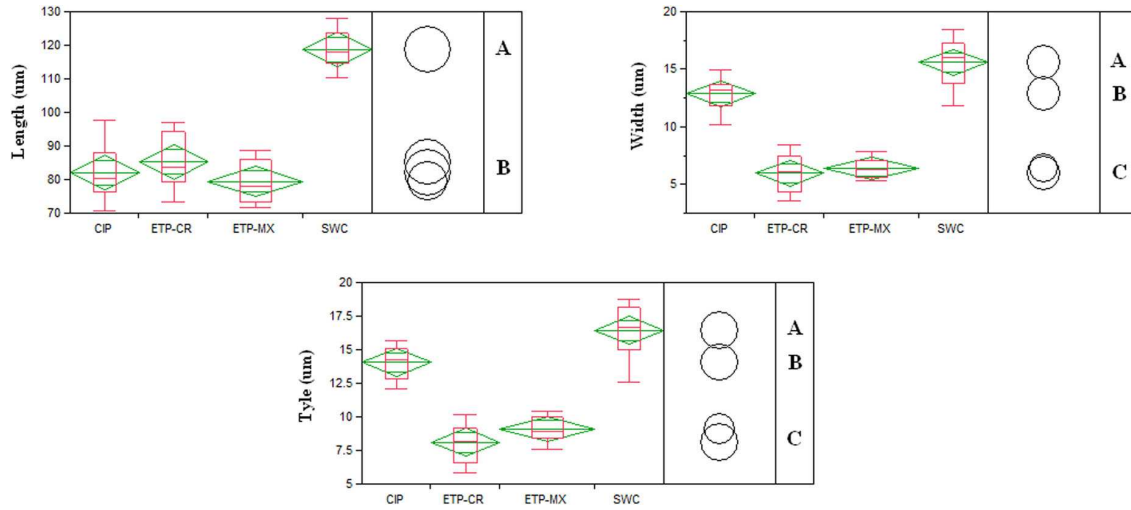


Fig. 7. Comparison of length, width, and tyle for short tylostole dimensions of *Cliona mucronata* species complex in the studied regions. The comparisons are made by box-whisker plot in which the diamonds represent means, the middle line of the box the median, the box edges the lower and upper quartiles, and the whiskers the range with minimum and maximum. The circle plots on the right of each panel express results from a Tukey–Kramer HSD Test for post-hoc pairwise comparisons, and the degree of overlap signifies similarity. Statistically significant differences are shown with different letters ($P < 0.05$). Sample regions were abbreviated as: CIP, central Indo-Pacific; ETP-CR, Costa Rican Pacific; ETP-MX, Mexican Pacific; SWC, south-western Caribbean. Note that each y-axis has a different scale.

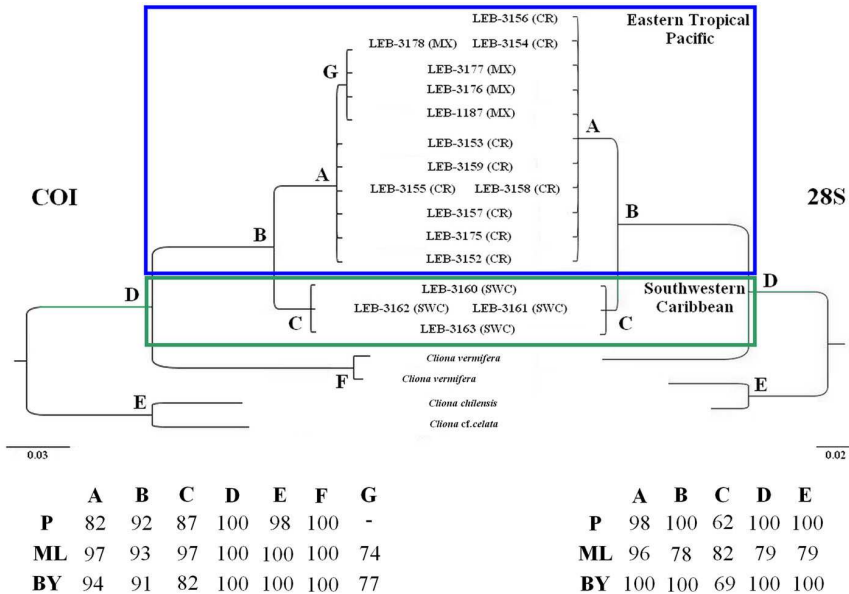


Fig. 8. Cladogram based on mitochondrial COI (left) and 28S DNA (right) for the Mesoamerican *Cliona mucronata* species complex. *Cliona mariae* sp. nov. from the ETP (big blue box) and *Cliona yorkin* sp. nov. from the south-western Caribbean (small green box). Specimens sampled from the ETP-Costa Rica (CR) and the ETP-Mexico (MX) are shown. Outgroup specimens remained unframed. Branch support values for Parsimony (P), Maximum likelihood (ML), and Bayesian inference (BY) are shown below the cladogram.

as a monophyletic group. Within this group *Cliona mariae* sp. nov. and *Cliona yorkin* sp. nov. formed separate clades, confirming that they are different species (node B). This separation was clearly evident in all analyses, and it was mostly well supported with bootstrap

values and posterior probabilities. The identity percentage between sequences of *C. yorkin* sp. nov. and *C. mariae* sp. nov. was 98.1% for COI and 98.6% for 28S. The difference between the topologies for COI and 28S was manifested by the COI-based analyses grouping the

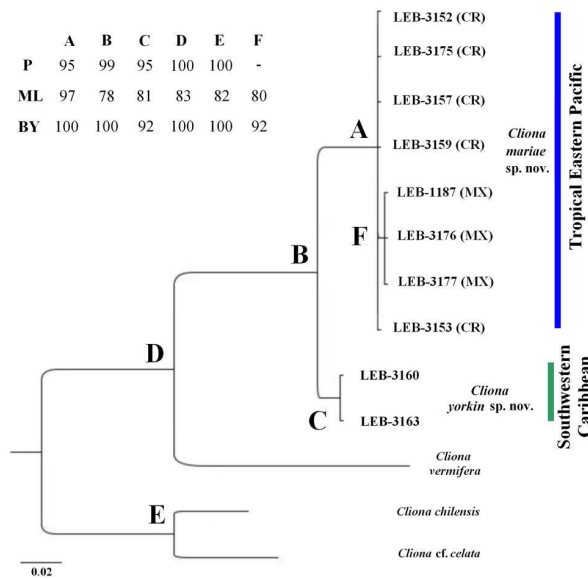


Fig. 9. Cladogram concatenating the markers COI and 28S for the Mesoamerican *Cliona mucronata* species complex. *C. mariaae* sp. nov. with specimens from the ETP-Costa Rica (CR) and the ETP-Mexico (MX), and *C. yorokin* sp. nov. from the south-western Caribbean. Branch support values for Parsimony (P), Maximum likelihood (ML), and Bayesian Inference (BY) are shown above the cladogram.

specimens from the ETP-Mexico in a separate clade G. This was supported through the ML (bootstrap value of 74) and BY (posterior probability of 77) analysis. The identity percentage between individuals from the ETP-Mexico and Costa Rica was 99.8%. The 28S topology combined all specimens from the ETP in the same clade. The concatenated tree showed a similar topology compared with the COI phylogeny, also with good support for the clades. The parsimony analysis had a consistency index (CI) of 0.910, homoplasy of 0.090 and a retention index (RI) of 0.885.

Discussion

The present study confirmed that the recent concept of the species *Cliona mucronata* in fact represented a species complex that includes at least three species, two of which are new species. The integrative approach with morphological, molecular and biogeographic data revealed a spatially separated distribution of the species and enabled the recognition of separate species.

Despite some morphological similarities, *C. mucronata sensu stricto*, *Cliona mariaae* sp. nov. and *Cliona yorokin* sp. nov. were distinguished by using the shape of their tylostyles and the three dimensions length, shaft width, and tyle diameter of their shorter tylostyles.

Usually, spicule length is considered as the more stable character for taxonomic purposes (e.g., Schönberg, 2002). Shaft and tyle diameter are not as reliable, because these values are more strongly affected by spicule growth and environmental factors (e.g., Schönberg & Beuck, 2007). In the studied species, however, shaft and tyle diameter of the short tylostyles were so different that they provided good additional taxonomic information (Fig. 8). Moreover, the shapes of the short tylostyles were also dissimilar and supported our decisions (with/without mucron, straight or ensiform; Fig. 3). Thereby our results not only reflect morphological plasticity from site-specific variation of environmental conditions but actual synapomorphic characters of each species.

C. mucronata sensu stricto from the central Indo-Pacific formed a separate, coherent cluster in the morphological analysis based on short tylostyles (Fig. 6). However, a lack of spirasters in some Indo-Pacific sponges may suggest that further species still remain undiscovered. During future studies on a large amount of specimens the diagnostic value of the presence or absence of spirasters should be re-investigated and supported with molecular data where possible.

Our molecular analysis confirmed the morphological differences between *C. mariaae* sp. nov. and *C. yorokin* sp. nov. with good support throughout (Fig. 8, 9). A monophyletic clade for these two species may be suggestive of a speciation process from a common ancestor from which they perhaps diverged when the Central-American Isthmus emerged more than 3 Ma (O'Dea et al., 2016). It appears that the American continent became an effective barrier for excavating sponge species when the isthmus formed. In consequence, an ampho-American distribution for any one species is here rejected, and the results highlight the need of a revision for those remaining species of excavating sponges with a perceived wide distribution.

While the connectivity is interrupted between *C. yorokin* sp. nov. and *C. mariaae* sp. nov., the latter species appears to be distributed uninterrupted along the ETP coast. Nevertheless, some of our cladograms (COI and COI-28S concatenated) showed a subclade for *C. mariaae* sp. nov. in the Mexican Pacific. This could be related to the assumption that the COI marker is more variable than 28S (e.g., Blanquer & Uriz, 2007). Another study in the Mexican Pacific on *C. vermifera* also revealed high molecular variability, but as a consequence of different populations, not different species (León-Pech et al., 2015). The observations in *C. vermifera* were presumably effects of a reduced gene flow with a stepping-stone model or even evidence for a beginning speciation (León-Pech et al., 2015), this could also be the case of *C. mariaae* sp. nov. The populations

from the ETP were sampled along a distance of 2500 km. According to available information about the larval biology of excavating sponges, dispersal capability may not always be strong (e.g., Mariani *et al.*, 2006). Yet overall, we attributed the subclades for *C. mariae* sp. nov. to intraspecific variability.

Other excavating sponge species that have been early identified as species complex were mainly characterized by molecular means and are *Cliona celata* (Xavier *et al.*, 2010 – molecular data; de Paula *et al.*, 2012 – large molecular focus) and *Cliona viridis* (Schönberg, 2002 – morphology; Escobar *et al.*, 2012 – molecular data; Leal *et al.*, 2016 – integrating morphology and molecular data). This paper formally investigated the *C. mucronata* species complex and distinguished three species. We are confident that more complexes will be examined in the coming years, providing more detail and finding additional species, and providing new knowledge about morphological differences backed by molecular evidence.

Conclusions

Excavating sponges are known for their difficult taxonomy, resulting in some yet unresolved species complexes. We identified and described three different species that were previously reported as *C. mucronata*. Our taxonomic decisions were predominantly based on spicule dimensions and morphology of the shorter tylostyles, two of them supported also by molecular data. The molecular markers 28S and COI also provided good resolution at the species level, and the latter allowed us to detect a signal of intra-specific variability within *C. mariae* sp. nov., characterizing spatially distinct populations in the Eastern Tropical Pacific. Due to their ecological importance, clear identification of excavating sponges is necessary to understand the dynamics of coral reefs that are particularly vulnerable to the impact of climate change. *Cliona mariae* sp. nov. is common and widely distributed on reefs along the coast and oceanic islands of the Eastern Tropical Pacific and may locally play a substantial role in coral health and the carbonate budget.

Acknowledgements

We are grateful to Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología at UNAM, the program of scholarships for postgraduate studies from CONACYT and CONACYT SEP CB-2015-01 (254806) for funding. We also acknowledge logistic support from CIMAR, University of Costa Rica, and the non-profit organization PROZONA AC in the field (<http://prozona.org>). Further assistance in the field was provided by Benjamín Yáñez

from UNAM and Jorge Cortés from the University of Costa Rica; latter also identified corals for us. Laura Elena Gómez Lizárraga from the UNAM, generated some of the SEM images used in this paper.

Disclosure statement

No potential conflict of interest was reported by the authors.

ORCID

José Luis Carballo  <http://orcid.org/0000-0002-5146-7597>

Barbara Calcinai  <http://orcid.org/0000-0002-9004-0051>

Supplemental data

Supplemental data for this article can be accessed here: <https://dx.doi.org/10.1080/14772000.2020.1776785>.

References

- Annandale, N. (1915). Fauna of the Chilka Lake. Sponges. *Memoirs of the Indian Museum*, 5, 21–54.
- Barucca, M., Azzini, F., Bavestrello, G., Biscotti, M. A., Calcinai, B., Canapa, A., Cerrano, C., & Olmo, E. (2007). The systematic position of some boring sponges (Demospongiae, Hadromerida) studied by molecular analysis. *Marine Biology*, 151, 529–535. <https://doi.org/10.1007/s00227-006-0486-y>
- Bautista-Guerrero, E., Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A., & Nava, H. H. (2006). New coral reef boring sponges (Hadromerida: Clionidae) from the Mexican Pacific Ocean. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 86, 963–970. <https://doi.org/10.1017/S0025315406013932>
- Bavestrello, G., Calcinai, B., & Sarà, M. (1995). Two new species of *Cliona* (Porifera, Demospongiae) boring the scleraxis of *Corallium elatius* from the western Pacific. *Bolletino di Zoologia*, 62, 375–381. <https://doi.org/10.1080/11250009509356092>
- Blanquer, A., & Uriz, M. J. (2007). Cryptic speciation in marine sponges evidence by mitochondrial and nuclear genes: a phylogenetic approach. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 45, 392–397. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2007.03.004>
- Buznego, M., & Alcolado, P. M. (1987). *Frecuencia de ataques de esponjas perforadoras sobre algunos corales escleractíneos y otros sustratos marinos en Cuba* [Frequency of excavating sponge attacks on some scleractine corals and other marine substrata in Cuba] (Reporte de investigación del Instituto de Oceanología No. 59). Cuba: Academia de Ciencias.
- Calcinai, B., Azzini, F., Bavestrello, G., Cerrano, C., Pansini, M., & Thung, D. C. (2006). Boring sponges from the Ha

- Long Bay, Tonkin Gulf, Vietnam. *Zoological Studies*, 45, 201–212.
- Calcinai, B., Bavestrello, G., & Cerrano, C. (2005). Excavating sponge species from the Indo-Pacific Ocean. *Zoological Studies*, 44, 5–18. <https://pdfs.semanticscholar.org/a9bd/333a483f27e13d9206066e18ea887b31d3ea.pdf>
- Calcinai, B., Cerrano, C., Sarà, M., & Bavestrello, G. (2000). Boring sponges (Porifera, Demospongiae) from the Indian Ocean. *Italian Journal of Zoology*, 67, 203–219. <https://doi.org/10.1080/11250000009356314>
- Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A., & Gómez, P. (2004). Taxonomy and description of clionaid sponges (Hadromerida, Clionaidae) from the Pacific Ocean of Mexico. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 141, 353–397. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.2004.00126.x>
- Carballo, J. L., Cruz-Barraza, J. A., Nava, H., & Bautista-Guerrero, E. (2008). *Espanjas perforadoras de sustratos calcáreos: Importancia en los ecosistemas arrecifales del Pacífico este* [Excavating sponges of calcareous substrata: Importance for the reef ecosystems from the Eastern Pacific]. México: Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad (CONABIO).
- Chombard, C., Boury-Esnault, N., & Tillier, S. (1998). Reassessment of homology of morphological characters in tetractinellid sponges based on molecular data. *Systematic Biology*, 47, 351–366. <https://doi.org/10.1080/106351598260761>
- Costello, M. J., Stocks, K., Zhang, Y., Grassle, J. F., Fautin, D. G. (2007). *Iris* Linnaeus, 1758. Ocean Biogeographic Information System. Retrieved from www.obis.org/taxon/267517 accessed on Feb/05/2019.
- D'Orbigny, M. A. (1851). *Cours élémentaire de paléontologie et de géologie stratigraphiques* [Basic course of paleontology and stratigraphic geology]. Victor Masson.
- Da Cruz, A. (2018). PhotoFiltre (Version 7.2.1) [Computer software]. Retrieved from: <http://www.photofiltre-studio.com> accessed on Dec/13/2017.
- Dawydoff, M. C. (1952). Contribution a l'étude des invertébrés de la faune marine benthique de l'Indochine [Contribution to the study of invertebrates of benthic marine fauna from Indo-china]. *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, 37, 46–51.
- de Paula, T. S., Zilberberg, C., Hajdu, E., & Lôbo-Hajdu, G. (2012). Morphology and molecular on opposite sides of the diversity gradient: four cryptic species of the *Cliona celata* (Porifera, Demospongiae) complex in South America revealed by mitochondrial and nuclear markers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62, 529–541. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.001>
- Desqueyroux-Faundez, R. (1981). Révision de la collection d'éponges d'Amboine (Moluques, Indonésie) constituée par Bedot et Pictet et conservée au Muséum d'histoire naturelle de Genève [Revision of the Amboine sponge collection (Moluccas, Indonesia) compiled by Bedot and Pictet, and conserved at the Natural History Museum of Geneva. *Revue Suisse de Zoologie*, 88, 723–764.]. <https://doi.org/10.5962/bhl.part.82404>
- Escobar, D., Zea, S., & Sanchez, J. A. (2012). Phylogenetic relationships among the Caribbean members of the *Cliona viridis* complex (Porifera, Demospongiae, Hadromerida) using nuclear and mitochondrial DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 64, 271–284. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.03.021>
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R., & Vrijenhoek, R. (1994). DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3, 294–299.
- Gastaldi, M., De Paula, T. S., Narvarte, M. A., Lôbo-Hajdu, G., & Hajdu, E. (2018). Marine sponges (Porifera) from the Bahía San Antonio (North Patagonian Gulfs, Argentina), with additions to the phylogeography of the widely distributed *Cliona* aff. *celata* and *Hymeniacion* *perlevis*, and the description of two new species. *Marine Biology Research*, 14, 682–716. <https://doi.org/10.1080/17451000.2018.1506136>
- Goloboff, P. A., Farris, J. S., & Nixon, K. C. (2008). TNT, a free program for phylogenetic analysis. *Cladistics*, 24, 774–786. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.2008.00217.x>
- Grant, R. E. (1826). Notice of a new zoophyte (*Cliona celata*, Gr.) from the firth of Forth. *Edinburg New Philosophical Journal*, 1, 78–81.
- Hancock, A. (1867). XXXVI. Note on the excavating sponges; with descriptions of four new species. *Annals and Magazine of Natural History*, 19, 229–242. <https://doi.org/10.1080/00222936708679766>
- Holmes, K. E. (2005). Effects of eutrophication on bioeroding sponge communities with the description of new West Indian sponges, *Cliona* spp. (Porifera: Hadromerida: Clionaidae). *Invertebrate Biology*, 119, 125–138. https://www.jstor.org/stable/pdf/3227209.pdf?casa_token=4nZ8BZBtqVgAAAAA:QIIEz26uR2s91dPNhnFO4y8dmL14V_MV Dsl5u70hIX8Ncd8T7HelOq1nZo0LYonnm2wUph9dyBz-j8LbA9C93g7M6YNt30ZJNBLWF-x2MTy9TNkqYm8
- Immanuel, T., Krishnan, P., & Raghunathan, C. (2015). An updated report on the diversity of marine sponges of the Andaman and Nicobar Islands. In K. Venkataraman, & C. Sivaperuman (Eds), *Marine Faunal Diversity in India*. (pp. 3–13). Academic Press.
- Jafari, M. A., Seyfabadi, J., & Shokri, M. R. (2016). Internal bioerosion in dead and live hard corals in intertidal zone of Hormuz Island (Persian Gulf). *Marine Pollution Bulletin*, 105, 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2015.11.048>
- Kelly-Borges, M., & Valentine, C. (1995). The sponges of the tropical island region of Oceania: A taxonomic status review. Marine and coastal biodiversity in the tropical island Pacific region. In J. E. Maragos, M. N. A. Peterson, L. G. Eldredge, J. E. Bardach, & H. E. Takeuchi (Eds.), *Species Systematics and Information Management Priorities*. (pp. 83–120). East-West Center.
- Laubenfels, M. W. (1932). The marine and fresh-water sponges of California. *Proceedings of the United States National Museum*, 81, 1–140. <https://doi.org/10.5479/si.00963801.81-2927.1>
- Leal, C. V., De Paula, T. S., Lôbo-Hajdu, G., Schönberg, C. H. L., & Esteves, E. (2016). Morphological and molecular systematics of the '*Cliona viridis* complex' from south-eastern Brazil. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 96, 313–322. <https://doi.org/10.1017/S0025315415001642>
- León-Pech, M. G., Cruz-Barraza, J. A., Carballo, J. L., Calderon-Aguilera, L. E., & Rocha-Olivares, A. (2015). Pervasive genetic structure at different geographic scales in the coral-excavating sponge *Cliona vermifera* (Hancock, 1867) in the Mexican Pacific. *Coral Reefs*, 34, 887–897. <https://doi.org/10.1007/s00338-015-1316-9>

- Linnaeus, C. v. (1758). *Systema Naturae per regna tria naturae, secundum classes, ordines, genera, species, cum characteribus, differentiis, synonymis, locis [System of nature for the three kingdoms according to the classes, orders, genera and species, with characteristics, differences, synonyms, places]*. Laurentii Salvii. Tomus I. Editio decimal reformata.
- Lukowiak, M. (2016). Spicular analysis of surficial sediments as a supplementary tool for studies of modern sponge communities. *Helgoland Marine Research*, 70, 5.
- MacGeachy, J. K. (1977). Factors controlling sponge boring in Barbados reef corals. *Proceedings of the 3rd International Coral Reef Symposium*, 2, 477–483.
- MacGeachy, J. K., & Stearn, C. W. (1976). Boring by macro-organisms in the coral *Montastrea annularis* on Barbados reefs. *Internationale Revue Der Gesamten Hydrobiologie Und Hydrographie*, 61, 715–745. <https://doi.org/10.1002/iroh.19760610602>
- Maddison, W. P., Maddison, D. R. (2011). Mesquite: a modular system for evolutionary analysis (Version 2.75) [Computer software]. Retrieved from <http://mesquiteproject.org> accessed on Jan/07/2017.
- Mariani, S., Uriz, M. J., Turon, X., & Alcoverro, T. (2006). Dispersal strategies in sponge larvae: integrating the life history of larvae and the hydrologic component. *Oecologia*, 149, 174–184. <https://doi.org/10.1007/s00442-006-0429-9>
- Meyer, C. P., Geller, J. B., & Paulay, G. (2005). Fine scale endemism on coral reefs: archipelagic differentiation in turbinid gastropods. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 59, 113–125. <https://doi.org/10.1554/04-194>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. In N. Wilkins-Diehr & K. A. Lawrence (Eds.), *GCE 2010. Proceedings of the gateway computing environments workshop*. (Vol. 1, pp. 1–8). Institute of Electrical and Electronics Engineers.
- Mote, S., Schönberg, C. H. L., Samaai, T., Gupta, V., & Ingole, B. (2019). A new clionaid sponge infests live corals on the west coast of India (Porifera, Demospongiae, Clionaida). *Systematics and Biodiversity*, 17, 190–206. <https://doi.org/10.1080/14772000.2018.1513430>
- Namboothri, N., & Fernando, S. A. (2012). Coral-boring fauna of the Great Nicobar Island. In K. Venkataraman, C. Raghunathan, & C. Sivaperuman (Eds.), *Ecology of Faunal Communities on the Andaman and Nicobar Islands*. (pp. 59–70). Springer-Verlag.
- O'Dea, A., Lessios, H. A., Coates, A. G., Eytan, R. I., Restrepo-Moreno, S. A., Cione, A. L., Collins, L. S., de Queiroz, A., Farris, D. W., Norris, R. D., Stallard, R. F., Woodburne, M. O., Aguilera, O., Aubry, M.-P., Berggren, W. A., Budd, A. F., Cozzuol, M. A., Coppard, S. E., Duque-Caro, H., ... Jackson, J. B. C. (2016). Formation of the Isthmus of Panama. *Science Advances*, 2, e1600883 <https://doi.org/10.1126/sciadv.1600883>
- Pacheco, C., Carballo, J. L., Cortés, J., Segovia, J., & Trejo, A. (2018). Excavating sponges from the Pacific of Central America, descriptions and a faunistic record. *Zootaxa*, 4370, 451–491. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4370.5.1>
- Pattanayak, J. G. (2006). Marine sponges of Andaman and Nicobar Islands, India. *Records of the Zoological Survey of India Occasional Paper*, 255, 1–152.
- Posada, D. (2008). ModelTest: phylogenomics restores traditional views on deep animal relationships. *Current Biology*, 19, 706–712.
- Ronquist, F., & Huelsenbeck, J. P. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19, 1572–1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Rützler, K. (2002). Family Clionaidae d'Orbigny, 1851. In J. N. A. Hooper & R. W. M. van Soest (Eds.), *Systema Porifera: a Guide to the Classification of Sponges*. (pp. 173–185). Academic/Plenum Publishers.
- Rützler, K., Piantoni, C., van Soest, R. W. M., & Díaz, M. C. (2014). Diversity of sponges (Porifera) from cryptic habitats on the Belize Barrier Reef near Carrie Bow Cay. *Zootaxa*, 3805, 1–129. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3805.1.1>
- Schönberg, C. H. L. (2002). Sponges of the Cliona viridis complex – a key for species identification. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium*, 1, 295–300.
- Schönberg, C. H. L., & Beuck, L. (2007). Where Topsent went wrong: *Aka infesta* a.k.a. *Aka labyrinthica* (Demospongiae: Phloeodictyidae) and implications for other *Aka* spp. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87, 1459–1476. <https://doi.org/10.1017/S0025315407058249>
- Schönberg, C. H. L., Fang, J. K. H., & Carballo, J. L. (2017). Bioeroding sponges and the future of coral reefs. In J. L. Carballo & J. J. Bell (Eds.), *Climate Change, Ocean Acidification and Sponges*. (pp. 179–372). Springer International Publishing.
- Scott, P. J. B. (1987). Associations between corals and macro-infaunal invertebrates in Jamaica, with a list of Caribbean and Atlantic coral associates. *Bulletin of Marine Science*, 40, 271–286.
- Sollas, W. J. (1878). On two new and remarkable species of *Cliona*. *Annals and Magazine of Natural History*, 1, 54–67. <https://doi.org/10.1080/00222937808682289>
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., Halpern, B. S., Jorge, M. A., Lombana, A., Lourie, S. A., Martin, K. D., McManus, E., Molnar, J., Recchia, C. A., & Robertson, J. (2007). Marine ecoregions of the World: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*, 57, 573–583. <https://doi.org/10.1641/B570707>
- Stamatakis, A. (2014). RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 30, 1312–1313. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btu033>
- Swofford, D. L. (2002). *PAUP. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (and other Methods) (Version 4) [Computer software]*. Sinauer Associated.
- Thiele, J. (1898). Studien über pazifische Spongien Volume 1: Zoologica [Studies on Pacific sponges Volume 1: Zoology]. *Original-Abhandlungen Aus Dem Gesamtgebiete Der Zoologie*, 24, 1–72.
- Thiele, J. (1905). Die kiesel- und hornschwämme der Sammlung Plate [The pebble and horn sponges of plate collection]. *Zoologische Jahrbücher Supplement*, 6, 407–496.
- Thomas, P. A. (1972). Boring sponges of the reefs of Gulf of Mannar and Palk Bay. *Proceedings of the 1st Symposium on Corals and Coral Reefs. Journal of Marine Biological Association of India, Mandapam Camp*, 333–362.

- Thomas, P. A. (1973). Marine Demospongiae of Mahe Island in the Seychelles Bank (Indian Ocean). *Annales de Musée Royal de l'Afrique Centrale, Science Zoologique*, 203, 1–96.
- Thomas, P. A. (1989). Sponge fauna of Lakshadweep. *CMFRI Bulletin*, 43, 150–161.
- Topsent, E. (1932). Notes sur des Clionides [Notes on Clionides]. *Archives de Zoologie Expérimentale et Générale*, 74, 549–579.
- Uriz, M. J., & Turon, X. (2012). Sponge ecology in the molecular era. *Advance in Marine Biology*, 61, 345–410.
- Vacelet, J., & Vasseur, P. (1971). Eponges des récifs coralliens de Tulear (Madagascar) [Coral reef sponges from Tulear (Madagascar)]. *Thetys*, 1, 51–126.
- Vacelet, J., Vasseur, P., & Levi, C. (1976). Spongiaires de la pente externe des récifs coralliens de Tulear (Sud-ouest de Madagascar) [Sponges from the outer slope of the Tulear coral reefs (Southwest, Madagascar)]. *Éditions du Muséum*, 49, 1–116.
- Van Soest, R. W. M., Boury-Esnault, N., Hooper, J. N. A., Rützler, K., de Voogd, N. J., Alvarez, B., ... Downey, R. (2019). *Data from: World Porifera Database* [Dataset]. Retrieved from <http://www.marinespecies.org/porifera> accessed on Mar/22/2019.
- Verrill, A. E. (1869). On new and imperfectly known echinoderms and corals. *Proceedings of the Boston Society of Natural History*, 12, 381–391.
- Ward, J. H. (1963). Hierarchical grouping to optimize an objective function. *Journal of the American Statistical Association*, 58, 236–244. <https://doi.org/10.1080/01621459.1963.10500845>
- Xavier, J. R., Rachello-Dolmen, P. G., Parra-Velandia, F., Schönberg, C. H. L., Breeuwer, J., & van Soest, R. W. M. (2010). Molecular evidence of cryptic speciation in the “cosmopolitan” excavating sponge *Cliona celata* (Porifera, Clionidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56, 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.030>
- Zea, S., & Weil, E. (2003). Taxonomy of the Caribbean excavating sponge species complex *Cliona caribbaea* – *C. aprica* – *C. langae* (Porifera, Hadromerida, Clionidae). *Caribbean Journal of Science*, 39, 348–370.

Associate Editor: Ana Riesgo