

**EVALUACIÓN DE LA GAMETOGÉNESIS DE CORALES ESCLERACTINIOS:
Montastraea annularis, *Siderastrea siderea* y *Diploria strigosa*, EN ISLA
FUERTE-BOLIVAR, COLOMBIA.**

SANDRA PAREJA ORTEGA

Trabajo para optar al título de Biólogo

Asesor

Lizette I. Quan Young

Grupo de LimnoBase y Biotamar

Instituto de Biología

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad de Antioquia

2013

Dedicada a mis padres

AGRADECIMIENTOS

A mi padre, por todos sus consejos y apoyo incondicional...

A mi madre, por estar siempre presente...

A mis hermanos por el ánimo que me brindaron...

A mi novio por su paciencia...

A mi asesora Lizette Quan Young por sus enseñanzas, dedicación y confianza...

Al profesor Mario Londoño, quien estuvo pendiente de este proceso...

Al grupo de investigación LimnoBasE y BiotaMAR por brindarme un espacio...

Y a todos los compañeros y profesores que de una u otra forma me ayudaron en esta primera etapa académica...

...MUCHAS GRACIAS...

Tabla de contenido

Resumen	1
1. Introducción.....	2
2. Antecedentes	6
3. Problema de investigación	11
3.1 Planteamiento.....	11
3.2 Pregunta de investigación	12
4. Hipótesis	12
5. Objetivos	12
6.1 Objetivo General.....	12
6.2 Objetivos Específicos	12
6. Metodología	13
6.1 Área de estudio	13
6.2 Trabajo de campo.....	15
7.2.1 Obtención de muestras.....	15
6.3 Trabajo de laboratorio.....	15
6.3.1 Tratamiento para conservación de muestras.....	15
6.3.2 Decalcificación.....	15
6.3.3 Observación directa de muestras.....	16
6.3.4 Montaje de muestras histológicas.....	16
6.4 Análisis estadístico	17
7. Resultados	18
7.1 Gametogénesis.....	18
7.2 Fecundidad	29
8. Discusiones	31
9. Conclusiones.....	35
10. Recomendaciones.....	35
11. Referencias bibliográficas.....	37
12. Anexos	43

RESUMEN

Los arrecifes coralinos son considerados uno de los ecosistemas más diversos y productivos del planeta, pues albergan el 70 % de la biodiversidad marina y los corales escleractinios son sus componentes más importantes. Estos son, organismos considerados como los verdaderos constructores de arrecife debido a su estructura de carbonato de calcio. Son organismos coloniales compuestos de unidades funcionales llamadas pólipos, los cuales llevan a cabo la reproducción que puede ser asexual o sexual. La reproducción sexual consta de una secuencia de eventos relacionados, como la gametogénesis, la liberación de gametos, la fertilización y embriogénesis, cada uno de los cuales puede ser modificado de manera individual por selección natural, como estrés luego de un disturbio natural y antropogénico. Aunque a nivel mundial se han incrementado los estudios acerca de la reproducción en corales, para Colombia y especialmente para isla fuerte no hay reportes de estudios importantes por lo menos de los últimos 10 años. Con el objetivo de evaluar el estado reproductivo de los corales escleractinios *M. annularis*, *S. sidérea* y *D. strigosa* en Isla Fuerte, Bolívar se colectaron 3-5 muestras del centro y borde de la colonia de estas especies en los meses de Agosto-Septiembre de 2011 y Abril-Julio de 2012. Se conservaron en formol al 10%, se hizo tratamiento para obtención de tejido. Posteriormente se realizó observación directa y montajes histológicos, para la descripción de la gametogénesis y calcular fecundidad (544 oocitos/cm² para *M.annularis* y 69 Oocitos/cm² para *D. strigosa* para el mes de julio, para *S. siderea* no se realizaron estos cálculos, porque no se encontró oocitos en las muestras estudiadas.

1. INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos son considerados uno de los ecosistemas más diversos y productivos del planeta, pues albergan el 70 % de la biodiversidad marina (Hoegh-Guldberg et al. 2007). Estos ecosistemas proporcionan alimento, refugio y condiciones apropiadas para otros organismos que pueden ser visitantes temporales o permanentes. Algunos de sus componentes principales son los corales escleractinios, organismos considerados como los verdaderos constructores de arrecife debido a su estructura de carbonato de calcio que contribuye a la formación del suelo marino (Buddemeier et al. 2004); son organismos coloniales compuestos de unidades funcionales llamadas pólipos, donde se lleva a cabo la reproducción; los pólipos tienen la capacidad de tener reproducción sexual y asexual (Harrison y Wallace 1990).

La reproducción es el proceso por medio del cual los individuos contribuyen a la persistencia de la especie (Szmant et al. 1991) y a la formación de nuevos individuos que ayudan al crecimiento poblacional (Levinton 1995). Dentro de cada especie, aquellos individuos con mayor éxito reproductivo tendrán un rol más importante en el futuro de la especie (Szmant et al. 1991).

La reproducción asexual comprende de manera general, el crecimiento de un nuevo individuo a partir de otro previamente establecido; es decir, se establecen individuos genéticamente iguales en diferentes lugares del arrecife (Bertness et al. 2001), dando lugar a una nueva colonia o bien, corales solitarios (Harrison y Wallace 1990). Dentro de la reproducción asexual se encuentran la fragmentación,

la fisión, la expulsión de pólipos, la disociación y la producción de plánulas provenientes de gametos femeninos (Cairns 1988, Richmond 1987, Stoddart 1983, Ward 1992). De estos la fisión y fragmentación parecen ser las formas más comunes de reproducción asexual en escleractinios; la fragmentación es el tipo de reproducción asexual más común, pero sobre todo en organismos ramificados (Bertness et al. 2001). La fisión es el tipo de reproducción asexual por medio del cual un pólipo da lugar a otro pólipo, se ha registrado comúnmente en corales escleractinios (Cairns 1988); para colonias masivas la fisión es el mecanismo que se presenta para inducir a un crecimiento horizontal de las colonias (DeVantier y Endean 1989)

La reproducción sexual consiste de una secuencia de eventos relacionados, como la gametogénesis, la liberación de gametos o larvas, la fertilización y embriogénesis, cada uno de los cuales puede ser modificado de manera individual por selección natural (Szmant 1986). La gametogénesis es el proceso mediante el cual se da la formación de gametos masculinos y femeninos, y se ha visto, que uno de los factores ambientales más importantes para llevar a cabo este proceso es la temperatura, por ello, la gametogénesis se da durante la temporada cálida (Fadlallah 1983). La fecundidad se puede definir como el número de gametos/gónada/pólipo/cm². En algunos estudios, autores como Szmant (1991), Soong (1991) y Van Veghel y Kahman (1994) demuestran que en colonias de mayor tamaño hay mayor fecundidad.

La sincronización, frecuencia, duración, intensidad y distribución espacial de cada uno de estos eventos determina si la reproducción tiene o no éxito (Szmant 1986).

De acuerdo a la disposición de gametos en las colonias y los pólipos, los corales se clasifican en:

-Hermafroditas, los gametos femeninos y masculinos se producen en una misma colonia, ya sea en el mismo mesenterio de un pólipo o bien en diferentes pólipos dentro de la misma colonia (Richmond y Hunter 1990).

-Gonocóricos, producen un solo tipo de gametos por pólipo o colonia (Harrison y Wallace 1990). En la naturaleza, se ha encontrado que algunas colonias pueden tener un comportamiento combinado a lo largo de su vida, por lo que se clasifican como hermafroditas y gonocóricos simultáneamente (Glynn et al. 1991). De una revisión de 444 escleractinios se registró que 12 presentan comportamiento combinado; para el Caribe se conoce que *Porites astreoides*, *P. brighami*, *Agaricia agaricites*, *A. humilis* pueden presentar este tipo de comportamiento (Harrison 2011)

Dentro de los corales escleractinios la mayoría de las especies presentan fertilización externa (liberadores), pero algunos tienen fertilización interna (incubadores) (Fadlallah 1983, Harrison y Wallace 1990).

Las estructuras reproductivas no se encuentran de manera permanente, sino que tienen un desarrollo cíclico que puede ser mensual o anual, dependiendo de la especie y de las características ambientales de la localidad donde se encuentren (Glynn et al. 1991, Ward 1992). Sin embargo se ha reportado que a nivel de familia los patrones de reproducción son homogéneos (con algunas excepciones; Harrison 1985). Se ha encontrado que la temperatura es la condición ambiental

más importante, ya que el aumento de ésta dispara la formación de gónadas; además, deben existir otras características como la penetración de la luz y disponibilidad de alimento (Richmond 1987, Glynn et al. 1991, Harrison y Wallace 1991, Bertness et al. 2001). Para el caso de los organismos desovadores, los ciclos lunares y de marea son los que inducen la liberación de gametos (Tanner 1996).

Tanto el estrés ambiental como el físico pueden reducir la fecundidad de pólipos (numero de gametos por área o pólipo) debido a la gran cantidad de recursos energéticos necesarios para la reproducción (Villinsky 2003, Szmant 1986). Se ha reportado que muchas especies de coral producen menor número de gónadas o huevos en pólipos limitados energéticamente o estresados, como por ejemplo, aquellos que están en los márgenes de las colonias o cerca de heridas (Szmant 1991, Soong y Lang 1992), colonias en ambientes muy eutróficos, con descargas elevadas de sedimentos (Tomascik y Sander 1987, Van Veghel y Kahmann 1994), expuestos a altas temperaturas, reducción de luz ultravioleta, mareas bajas (Jokiel 1985), así como competencia intra (Rinkevich y Loya 1985) e interespecífica (Szmant 1991, Tanner 1995).

La realización del siguiente estudio tuvo como objetivo evaluar la gametogénesis de los corales escleractinios, *Montastrea annularis*, *Siderastrea sidérea* y *Diploria strigosa* en Isla Fuerte, Bolívar; contribuir al estudio de los corales en Colombia.

2. ANTECEDENTES

Sobre la reproducción de escleractinios, el fenómeno mejor conocido es el desove masivo, el cual se ha estudiado en muchos sitios tanto en el Pacífico como en el Atlántico (Szmant et al. 1985, Fan y Dai 1998); así, en la actualidad hay información de cerca del 30% de las especies hoy día válidas. Así por ejemplo de las 91 especies de Faviidae reconocidas en la región del Indo-Pacífico, sólo la información de 40 especies es conocida (Harriot 1983, Harrison y Wallace 1990) y de 17 especies para esta misma familia en la región del Caribe, no más de ocho especies han sido estudiadas (Szmant 1986, Soong 1991, Acosta y Zea 1997).

Wallace (1988) elaboró uno de los primeros estudios con el género *Acropora* identificando la forma y localización de las gónadas masculinas y femeninas. Logró medir el tiempo aproximado de maduración para cada una de éstas, y concluyó que las gónadas femeninas comienzan primero su período de maduración debido a que es más largo que para las gónadas masculinas.

Szmant-Froelich et al. (1985) realizaron una descripción general de las características que presentan las gónadas de los pólipos de coral conforme van madurando hasta llegar al punto en que sus gametos son viables para la reproducción, a partir de la especie *Favia fragum* en Puerto Rico. En este caso, la clasificación se basa en una descripción de cuatro estadios gonádicos, en donde el primero es el más inmaduro, y va progresivamente hasta el cuarto estadio en donde el pólipo ya tiene capacidad de reproducirse sexualmente; este esquema se aplica para la mayoría de las especies de coral que se han estudiado.

En Colombia son pocos los estudios sobre reproducción en corales (Alvarado et al. 2004, Alvarado y Acosta 2009). En Isla Grande-Cartagena (Islas del Rosario) se estudió la reproducción sexual de *Diploria labyrinthiformis* donde se encontró que es una especie con ciclo gametogénico anual y con liberación de gametos en julio (Alvarado et al. 2004). La reproducción sexual de la especie de coral *Montastraea cavernosa* fue estudiada en Santa Marta, Caribe Colombiano, entre octubre de 1990 y octubre de 1991 y se describió como una especie gonocórica, liberadora, con un ciclo gametogénico anual, este ciclo se inició en junio y la cantidad de tejido reproductivo incremento en ambos sexos a partir de julio, en asociación con un aumento de la temperatura del agua de mar y una disminución en el fotoperiodo. Al igual que en otras localidades del Caribe, el desove se produjo después de la luna llena entre agosto y septiembre. Sin embargo, hubo cierta evidencia de un episodio de desove después de la luna llena del mes de octubre, posiblemente asociado a un retraso en la aparición de un máximo de temperatura del agua de mar, en las localidades cercanas al ecuador en comparación con las latitudes más altas (Acosta y Zea 1996).

Otro estudio realizado en las Islas del Rosario fue con *Montastraea annularis* y *Montastraea faveolata*, dos especies hermafroditas liberadoras que se encuentran entre los más importantes corales de arrecife del Caribe. El desove de las dos especies se observó en 1997, 6 y 7 días después de la luna llena, de agosto a octubre en *M. faveolata*, y de septiembre a octubre en *M. annularis*. Durante tres diferentes noches en las que se observó desove masivo, incluyendo el mayor evento en septiembre (aproximadamente el 90% de todas las colonias generado),

estas especies fueron sincrónicas y el desove comenzó a 2,5 horas después de la puesta de sol (40-50 minutos de intervalo de tiempo). Además, se observó desove una vez en octubre de 1998.

En otro estudio se determinó el ciclo gametogénico, fecundidad y fertilidad de *Montastraea annularis* en el arrecife de isla Grande, archipiélago de Nuestra Señora del Rosario, uno de los arrecifes más degradados del Caribe colombiano. Entre septiembre de 2003 y septiembre de 2004, se tomaron muestras de tejido y se elaboraron placas histológicas para detallar el desarrollo de oocitos y espermatarios y se cuantificó la fecundidad. Adicionalmente, se recolectaron huevos liberados in situ (Alvarado y Acosta 2009). Los resultados indicaron que la oogénesis ocurre entre mayo y septiembre, y la espermatogénesis entre julio y septiembre. La fertilidad fue baja así como la fecundidad, la presencia de los paquetes espermáticos también fue escasa.

Por otro lado, estudios previos de escleractinios sugieren que varios factores ambientales (como temperatura, cantidad de luz, competencia, etc) juegan un papel importante en la determinación de las fechas de reproducción y el desove (Harrison et al. 1984, Shlesinger y Loya 1985, Kojis 1986, Richmond y Hunter 1990, Fan y Dai 1998); además, algunos autores plantean que las actividades reproductivas de algunos corales pueden ser consideradas como una adaptación a los entornos locales (Babcock et al. 1986, 1994). Esta variación está relacionada con la latitud (Tabla 1).

Tabla 1. Datos reproductivos de *Montastraea annularis*, *Diploria strigosa* y *Siderastrea siderea* de norte a sur en zonas del Caribe

Familia	Taxa	Sexo/Reproducción	Gametogénesis	Localidad	Tiempo de liberación
Faviidae	<i>Diploria strigosa</i>	Hermafrodita/liberadora (Szmant 1986, Richmond y Hunter 1990, Soong 1991, Steiner 1995)	Febrero - Septiembre (Wyers 1985)	Bonaire (de Graaf et al. 1999)	7 días después de luna llena de agosto (1996)
				Puerto Rico Steiner. 1995)	7 días después de luna llena de agosto (1987)
				Panamá (Soong 1991)	Agosto-Septiembre (1987-1988)
	<i>Montastraea annularis</i>	Hermafrodita/liberadora (Szmant 1986; Richmond y Hunter 1990; Soong 1991; Steiner 1995)	Mayo-Septiembre (Alvarado 2009)	Bermuda (Wyers et al. 1991)	6-8 días después de luna llena de Agosto (1986)
				Puerto Rico Szmant 1991)	1 semana después de luna llena de Agosto y Septiembre (1983-1984)
				Panamá (Soong 1991)	Agosto-Septiembre (1987-1988)
Siderastreidae	<i>Siderastrea siderea</i>	Gonocorica/liberadora (Szmant 1986; Richmond y Hunter 1990; Soong 1991) (Szmant 1986)	Marzo- Noviembre (Soong 1991)	Puerto Rico (Szmant 1986)	Julio-Septiembre (1984-1985)
				Panamá Soong 1991)	Agosto-Septiembre (1987-1988)

La información sobre la reproducción de las especies incluidas en este estudio es como se describe a continuación. ***Diploria strigosa*** es hermafrodita liberadora de gametos y el desove se produce por la noche (Szmant 1986); parece ser desencadenado por temperaturas estacionales, y es más afinado a ciertas fases lunares. Los estudios indican que la temporada de desove de *D. strigosa* se

produce por un corto tiempo a mediados de agosto (Szmant 1986). Las temperaturas para la fertilización son entre 25-29°C y si las temperaturas superan los 30°C durante un período prolongado comienzan a ocurrir problemas de desarrollo larval (Bassim y Sammarco 2003).

Montastraea annularis es un coral hermatípico dominante en arrecifes desde hace millones de años (Pandolfi et al. 2002). Los estudios de la biología reproductiva realizados en el Caribe indican que esta especie es hermafrodita, liberadora de gametos y que presenta un ciclo gametogénico anual, cuya duración oscila entre cinco y seis meses (mayo-septiembre/octubre; Szmant 1986, Soong 1991, Van Veghel y Kahman 1994). Los gametos maduros son liberados entre agosto y octubre, seis y siete días después de luna llena (Szmant 1986, 1991, Soong 1991, Van Veghel 1994, Steiner 1995, Sánchez et al. 1999).

Siderastrea siderea es una especie gonocórica, liberadora con ciclo gametogénico anual. La liberación de gametos se da entre julio, agosto y septiembre, donde se ha visto que al igual que muchas otras especies este evento está asociado con periodos lunares (Szmant 1986, Richmond y Hunter 1990, Soong 1991).

3. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

3.1 Planteamiento del problema

Los arrecifes coralinos son ecosistemas muy diversos, que proveen una gran cantidad de bienes y servicios a poblaciones costeras; los corales escleractinios son uno de sus principales componentes y el éxito de su reproducción puede ser determinante en el futuro de este ecosistema. Se ha registrado que la reproducción sexual de los corales está influenciada por la temperatura, penetración de luz, disponibilidad de alimento, ciclos lunares y/o ciclos de marea entre otros, y cualquier alteración en estos puede reducir la fecundidad.

Aunque a nivel mundial, se han incrementado los estudios en arrecifes coralinos enfocados a la reproducción de corales escleractinios, en Colombia, los trabajos se han orientado principalmente hacia la descripción la estructura de comunidades coralinas, al estudio de la competencia por espacio entre corales y algas, así como a la descripción de las comunidades de peces asociadas a estos ecosistemas marinos, en tanto que se ha estudiado la reproducción sexual solo de unas cuantas especies de coral para unos pocos sitios del Caribe colombiano. Por ello, conocer la gametogénesis en corales de Isla fuerte permitirá ampliar el conocimiento sobre una parte del ciclo de reproducción de especies de corales que son importantes formadores de arrecife en el Caribe colombiano.

3.2 Preguntas de investigación

- ¿Cuáles son las fechas en que se presenta el proceso de gametogénesis para las 3 especies de coral incluidas en este estudio?
- ¿Hay alguna diferencia en cuanto a la gametogénesis para las tres especies de coral de Isla Fuerte respecto a otras zonas del Caribe?

4. HIPÓTESIS

- Si el ciclo de gametogénesis de las especies estudiadas es similar para las diferentes regiones del Caribe, entonces las especies incluidas en este estudio deberán presentar oocitos y espermarios entre Abril-Septiembre.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Evaluar la gametogénesis y fecundidad de los corales escleractinios *Montastraea annularis*, *Siderastrea sidérea* y *Diploria strigosa*, durante los meses de Agosto-Septiembre de 2011, Abril y Julio de 2012, en Isla Fuerte, Bolívar, Colombia.

5.2 Objetivos específicos

-Evaluar la fecundidad por medio de la presencia o ausencia de gametos, así como el n° de gametos por área en las especies *Montastraea annularis*, *Siderastrea sidérea* y *Diploria strigosa*.

-Describir la gametogénesis (estadios) para las tres especies de coral de Isla Fuerte mediante técnicas histológicas.

-Comparar los resultados del ciclo de gametogénesis y la fecundidad obtenidos para Isla Fuerte con otras áreas coralinas de Colombia y de resto del Caribe, así como entre especies.

6. METODOLOGÍA

6.1 Área de estudio

Isla fuerte es una pequeña isla apartada del archipiélago de San Bernardo a una distancia de 11 Km del continente, frente a las costas del departamento de Córdoba, en el sur del Caribe colombiano. Sin embargo, perteneciente al municipio de Cartagena. Está ubicada al sur del golfo de Morrosquillo (9°23'N 76°11'W, Fig. 1) con una extensión de 3km² y una temperatura de 28°C, hace parte de la cadena de islas conformada por las islas del Rosario, San Bernardo y Tortuguilla. La isla está rodeada hacia el oeste por una plataforma de coral, con profundidades que van hasta los 30m y varias formaciones coralinas a lo largo de la costa norte. Es una formación calcárea con una elevación máxima de 12 m y un área emergida de 2,9 km² (Díaz et al. 1996).

Los muestreos se llevaron a cabo en sectores conocidos como:

-Los venados: arrecife que presenta buena transparencia en Agosto, poca corriente, abundante coral ramificado de los géneros Acropora y Porites, presencia

de algas reducida. Aparentemente es una antigua barrera arrecifal; en Septiembre presenta turbidez por efecto de lluvias.

-El Ingles: parte frontal de la barrera arrecifal, mayor transparencia y mayor movimiento de agua, menos cantidad de algas.

-Mazatlán: arrecife tipo parche, con mayor presencia de algas y mas turbidez, abundante presencia de Siderastrea. Con profundidades de 2-3m

-Mar abierto: arrecife muy cerca de la costa, presenta mayor turbidez, mayor cantidad de algas y coral muy superficial, con profundidades de 1-2m

-El socorro: arrecife tipo parche, con buena presencia de Octocorales, parches de arena, poca presencia de algas, corrientes reducidas y poca turbidez, alcanza profundidades de 3-4m, lo que facilita el muestreo a pulmón libre.



Fig.1. Ubicación de sitios de muestreo en Isla Fuerte-Caribe colombiano. Mapa elaborado por Edgar Estrada.

6.2 Trabajo de campo

6.2.1 Obtención de muestras

Se tomaron muestras biológicas en los meses de Agosto y Septiembre de 2011 y Abril y Julio de 2012, mediante buceo autónomo y pulmón libre cuando fue posible, a profundidades entre 2 y 10m. Se extrajeron fragmentos del centro de las colonias con un tamaño de 2x2cm aproximadamente y 1.5mm de profundidad (con cincel y martillo) de 3-5 colonias que alcanzaron una talla promedio de 100cm². Las muestras se fijaron en formol al 10%.

6.3 Trabajo de laboratorio

6.3.1 Tratamiento para conservación de muestras

Las muestras se extrajeron del formol, se enjuagaron y colocaron en solución Zenker durante 18h. (Por cada litro de agua de mar filtrada diluir 25 g de dicromato de potasio, 50 g de cloruro mercuríco, 10 g de sulfato de sodio y 50 ml de ácido acético glacial), con el objetivo de que el tejido quedara más resistente y se perdiera poco al momento de la decalcificación. Retiramos los fragmentos de coral de la solución Zenker y enjuagamos con agua corriente hasta que dejo de precipitarse material o colorearse el agua (aproximadamente 24 h).

6.3.2 Decalcificación

El siguiente paso es la decalcificación del esqueleto coralino. Para ello, colocamos los fragmentos en ácido clorhídrico al 10% y una solución amortiguadora (por cada litro de solución, 0.7 g de EDTA, 0.0008 g de potasio sódico tetrahidratado y 0.14 g de sodio tartrado). Se retiraron los fragmentos de la solución cuando dejo de

formarse burbujas y el tejido quedo completamente libre de carbonato (aproximadamente 12-48 h). fue necesario variar en cuanto a tiempos el protocolo, además, fue necesario remover manualmente algunos restos de esqueleto calcáreo de las muestras, debido a la demora que presentaron algunos fragmentos en perder todo su carbonato de calcio. El tejido libre de carbonato se conservó en alcohol etílico al 70% hasta el momento de la observación.

6.3.3 Observación directa de muestras

Una vez decalcificado el tejido se obtuvo una muestra de aproximadamente un cm² para hacer las siguientes observaciones: Se contó el número de pólipos (*M. annularis* y *S. Siderea*) ó número de peristomios (*D. strigosa*) por cm², número de mesenterios por pólipo; para cada pólipo se registrará la presencia/ausencia de gónadas, n° de mesenterios/pólipo, n° de gónadas/pólipo, n° de huevos por gónada, n° máximo de gónadas por pólipo.

6.3.4 Montaje de muestras histológicas

Posteriormente se llevo a cabo la deshidratación del tejido coralino: usando un Histoquinet por medio de un tren de alcoholes (70 %. 80 %. 90 %. 100 %) y al final se sumergió en hemo-de (sustituto de Xilol). Después, luego se embebió la muestra en paraplast, procurando siempre colocar al menos 5 mm de tejido (Glynn et al. 1991).

Se realizaron los cortes del tejido coralino con un micrótopo de rotación manual, colocando los bloques de parafina con el tejido incluido y se obtuvo entre 2

preparaciones por colonia, para cada preparación de 3-5 cortes transversales y longitudinales con un grosor de 7-8 μm por muestra (entre un corte y otro dejar $\sim 240 \mu\text{m}$). Fijar los cortes a un portaobjetos con albúmina y glicerol (50-50).

Posteriormente llevó a cabo la tinción, para hacer la diferenciación de las estructuras de cada pólipo, usando azul de toluidina (Anexo 1, Rodríguez 2004, Alvarado et al. 2004) con el cual se consigue una preparación donde se observan muy bien los núcleos, nucléolos, tejido espermiario, además, es una tinción rápida y demostrativa.

Después de concluir con la tinción de las estructuras reproductivas, se realizaron observaciones con ayuda de un microscopio para describir el estadio de desarrollo de las gónadas (oocitos y espermiarios).

6.4 Análisis estadístico

Para las tres especies de coral estudiadas se tomó un cm^2 de cada muestra (borde y centro), de las cuales se revisaron 10 pólipos para determinar presencia o ausencias de gametos, y para obtener los datos necesarios para calcular la fecundidad ($\#$ de gametos/gónada/pólipo/ cm^2) mediante la observación directa.

La literatura muestra que las tres especies evaluadas presentan un solo ciclo reproductivo por año. El análisis se realizó por separado en cuanto al borde y centro de la colonia, en las dos especies donde se encontraron oocitos.

6. RESULTADOS

Las colonias muestreadas, tenían un tamaño aproximado o mayor a 100cm², solo en el caso de *S. siderea* se tomaron algunos montículos pequeños debido a la complejidad para extraer un fragmento con cincel y martillo.

Gracias a las observaciones de tejido en fresco se pudo obtener el número promedio de pólipos/cm², el número de mesenterios/cm² entre otros. Tabla 2.

Tabla 2. Datos obtenidos con observación directa de cada una de las tres especies estudiadas, comparando entre centro y borde de la colonia para el mes de Julio.

Especie	# Pólipos/cm ²		#Mesenterios/cm ²		#Gónadas/cm ²		#Oocitos/Gónada	
	centro	borde	centro	borde	centro	borde	centro	borde
<i>M.annularis</i>	12.1	12	145.1	141.6	93.8	8.4	5.8	4.3
<i>D.strigosa</i>	6.7	7.2	11.8	13.6	>15	>17	4.6	4
<i>S.siderea</i>	17.7	16.7	342.3	348.7	No se encontró oocitos en las muestras			

7.1 GAMETOGÉNESIS

La gametogénesis fue descrita con los cortes longitudinales de los montajes histológicos para la especies *Montastraea annularis* y *Diploria strigosa*, se pudo describir oogénesis en estas dos especies, mientras que para *Siderastrea siderea* no fue posible porque no se encontraron oocitos. Se encontró para estas dos especies oocitos en diferentes estadios de madurez en un mismo saco gonadal, también se evidenció la presencia de tejido espermario en las tres especies.

Montastraea annularis

Oogénesis (Fig. 2)

Se identificaron oocitos en las muestras de agosto, septiembre y julio, por que en los montajes histológicos no se evidenció gónadas para el mes de abril. En cada uno de los meses revisados se encontró oocitos en diferentes estadios en una misma gónada (**Fig.3A,C**).

Estadio I. En este estadio no se evidenciaron oocitos, por ello no hay descripción.

Estadio II (Fig. 2A,B). Oocitos rodeados por mesoglea, se observan gránulos, inicio de vitelogénesis, presencia de núcleo en posición central, membrana gruesa, alcanzando un tamaño aproximado de 50 μ .

Estadio III (Fig. 2A,3A,B). Oocitos con membrana bien definida y mayor apariencia granular, núcleo y nucléolo en posición central, oocitos en promedio con 200 μ de diámetro.

Estadio IV (Fig. 2C,D). Oocitos maduros, núcleo y nucléolo en posición lateral o migrando a los lados, membrana vitelina separada de la mesoglea, núcleo con apariencia quebradiza, oocitos de mayor tamaño.

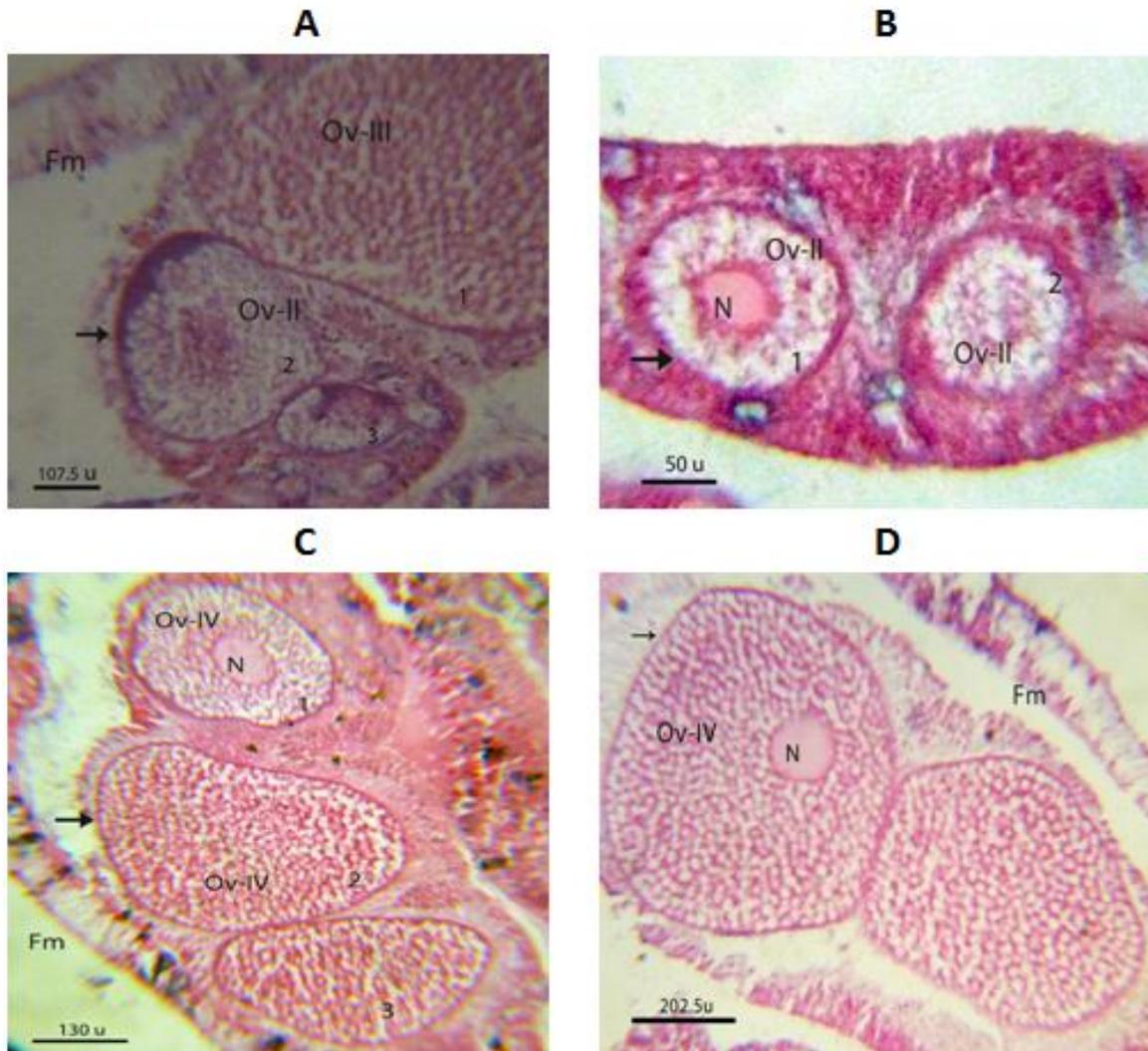


Figura 2. Oogénesis de *Montastraea annularis*. **A)** oocito (1) en estadio III, oocito (2,3) en estadio II, con núcleo. Diámetro aprox. Oocito (2) 107.5 μ . **B)** Oocitos en estadio II. Diámetro aprox. 50 μ . **C)** Oocitos en estadio IV, diámetro Oocito (2) aprox. 130 μ . **D)** oocitos en estadio IV migrando a los lados. **N** (núcleo), **Fm** (filamento mesentérico), **Ov** (oocito). (**A,B,C,D**-40x)

Espermatogénesis (Fig. 3)

El tejido espermario en la mayoría de los casos se encontró en una misma gónada con los oocitos; de igual manera, se encontró diferentes estadios de madurez.

Estadio I. No se observó tejido espermario en este estadio.

Estadio II. (Fig. 3C,D). Se observa espermario con apariencia más densa y rodeados por una membrana, no se diferencian bien los espermatozoides.

Estadio III. (Fig. 3A,B,C,D). Muchos espermatocitos desplazándose a la periferia del saco, se distinguen espermatozoides, espermario con apariencia quebradiza.

Estadio IV. Muchos espermatozoides agrupados en la periferia, no se alcanzan a ver las colas, se forma un espacio en el centro del espermario, (no se obtuvo imagen de este estadio).

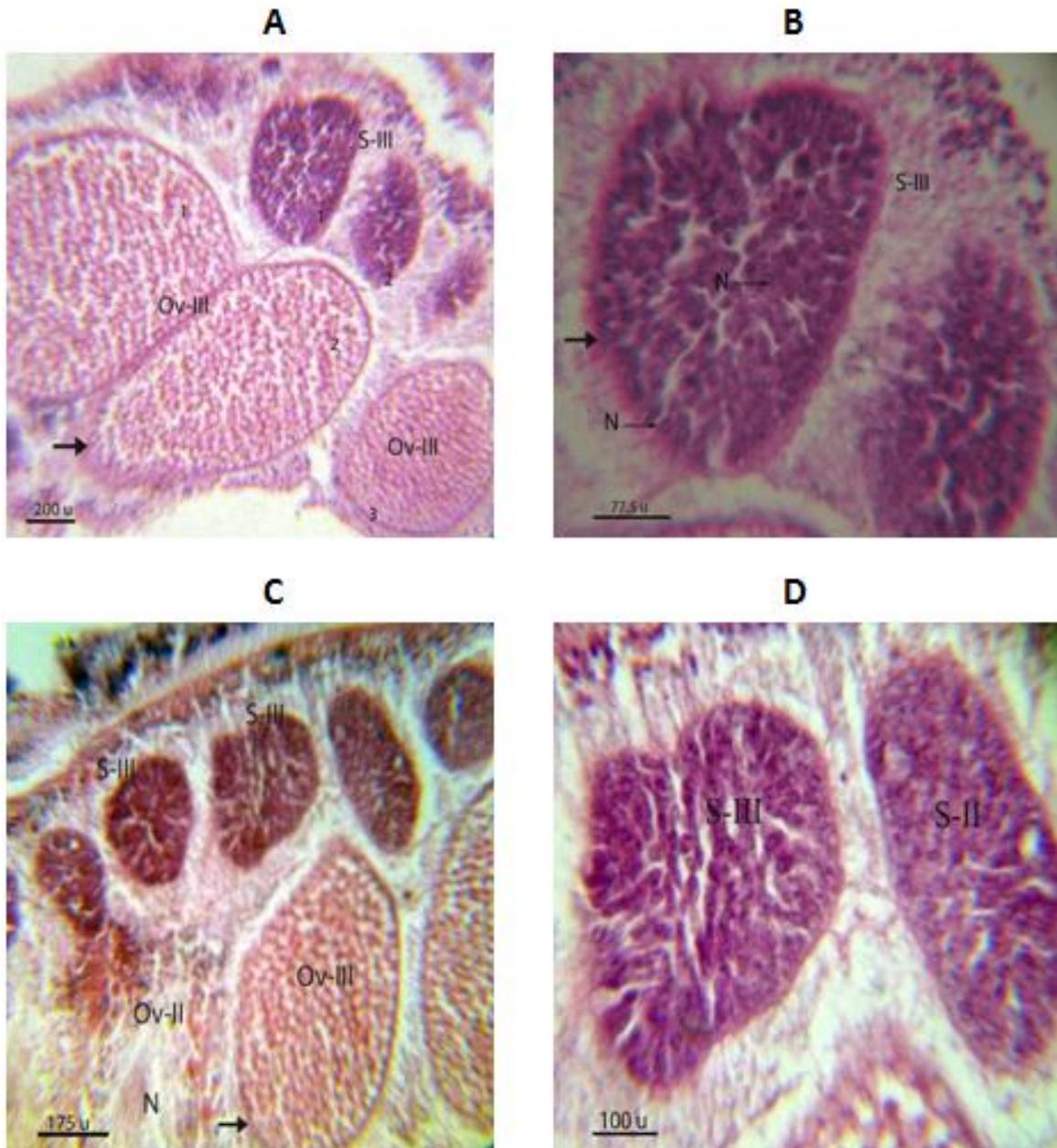


Figura 3. Espermatogénesis de *Montastraea annularis*. **A)** Oocitos (1,2 y 3) en estadio III, con diámetro aprox. 200 μ ,130 μ y 105 μ respectivamente. Tejido espermario (1,2) en estadio III, con diámetro aprox. 77.5 μ y 52.5 μ . (40x). **B)** tejido espermario en estadio III, se observan algunos núcleos de espermatozoides. Diámetro aprox. 77.5 μ . **C)** Tejido espermario en estadio II y III, con diámetros aprox. 78 μ . Oocitos en estadio II y III. 175 μ . 40x. **D)** tejido espermario en estadio II y III. 100 μ de diámetro aprox. **S** (tejido espermario), **N** (núcleo), **Ov** (oocito).

Diploria strigosa

Se observaron oocitos en los meses de abril y julio en diferentes estadios de desarrollo en una misma gónada, además, se observó tejido espermario sobrepuesto en los oocitos, lo que dificultó un poco su caracterización.

Oogénesis (Fig. 4)

Estadio I. No se observó oocitos en este estadio

Estadio II (Fig. 4B). Oocitos pequeños con formas más redondeada, con membrana gruesa, inicio de granulación, se observaron en abril, con 47.5 μ de diámetro (40x)

Estadio III. (Fig. 4C,D). Oocitos de mayor tamaño y con formas más elongadas o irregulares, presencia de núcleo y nucléolo en posición central, membrana más delgada, se observan en abril y julio, alcanzando un tamaño promedio de 260 μ (40x) de diámetro.

Estadio IV. (Fig. 4A,B). Oocitos maduros, se observan en julio, con núcleo y nucléolo en la periferia del oocito, gran cantidad de vitelo, aspecto granular, con mayor tamaño. Aprox. 150 μ de diámetro en promedio.

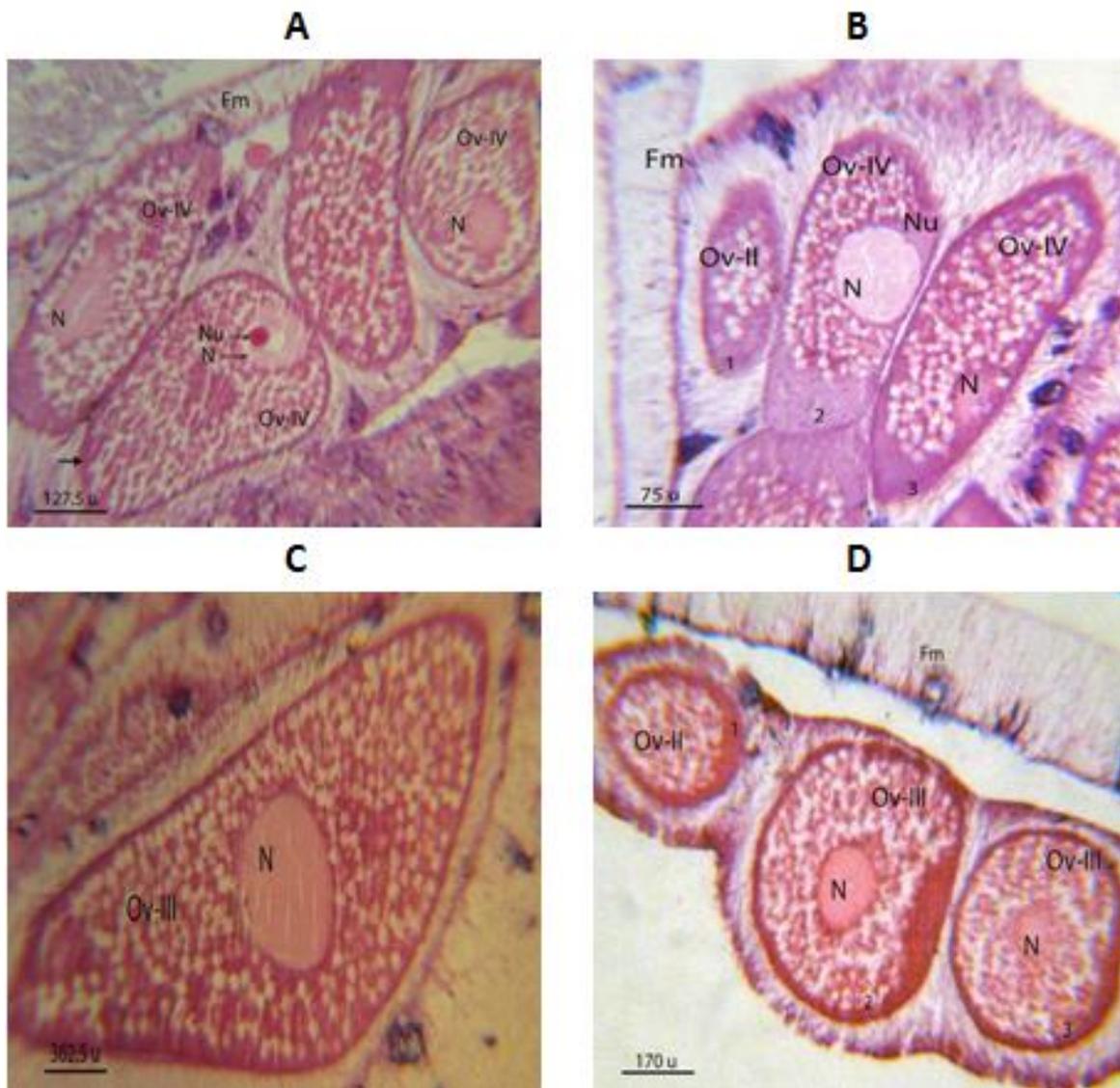


Figura 4. Oogenesis de *Diploria strigosa*. **A)** Oocitos con núcleo y nucléolo, estadio IV, diámetro aprox.77.5 μ ,110 μ ,80 μ y 127.5 μ respectivamente. Diámetro núcleo 32.5 μ , 37.5 μ y 36 μ . **B)** oocito (2 y 3) maduros (estadio IV), presentan núcleo definido y nucléolo hacia la periferia. Con 125 μ ,215 μ ,187.5 μ de diámetro. Para los núcleos 102.5 μ ,75 μ . **C)** oocito en estadio III, con núcleo bien definido y con 365.5 μ de diámetro. **D)** Oocito (1) en estadio II, (2 y 3) en estadio III, con núcleo definido y central. Se observa filamento mesentérico. **Fm** (filamento mesentérico), **N** (núcleo), **Nu** (núcleolo), **Ov** (oocito)

Espermatogénesis (Fig.5)

Estadio I. No es posible caracterizar este estadio

Estadio II. (Fig. 5B,C). Se observan material citoplasmático muy denso, espermatogonias rodeadas por una membrana gruesa, no se diferencian bien los espermatozoides.

Estadio III. (Fig. 5A,C). Espermatocitos iniciando el desplazamiento hacia la periferia dejándose un espacio en el centro del espermario; diámetro aprox. del espermario 67.5μ

Estadio IV. No se tuvo una observación clara de este estadio, por lo tanto no se describe

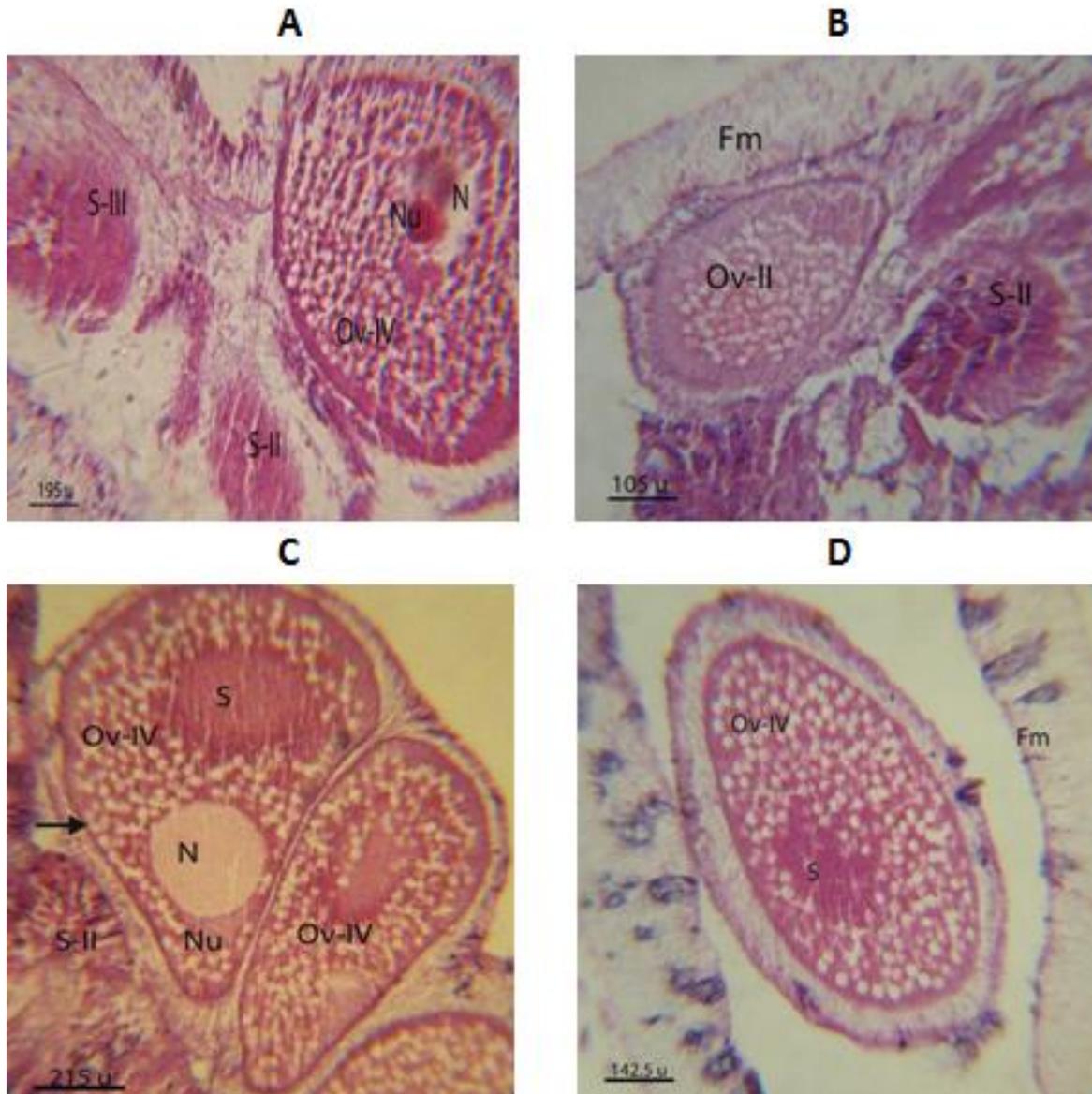


Figura 5. Espermatogenesis de *Diploria strigosa*. **A)** Tejido espermario en estadio II y III, oocito en estadio III, con núcleo y nucléolo viajando a la periferia, con 195 μ de diámetro (40x). **B)** oocito inmaduro en estadio II, tejido espermario en estadio II. **C)** oocito (1) maduro (IV) con núcleo bien definido, 215 μ de diámetro y 72.5 μ diámetro del núcleo, tejido espermario en estadio II sobrepuesto en el oocito con 77.5 μ de diámetro; oocito (2) en estadio III. **D)** oocito en estadio III, tejido espermario sobrepuesto en el oocito. (40x). **S** (tejido espermario), **Fm** (filamento mesentérico), **Nu** (núcleolo), **N** (núcleo), **Ov** (oocito).

Siderastrea siderea

No fue posible la descripción de la oogénesis, por la falta de oocitos en las muestras obtenidas, mientras que el tejido espermario se observó en diferentes etapas de desarrollo, pero el tejido (aparentemente más blando en comparación a las otras dos especies de coral estudiadas), dificultó los montajes histológicos y posteriores cortes longitudinales.

Espermatogénesis (Fig. 6)

El tejido espermario, presentaba un tamaño mucho menor a las estructuras reproductoras encontradas en las otras dos especies, por lo tanto la descripción no es tan detallada.

Estadio I. No se observó tejido espermario en este estadio

Estadio II. (Fig.6D). Se observan espermatogonias muy densas y agrupadas, rodeadas por una membrana poco definida.

Estadio III. (Fig. 6A,B,C,D). Muchos espermatocitos desplazándose a la periferia, membrana bien definida, se observan algunas colas y algunos espermatozoides con núcleo.

Estadio IV. (Fig. 6B,C,D). Muchos espermatozoides agrupados en la periferia, se ven las colas dirigidas hacia el centro, se forma un espacio en el centro del espermario, en algunos casos se observa como un desplazamiento de material espermático fuera de la gónada.

Estadio V. (Fig. 6C,D). Este estadio muestra los espermatozoides en la periferia, dejando un espacio en el centro, se observan claramente los flagelos.

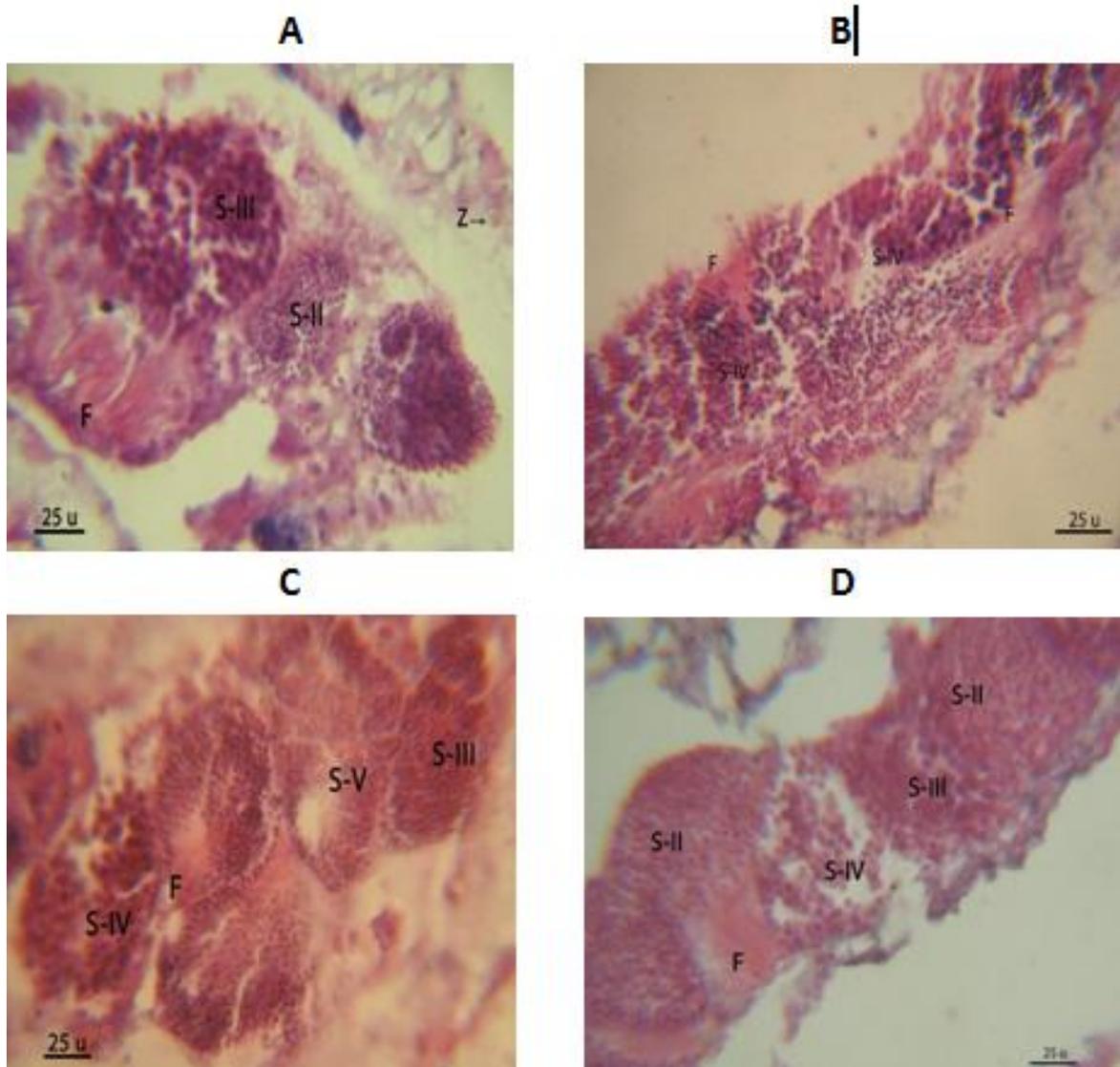


Figura 6. Espermatogénesis de *Siderastrea siderea*. **A), B), C) y D)** muestran tejido espermario en estadios II (**A y D**) en estadio III (**A,B,C,D**) y en estadio IV (**C y D**), se observan los flagelos de los espermatozoides. **F** (flagelo), **S** (tejido espermario).

7.2 FECUNDIDAD

M. annularis, presentó en promedio 12 pólipos para borde y 12.1 para centro de la colonia, de este cm^2 , se encontró un promedio de 7.8 sacos gonádicos por pólipo y con 5.8 oocitos por saco, lo que corresponde a 93.8 sacos/cm^2 y 544 oocitos/cm^2 , para muestras del mes de Julio del centro de la colonia, mientras que para el borde de la colonia en promedio hubo 0.7 sacos gonádicos por pólipo y 4.3 oocito por saco, lo que sería 8.4 sacos/cm^2 y $36.12 \text{ oocitos/cm}^2$; para el mes de Abril, tanto borde y centro, no presentaron sacos con gónadas; para Septiembre se observó gónadas en una muestra correspondiente al centro de la colonia y para Agosto, la fecundidad obtenida tanto para borde y centro fue menor en comparación con el mes de Julio. Figura 7. (A y B)

Para ***D. strigosa***, se revisó todo el cm^2 , y se promedió el N° de peristomios y el N° de oocitos encontrados, y se obtuvo un promedio de $6.7 \text{ peristomios/cm}^2$ para el centro de la colonia y de 7.2 para el borde. Con más de $15 \text{ sacos gonádicos/cm}^2$ y $4.6 \text{ oocitos por saco}$, es decir, 69 oocitos/cm^2 para el centro de la colonia y más de 17 sacos/cm^2 y 4 oocitos/saco , en el borde de la colonia lo que equivale a 68 oocitos/cm^2 , durante el mes de Julio. Para los meses de Septiembre y Agosto no se encontró sacos con huevos y para Abril, la fecundidad fue, mas de $12 \text{ sacos gonádicos/cm}^2$ y $4.6 \text{ oocitos por saco}$, siendo $55.2 \text{ oocitos/cm}^2$, en centro de la colonia, para el borde no se encontró gónadas. Figura 7. (C y D).

La fecundidad fue calculada solo con tejido femenino (oocitos) debido a que el tejido espermiario no es posible cuantificarlo bajo observación directa, es decir,

solo se evidenció su presencia con la observación histológica de las muestras en cortes longitudinales y transversales.

Nota: se realizó un muestreo adicional para *Siderastrea siderea* en el mes de noviembre 2012, pero no se obtuvo resultado diferente a los anteriores, no se encontraron oocitos, por eso no se realizan cálculos de fecundidad y no hay descripción de la oogenesis para esta especie.

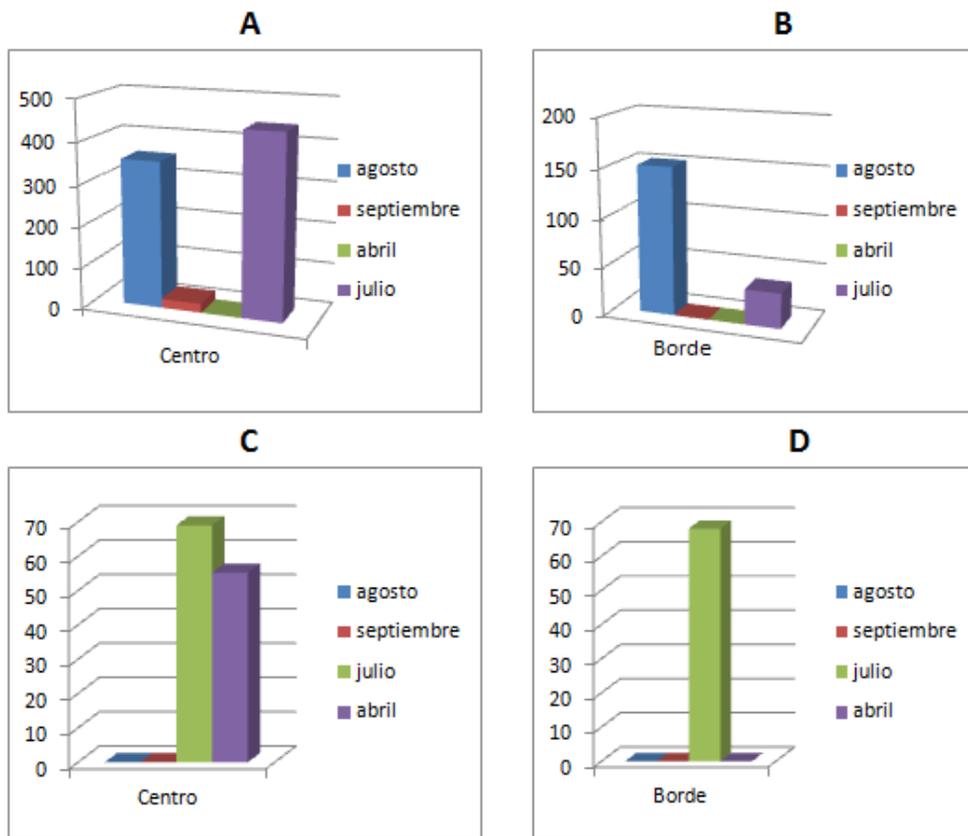


Figura 7. A) y B). Fecundidad para *M. annularis*, C) y D) Fecundidad para *D. strigosa*. Se observan las diferencias entre el borde y centro de la colonia, además, diferencia entre los meses de muestreo y entre especies. (# oocitos/cm² vs zona de la colonia)

7. DISCUSIÓN

En este estudio se revisaron algunas características reproductivas de tres especies coralinas muy representativas para Isla Fuerte y para el Caribe en general (*Montastraea annularis*, *Diploria strigosa* y *Siderastrea siderea*). Las diferencias en cuanto a la posición de los pólipos en la colonia fueron evidentes y apoya lo planteado por varios autores, comprobándose así, que en una colonia coralina, la posición de los pólipos es importante al momento de hablar de reproducción. Varios trabajos (Harrison y Wallace 1990, Szmant 1991, Soong y Lang 1992, Sakai 1998); han mencionado que aún en colonias grandes la fecundidad de pólipos en o cerca de los márgenes se reduce significativamente, debido a que los pólipos marginales usualmente exhiben gemación extratentacular y los pólipos resultantes son inicialmente inmaduros, en tanto que los pólipos no marginales exhiben gemación intratentacular. Lo anterior sugiere que los pólipos tienen diferentes funciones de acuerdo a su ubicación en una colonia; los pólipos externos contribuyen a la defensa y expansión de la colonia, en tanto que los internos tienen función reproductiva (Soong y lang 1992, Sakai 1998). Del mismo modo, el tamaño de la colonia (Szmant 1986, Harrison y Wallace 1990, Sakai 1998), también determina la eficiencia o madurez reproductiva de los corales.

Harrison y Wallace (1990) observaron que colonias de *Acropora* alcanzaban su madurez sexual 3 años después del asentamiento de la larva, y que tras alcanzar la madurez sexual la fecundidad se incrementa con el tamaño, con mayor número de pólipos grávidos (Hall y Hughes 1996). Así mismo, colonias de *Montastraea*

annularis menores a 100 cm² tuvieron pocas gónadas (disminución experimental) o ausencia de gónadas (Szmant 1986). Sin embargo, algunos autores plantean que es el tamaño del pólipo lo que limita la reproducción, entre ellos podemos mencionar: Harriott (1983) encontró que para 4 especies de coral de la familia musidae el tamaño del pólipo más que el tamaño de la colonia es lo que limita la producción de gónadas. Por otro lado, Van Veghel y Kahmann (1994) encontraron que la fertilidad de *M. annularis* fue menor de 40% para pólipos pequeños (<1.5 mm) y se incremento con el diámetro del pólipo. (Harriot 1983, Sakai 1998). Para nuestro estudio podemos decir que estas condiciones se presentaban, es decir, el tamaño de las colonias muestreadas fueron mayor a 100 cm², el tamaño promedio de los pólipos fue; profundidad: 3.7mm, 4.8mm y 5.2mm para *M.annularis*, *D. strigosa* y *S. siderea*, respectivamente y 2.5mm y 2.6mm de ancho para *M.annularis* y *S.siderea*. En cuanto que la posición de los pólipos si se observo diferencias en todos estos aspectos entre pólipos del borde y centro de la colonia.

Las característica encontradas para la gametogénesis de *M. annularis* y *D. strigosa*, son similares a las descritas por Alvarado y acosta 2009. De acuerdo a la literatura, la fecha en la que comienza la gametogénesis para *M. annularis* (Mayo) y el mes de muestreo más cercano (Abril) puede ser una de las razones por las cuales no se encontró gametos, ya que está muy cerca del inicio de la gametogénesis y las estructuras reproductoras, si se encontraban, eran de un tamaño y forma difíciles de diferenciar. Para *D. strigosa*, la cual inicia su gametogénesis en Febrero (Soong 1991), si fue posible observar estructuras

reproductoras para el inicio del muestreo (Abril), sin embargo, no se observaron estructuras reproductoras para los meses de Agosto y Septiembre, para los cuales esta reportado el desove masivo, por ello, podemos confirmar que las fechas de liberación de gametos varían según las regiones o que posiblemente la revisión de material (número de muestras y/o réplicas) no fue suficiente para evidenciar estas estructuras reproductoras cercanas a su liberación. Además, cabe decir que estas estructuras pudieron ser observadas directamente pero en el material de histología no quedaron plasmadas.

El mes en el que mayor fecundidad se observó fue Julio (544 y 69 oocitos/cm² para el centro de la colonia) y coincide para las dos especies que presentaron gónadas, esto respalda lo encontrado en la literatura (Szmant 1986, Wyers et al 1991, Soong 1991), acerca de la fecha de liberación que es entre Julio y Septiembre.

Se encontró hasta 18 sacos gonádicos/pólipo con oocitos (2-10) en diferentes estados de madurez, para *M. annularis* (Ver anexo II) y 22 gónadas/cm² con oocitos (5-10) para *D. strigosa*. El número promedio de huevos por mesenterio en *D. strigosa* fue similar a lo reportado por Soong (1991) para esta especie en Panamá (4-10 huevos/mesenterio) y con diferencias en cuanto al número promedio de huevos/mesenterio, para *M. annularis* (6,5 huevos/mesenterio) en Curazao (Van Veghel 1994). La presencia de gametos en diferentes estadios de madurez nos permite decir que la liberación de gametos puede ser regulada y que solo hasta el momento de la liberación masiva no se expulsan todos los gametos.

En comparación con el estudio realizado por Alvarado 2009 el cual obtuvo una fecundidad promedio de 11 huevos/cm², para *M. annularis* en un arrecife degradado en isla grande, podemos considerar que el arrecife estudiado (Isla Fuerte) se encuentra mejor conservado, debido a que la tasa de fecundidad es mayor, aun en comparación con el arrecife de Curazao estudiado por Veghel y Kahman (1994) el cual obtuvo una fecundidad de 102 huevos/cm² para la misma especie

Por otra parte, la alta tasa fecundidad que se encontró, indica que la población de estas especies permanecerá, debido a que se están produciendo organismos nuevos, los cuales pueden reemplazar a aquellos que presenten mas deterioro y estén más vulnerables a los efectos del cambio en las condiciones ambientales que se pueden producir, en gran parte por el cambio climático, aumento de enfermedades, cambio de salinidad, temperatura entre otros, sin mencionar la actividad antropogenica que aumenta cada día en estos ecosistemas

Para el caso de *S. siderea*, en la cual no se encontró oocitos, consideramos que por su condición de gonocórico, las colonias muestreadas eran masculinas y que posiblemente los sitios muestreados sean lugares de asentamiento para esta especie, y no, donde se lleve a cabo la reproducción. Faltaría realizar más muestreos y ampliar el área de estudio para así, poder dar más validez a lo dicho anteriormente

9. CONCLUSIÓN

-La evaluación de la fecundidad por medio de la presencia de gametos, fue posible solo para *M. annularis* y *D. strigosa*, con un promedio de 544 oocitos/cm² y 69 oocitos/cm² respectivamente.

-La gametogénesis se describe para las tres especies, en ninguna se observó estadio I, y con dificultad se describe espermatogénesis en *D. strigosa*, ausencia de oocitos en *S. siderea*.

-No se encontraron diferencias en cuanto a los ciclos de gametogénesis y fechas de mayor fecundidad en comparación a otras zonas del Caribe y de igual manera entre especies.

-Las especies coralinas estudiadas, son las más representativas en arrecifes de Isla Fuerte y requieren de un seguimiento adecuado que permita estimar el estado de los arrecifes en esta zona del Caribe Colombiano.

10. RECOMENDACIONES

Para lograr resultados más precisos es recomendable realizar un muestreo por cada mes del año, para así poder observar las características de cada uno de los estadios de desarrollo y poder completar las descripciones de la gametogénesis.

Se recomienda modificar el protocolo (tiempos de exposición o sustancias químicas usadas, así como las concentraciones o cantidades de reactivos) para la obtención del tejido coralino de *S. siderea*, la cual presenta aparentemente un tejido más delicado y un esqueleto calcáreo más duro y se dificulta la manipulación de estas muestras.

En estudios futuros recomendamos tener en cuenta parámetros físicos y/o ambientales para ampliar la discusión y establecer relaciones entre los organismos y las condiciones de su ambiente.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta A. y Zea S. 1997.** Sexual reproduction of the reef coral *Montastrea cavernosa* (Scleractinia: Faviidae) in the Santa Marta, Caribbean coast of Colombia. *Marine Biology* 128:141-148
- Alvarado Ch. E. y Acosta A. 2009.** Fertilidad y fecundidad de *Montastraea annularis* en un arrecife degradado. Santa Marta, Colombia. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*. 38 (2). 91-108
- Alvarado Ch. E., García R.U., y Acosta A. 2004.** Sexual reproduction of the reef-building coral *Diploria labyrinthiformis* (Scleractinia: Faviidae), in the Colombian Caribbean. *Revista de Biología Tropical*. v.52 n.4
- Babcock R. C., Bull G.D., Harrison P.L., Heyward A.J., Oliver J.K., Wallace C.C. y Willis B.L. 1986.** Synchronous spawning of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef, *Marine Biology*.
- Bertness M. D., Gaines S.D y Hay M.E. 2001.** *Marine Community Ecology* (Cap. 15: The ecology of coral reefs). Sinauer Associates Inc. U. S. A. 550 p.
- Borger L. J., Colley S. 2010.** The effects of a coral disease on the reproductive output of *Montastraea faveolata* (Scleractinia: Faviidae) *Revista de Biología Tropical*. Vol. 58 (Suppl. 3): 99-110.

Buddemeier, R.W., Kleypas, J.A. y Aronson, R.B. 2004. Coral reefs and global climate change: potential contributors of climate change to stresses on coral reef ecosystems. Pew Center on Global Climate Change. 44 pp.

Cairns, S.D. 1988. Asexual reproduction in solitary Scleractinia. In Proceedings of the 6th International Coral Reef Symposium, Townsville, Queensland, Australia, 8–12 August 1988. Vol. 2. Edited by J.H. Choat, D. Barnes, M.A. Borowitzka, J.C. Coll, P.J. Davies et al. Sixth International Coral Reef Symposium Executive Committee. pp. 641–646.

Díaz J.M., Sánchez J.A. y Díaz-Pulido, G. 1996. Geomorfología y formaciones arrecifales recientes de Isla Fuerte y Bajo Bushnell, plataforma continental del Caribe colombiano. Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras 25(1): 87-105.

DeVantier L.M., y Endean R. 1989. Observations of colony fission following ledge formation in massive reef corals of the genus *Porites*. Marine Ecology Progress Series 58: 191-195

Fadlallah Y.H., Eakin C.M., Allen K.W., Estudillo R.A., Rahim S.A., Raka´Kudla M. y Earle S.A. 1983. Reef coral distribution and reproduction, community structure, and reef health (Qatar, Bahrain, Saudi Arabia, Kuwait): Results of the Mt Mitchell Cruise, May, 1992. Water Resources and environment division, Saudi Arabia. 17 pp.

Fan T.Y. y Dai C.F. 1998. Sexual reproduction of the scleractinian coral *Merulina ampliata* in southern Taiwan. Bulletin of Marine Science 62(3): 897-904.

Glynn P.W., Gassman N.J., Eakin C.M., Cortes J., Smith D.B. y Guzman H.M.

1991. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama and Galápagos Island (Ecuador). I. Pocilloporidae. *Marine. Biology.* 109: 355-368.

Hall V.R., Hughes T.P. 1996 Reproductive strategies of modular organisms:

comparative studies of reef-building corals. *Ecology* 77:950–963.

Harriot V.J. 1983. Reproductive seasonality, settlement, and post-settlement mortality of *Pocillopora damicornis* (Linnaeus) at Lizard Island, Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 2(3) 151-157.

Harrison P.L. 1985. Sexual characteristics of scleractinian corals: systematic and evolutionary implications. *Proc. 5th Coral reef Congr.*4:337-342.

Harrison P.L. y Wallace C.C. 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. In: Dubinsky, Z. (ed.), *Corals Reefs. Ecosystems of the World* 25: 133–207.

Hoegh-Guldberg O., Mumby P.J., Hooten, A.J., Steneck R.S., Greenfield P., Gomez E., Harvell C.D., Sale P.F., Edwards A.J., Caldeira K., Knolton N., Eakin C.M., Iglesias-Prieto R., Muthiga N., Bradbury R.H., Dubi A. y Hatzioles M.E. 2007. Coral Reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science* 318: 1737-1742.

Jokiel P. L. 1985. Lunar periodicity of planulae release in the reef coral *Pocillopora damicornis* in relation to various environmental factors. *Proc. 5th Coral Reef Congr. French Polinesia.* 4: 307-312.

- Kojis B.L. 1986.** Sexual reproduction in *Acropora* (*Isopora*) (Coelenteata: Scleractinia) II. Latitudinal variation an *A. palifera* from the Great Barrier Reef and Papua New Guinea. *Marine Biology* 91:311-318.
- Bassim K. y Sammarco P. 2003.** Effects of temperature and ammonium on larval development and survivorship in a scleractinian coral (*Diploria strigosa*). *Marine Biology*, Vol. 142, Number 2, Pages 241-252.
- Lazar EK, Frazer KT, Jacoby AC, y St Mary MC. 2011.** Reproductive Strategy of *Siderastrea radians* in the St. Martins Keys, Florida. *Bulletin of Marine Science* 91.
- Levinton J.S. 1995.** Function, biodiversity, ecology. Oxford University Press. Ney York. *Marine Biology*. 420 p.
- Pandolfi J.M. 2002.** Coral community dynamics at multiple scales. *Coral Reef* 21: 13-23.
- Rodríguez T.A.M. 2004.** "Caracterización del ciclo reproductivo de *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758), en el arrecife de La Entrega, Oaxaca, México." Tesis para obtener el título de Licenciado en Biología Marina.
- Richmond RH, Hunter CL. 1990.** Reproduction and recruitment of corals: Comparisons among the Caribbean, the Tropical Pacific, and the Red Sea. *Marine. Ecology. Progress. Series.* 60(1-2): 185-203.
- Rinkevich B. y Loya Y. 1985.** Intraspecific competition in a reef coral: effects on growth and reproduction. *Oecologia* 66:100-105.

- Sakai K. 1998.** Effect of Colony Size, Polyp Size, and Budding Mode on Egg Production in a Colonial Coral. *Biology. Bulletin.* 195: 3 19-325.
- Sánchez J., Alvarado E.M., Gil M., Charry H., Arenas O., Chasqui L. y García R. 1999.** Synchronous mass spawning of *Montastraea annularis* (Ellis & Solander) and *Montastraea faveolata* (Ellis & Solander) (Faviidae: Scleractinia) at Rosario Islands, Caribbean coast of Colombia. *Bulletin of Marine Science.*, 65 (3): 873-879.
- Soong K. 1991.** Sexual reproduction patterns of shallow-water reef corals in Panamá. *Bulletin of Marine Science* 49 (3): 832-846.
- Soong K. y Lang J.C. 1992.** Reproductive Integration in Reef Corals. *Biology Bulletin* 183: 4 18-43 1.
- Steiner S. 1995.** Spawning in scleractinian corals from SW Puerto Rico (West Indies). *Bulletin of Marine Science*, 56 (3): 899-902.
- Stoddart J.A. 1983.** Asexual production of planulae in the coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology* 76: 179-284.
- Szmant A. 1986.** Reproductive ecology of Caribbean reef corals. *Corals Reef*, 5: 43-54.
- Szmant A., Reutter M. y Riggs L. 1985.** Sexual reproduction of *Favia fragum* (esper): lunar patterns of gametogenesis, embryogenesis and planulation in Puerto Rico. *Bulletin of Marine Science.* 37(3): 880-892.

- Szmant A.M. 1991.** Sexual reproduction by the Caribbean reef corals *Montastraea annularis* and *M. cavernosa*. Marine Ecology Progress Series. 74: 13-25.
- Tanner J.E. 1995.** Competition between scleractinian corals and macroalgae: An experimental investigation of coral growth, survival and reproduction. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology 190: 151-168.
- Tomasick T. y Sander F. 1987.** Effects of eutrophication on reef-building corals. III. Reproduction of the reef-building coral *Porites porites*. Marine Biology. 94: 77-94.
- Van Veghel M.L.J. 1994.** Reproductive characteristics of the polymorphic Caribbean reef building coral *Montastraea annularis*. I. Gametogenesis and spawning behavior. Marine Ecology Progress Series, 109: 209-219.
- Van Veghel M.L.J, y Kahmann M.E.H. 1994.** Reproductive characteristics of the polymorphic Caribbean reef building coral *Montastrea annularis*. II. Fecundity and colony structure. Marine Ecology Progress Series. 109: 221-227.
- Wallace C.C. 1988.** Reproduction, recruitment and fragmentation in nine sympatric species of the coral genus *Acropora*. Marine Biology, 88:217-233.
- Ward, S. 1992.** Evidence for broadcast spawning as well as brooding in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. Marine Biology. 112:641-646.
- Wyers S., Barnes S. y Smith S. 1991.** Spawning of hermatypic corals in Bermuda: a pilot study. Hydrobiology, 216/217: 109-116.

Weil E., Cróquer A. y Urreiztieta I. 2009. Yellow band disease compromises the reproductive output of the Caribbean reef-building coral *Montastraea faveolata* (Anthozoa, Scleractinia) Vol. 87: 45–55, Department of Marine Sciences, University of Puerto Rico.

12. ANEXOS

Anexo I. Técnica histológica para la preservación y tinción de las colonias de *Montastrea annularis*, *Siderastrea sidérea* y *Diploria strigosa*. (Mallory Heindenhain's).

1. Eliminar la parafina e hidratar la muestra por ambos lados para de esta manera remover el HgCl₂.
2. Sumergir en alcohol anilina (1.0 de aceite de anilina en 1000 ml de alcohol etílico 90%) durante 45 minutos.
3. Sumergir en alcohol ácido (1.0 ml de ácido acético glacial en 100.0 ml de alcohol etílico 90%) durante dos minutos
4. Fijar en azocarmín (1.0 g de azocarmín, 1.0 ml de ácido acético glacial en 100.0 ml de agua destilada) a una temperatura óptima de 56°C durante una hora y media.

5. Enjuague en agua destilada.
6. Diferenciar en alcohol anilina.
7. Tratar con alcohol ácido (1.0 ml de ácido acético glacial en 100.0 ml de alcohol etílico 90%) durante dos minutos.
8. Transferir a ácido fosfotungsténico (5.0 g de ácido fosfotungsténico en 100 ml de agua destilada) durante tres horas.
9. Enjuagar con agua destilada.
10. Fijar en la solución de anilina azul (0.5 g de anilina azul, 2.0 g de naranja G, 2.0 g de ácido oxálico, 100.0 ml de agua destilada y 1 ml de ácido fosfotungsténico al 5%) durante dos horas.
11. Enjuagar en agua destilada.
12. Tratar con ácido fosfotungsténico durante cinco minutos.
13. Enjuagar con agua destilada
14. Aclarar con agua acidulada (1 ml de ácido acético glacial en 100 ml de agua destilada) durante diez minutos.
15. Aclarar con alcohol 70% durante dos minutos.
16. Deshidratar con la serie de alcoholes. Comenzando con alcohol al 10% y terminando con alcohol al 95-100%.

17. Montaje Montar la muestra sobre el porta objetos con Bálsamo de Canadá, colocar el cubre objetos evitando que entren burbujas de aire. En el caso de que el bálsamo salga del espacio de la muestra, este puede ser retirado con un poco de Xilol.

Anexo II. Imágenes obtenidas bajo observación directa, evidenciando la presencia de oocitos en dos de las tres especies estudiadas, además, otras ilustraciones de observación histológica.

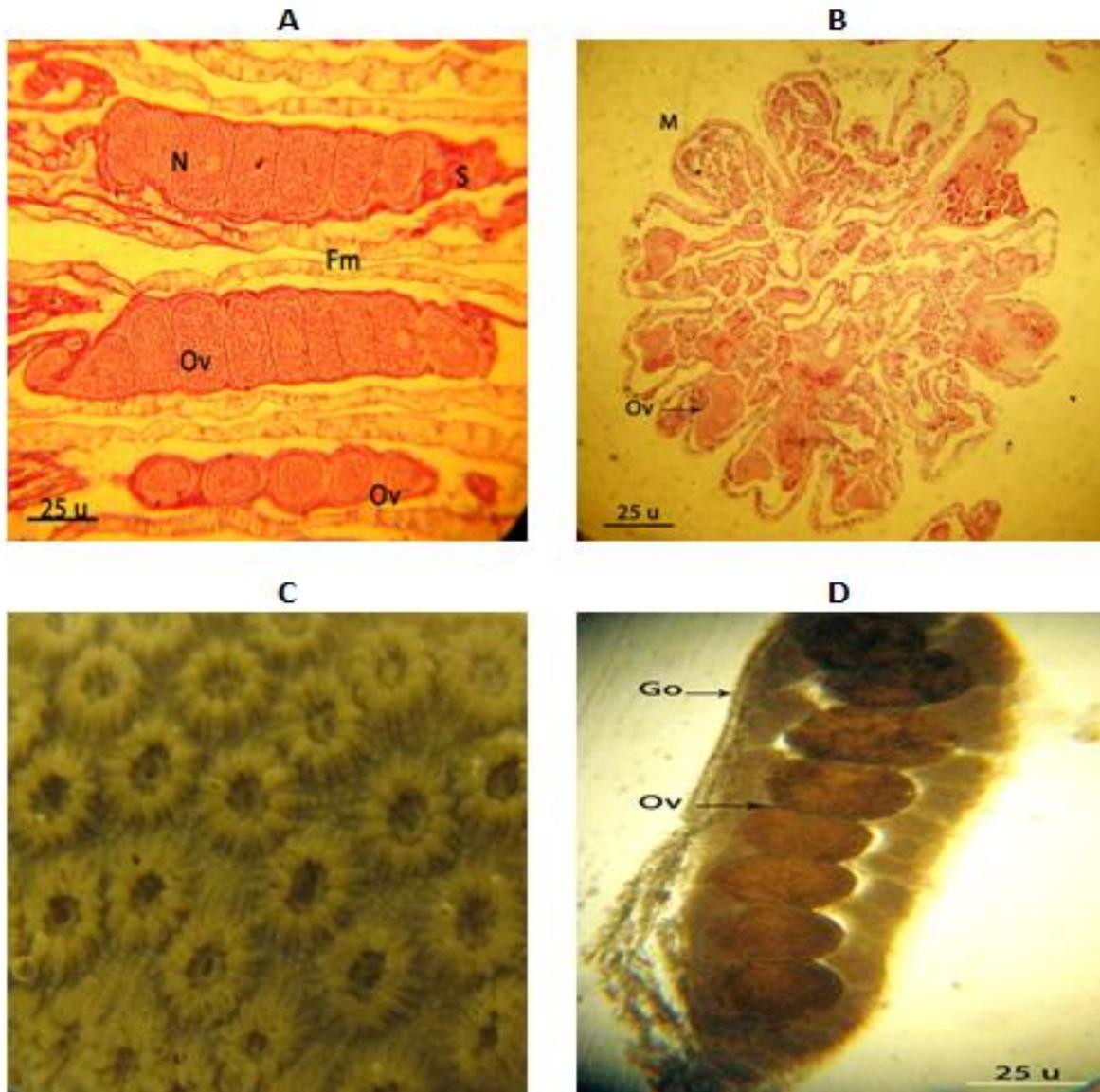


Figura 8. Imágenes de *Montastraea annularis*. **A)** Sacos con gónadas en un mismo pólipo, diferentes mesenterios y en diferentes estadios de desarrollo. **B)** Corte transversal de un pólipo, se observan oocitos, se diferencia los mesenterios. **C)** Tejido en fresco, se aprecian los pólipos, sus tentáculos y boca. **D)** Saco con gónadas en fresco. **Go** (gónada), **Ov** (oocitos), **M** (mesenterio), **S** (espermario), Fm (filamento mesentérico), N (núcleo).

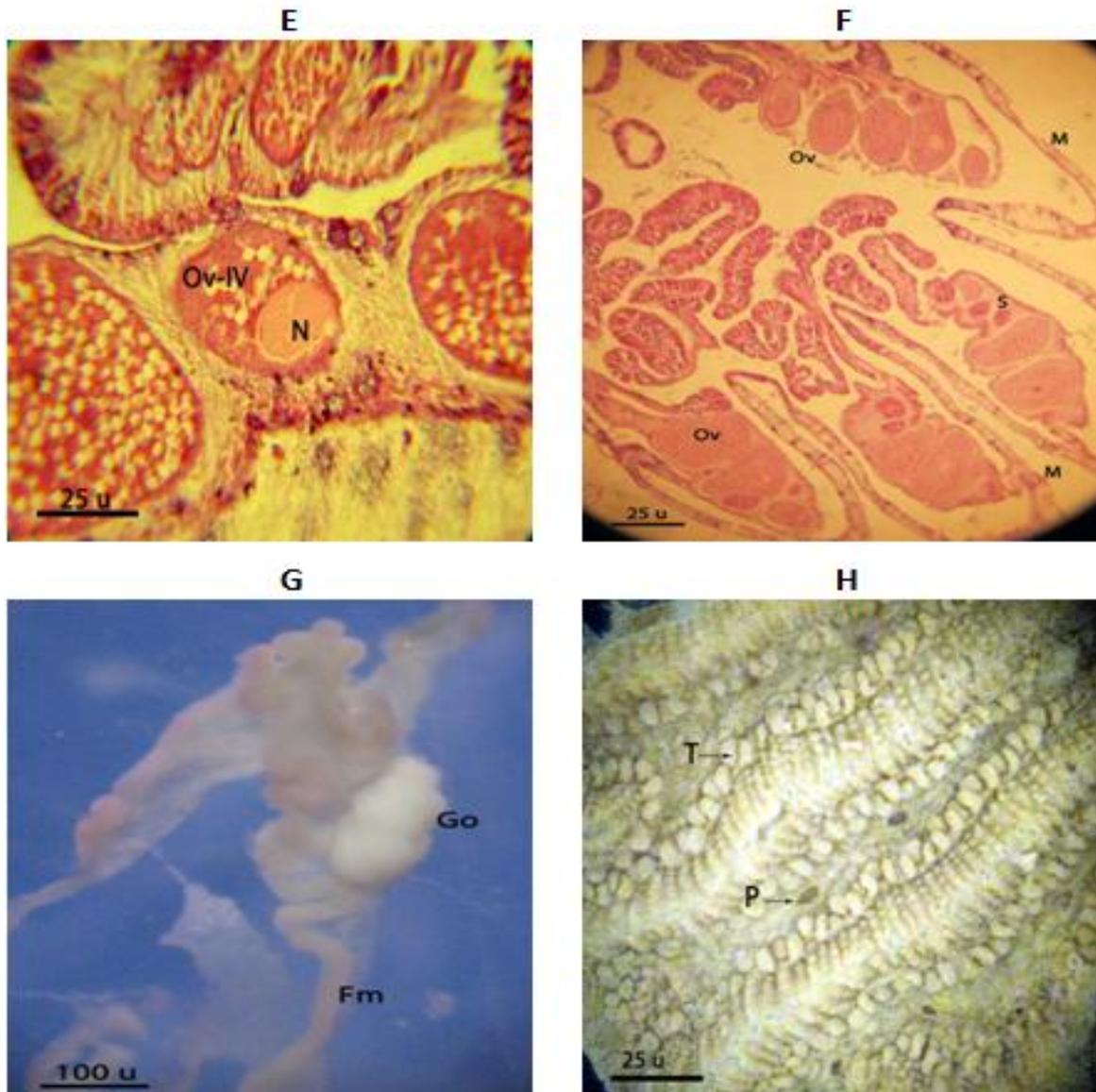


Figura 9. Imágenes de *Diploria strigosa* (E,G,H) y *M. annularis*.(F). **E)** Oocito maduro, con núcleo en un extremo. **F)** Corte longitudinal, se observan sacos con oocitos y espermatios, se diferencian los mesenterios. **G)** Gónada con gametos, adherida al filamento mesentérico. **H)** Tejido en fresco, se observan los peristomios, tentáculos y la formación de valles. **P** (peristomios), **T** (tentáculos), **Go** (gónada), **Fm** (filamento mesentérico), **M** (mesenterio), **Ov** (oocito), **N** (núcleo).

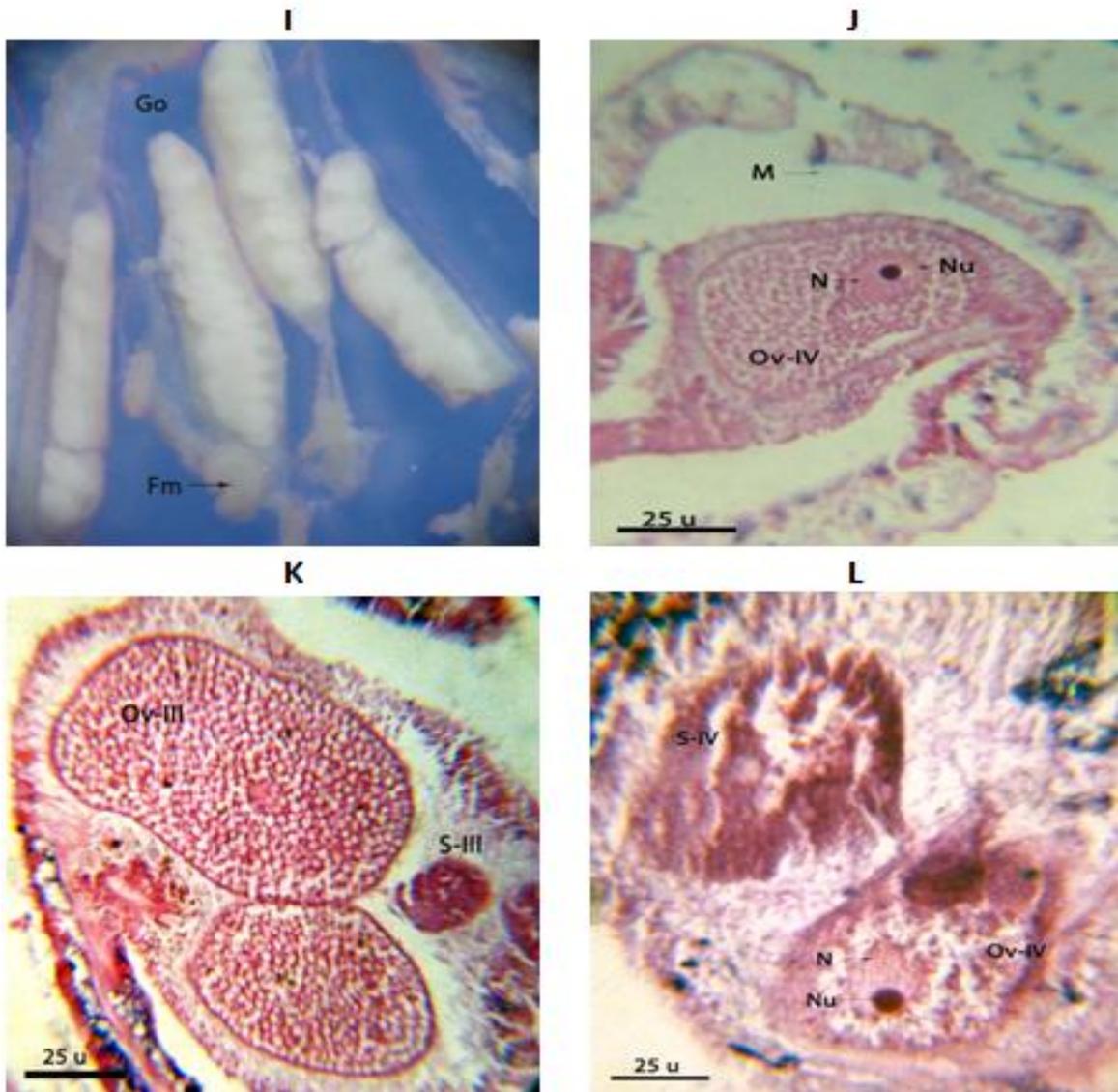


Figura 10. Otras ilustraciones. **I)** Gónadas de *M. annularis* en fresco. **J)** Oocito de *M. annularis* en estadio IV. **K)** oocitos de *M. annularis*. **L)** oocito y espermario de *D.strigosa*.

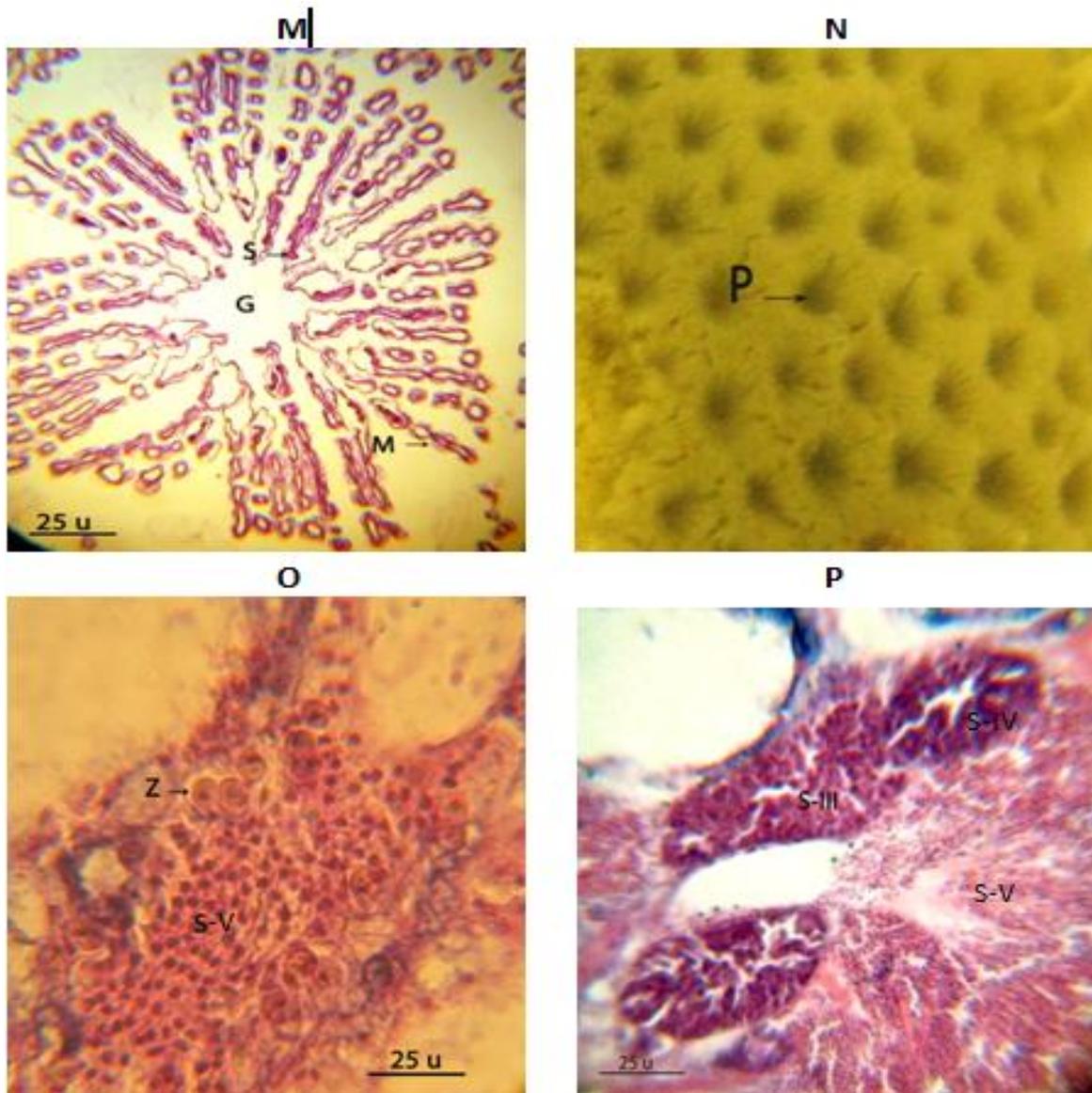


Figura 11. Imágenes de *Siderastrea siderea*. **M)** Corte transversal donde se pueden observar estructuras de reproducción masculinas y los mesenterios, además se observa la gastrodermis. **N)** tejido en fresco, disposición de pólipos. **O)** Tejido espermario en estadio V, zooxantelas. **P)** espermario en estadios III, IV, V. 40x. **Z** (Zooxantelas), **S** (Tejido espermario), **G** (cavidad Gastrica).

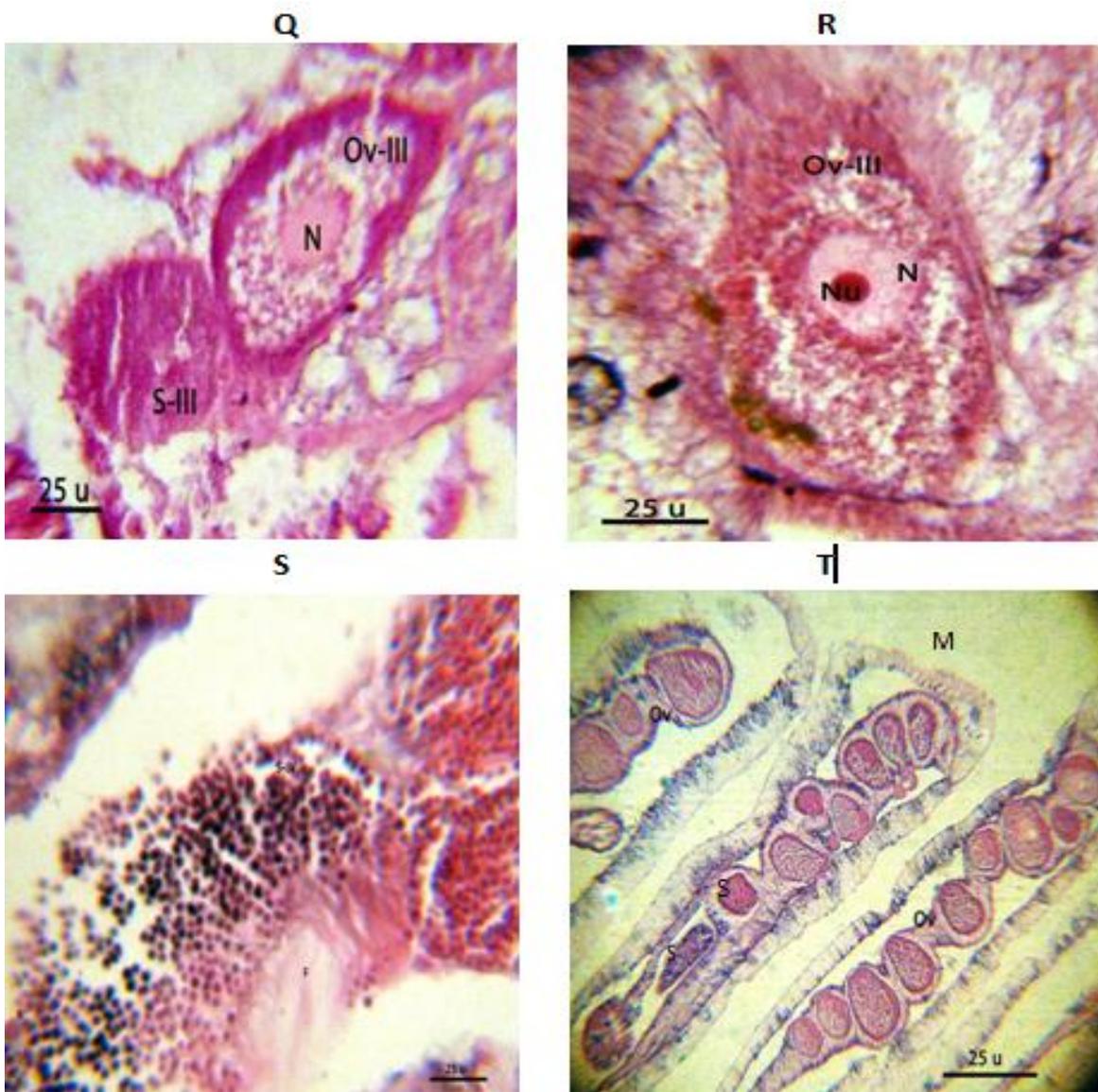


Figura 12. Q) Oocito y espermario de *D.strigosa* ambos en estadio III. **R)** oocito de *D.strigosa*. **S)** espermario de *S. siderea*. **T)** oocitos de *D. strigosa* en corte longitudinal. 40x