

20  
2Ej



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

## DINAMICA DE POBLACIONES DE ALGAS ENDOSIMBIONTES EN DOS ESPECIES DE CORALES RAMIFICADOS DEL GENERO PORITES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE BIOLÓGICA PRESENTA

NANCY CABANILLAS TERAN

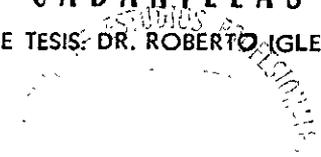
DIRECTOR DE TESIS: DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO

MEXICO, D. F.

1999



TESIS CON  
FOLIO DE ORIGEN



271386



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

*A mis padres por su singular entusiasmo, por todo el apoyo y amor que me han acompañado siempre.*

## AGRADECIMIENTOS

- A la estación Puerto Morelos del Instituto de Ciencias del mar y Limnología de la UNAM por todas las facilidades otorgadas en mi estancia y en la elaboración de este trabajo.
- A fundación UNAM por el apoyo económico brindado a través del programa de tesis de licenciatura.
- A todos los trabajadores, secretarias y técnicos de la Estación por su apoyo durante mi estancia.
- A todos mis profesores que supieron sembrar para siempre ese gran amor a la biología.
- Muy especialmente a mi director de tesis Dr. Roberto Iglesias Prieto por todo su tiempo dedicado, a la buena disposición brindada en toda ocasión y por su amigable enseñanza.
- Al Dr. Robert K. Trench por los comentarios y sugerencias a este trabajo.
- A mis Sinodales Sergio y Ricardo por las correcciones y sugerencias brindadas para la conclusión de este trabajo.
- A Álvaro Chaos Cador por su valiosa amistad, por los comentarios, las correcciones y por la ayuda en la elaboración de este trabajo.
- A Tito Livio Pérez por su ayuda en estadística.

- A Claudina Díaz Arreola por su colaboración en la edición del documento y por la amistad de toda la vida.
- A mis amiguitos Juan Carlos, Irene, chofi, Lys, Trebas, Silvia, Yuri y el Che por la amistad compartida.
- A Luz Ma. por todos los consejos y la ayuda para la terminación de este trabajo, su amistad en todo momento y por las maravillosas y divertidas anécdotas en nuestra estancia en el Caribe.
- A Surya, Grille, Marissa, Vero, Karina, Natalia, Daniel, Pilar y Karla por su apoyo y por todos los buenos momentos compartidos.
- A Daniella, Aimée, Kor y Jorge Leal por los buenos momentos y por esa gran amistad compartida en el verano del 98.
- A Mariano Fuentes Silva por el amor compartido a través de los años más felices de la carrera y por el buen sabor de su compañía en esta vida de sorpresas.
- A mis hermanos Jorge y Martha por su especial amor y apoyo. Gracias.

*Saber lo que prefieres en lugar de decir "amén"  
a lo que el mundo te condiciona a preferir  
es haber mantenido tu alma viva.*

*Robert Lewis Stevenson*

# ÍNDICE

RESUMEN .....	ii
INTRODUCCIÓN .....	1
OBJETIVO .....	7
ÁREA DE ESTUDIO .....	8
MÉTODO .....	10
RESULTADOS .....	15
Concentración de Pigmentos Fotosintéticos y Densidad Poblacional de Dinoflagelados Simbiontes .....	15
Medidas de Fluorescencia .....	18
Índice Mitótico .....	23
DISCUSIÓN .....	25
CONCLUSIONES .....	33
LITERATURA CITADA .....	34

# INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos se encuentran en aguas pobres en nutrientes de los mares tropicales (Muscatine & Porter 1977 in Falkowski *et al.* 1993) y los factores que principalmente afectan su desarrollo son la temperatura, luz y salinidad (Dawes 1986). Los corales constructores de arrecifes o hermatípicos son invertebrados marinos pertenecientes al Phylum Cnidaria, Clase Anthozoa, Orden Escleractinia (Hexacoralia). Son organismos coloniales formados por pólipos, los cuales están constituidos por tres capas de células, y básicamente son un saco contráctil coronado por tentáculos que rodean la boca. Algunos de ellos forman una asociación simbiótica con algas fotosintéticas conocidas como "zooxantelas". Los pólipos coralinos contienen un gran número de dinoflagelados simbióticos en el interior de las células que tapizan su cavidad gástrica (Goreau *et al.* 1976)

La importancia de los invertebrados, especialmente los corales, en la ecología de los arrecifes de coral se ha considerado desde que Darwin presentó su hipótesis sobre la evolución de los atolones. Sin embargo, la función de las microalgas en la ecología de los arrecifes de coral apenas comenzó a comprenderse en este siglo con los estudios de la endosimbiosis microalgal. Esta relación mutualista entre algas unicelulares e invertebrados se encuentra ampliamente distribuida en el medio marino involucrando a varios invertebrados y algas de varios grupos (Trench 1993) permitiendo a los corales desarrollarse en los ambientes oligotróficos (Muscatine & Porter 1977). Los dinoflagelados simbiotes proporcionan al hospedero fotosintetatos y el animal, a su vez, provee nutrientes y dióxido de carbono para los simbiotes a través de las vías catabólicas (Davis 1984 en Falkowski *et al.* 1993). La estimación de la diversidad de estas algas simbiotes ha sido muy ambigua ya que los simbiotes han sido descritos en muchos casos únicamente bajo la generalidad de zooxantelas (Trench 1993), hecho que ha impedido conocer claramente quiénes son los simbiotes y cuál es su diversidad (Rowan 1998). Las algas simbiotes denominadas zooxantelas incluyen miembros de las clases Bacillariophyceae, Cryptophyceae, Dinophyceae y Rhodophyceae, donde las mejor estudiadas son las que incluyen a los dinoflagelados (Rowan 1998). Los

dinoflagelados simbiotes se encuentran en por lo menos siete géneros y cuatro órdenes de invertebrados (Trench 1986 en Rowan 1998). El género *Symbiodinium* Freudenthal (1962) se encuentra en diferentes hospederos, incluyendo muchos cnidarios (aparentemente todos los corales escleractinios) y parece representar la gran mayoría de los dinoflagelados simbiotes (Rowan 1998). Las asociaciones entre los dinoflagelados fotosintéticos e invertebrados se encuentran entre las más importantes productoras primarias de los océanos oligotróficos. En los arrecifes de coral, los invertebrados simbióticos contribuyen directamente a la productividad bruta característica de ese ecosistema (Muscatine 1980), además de que contribuyen al mantenimiento y construcción de toda la estructura arrecifal (Muscatine 1980). Gran parte de ese éxito se debe a la manera en que optimizan los flujos de nutrientes.

Los corales hermatípicos ocupan los siguientes niveles tróficos (Trench 1974; Muscatine & Porter 1977):

- PRODUCTORES PRIMARIOS- Las algas simbióticas realizan fotosíntesis y fijan carbón a niveles comparables con algas de vida libre.
- CONSUMIDORES SECUNDARIOS Y TERCARIOS- Por sus hábitos heterótrofos
- DETRITÍVOROS- Cuando excavan el sustrato con sus filamentos mesenteriales.
- SAPRÓFITOS- Obtención de materia orgánica disuelta del agua de mar.

El alga simbiote obtiene protección y una amplia variedad de nutrientes a partir del coral, como fosfatos, nitratos, urea, ácido úrico, guanina y adenina, todos ellos producidos por el hospedero; las algas contribuyen a la fijación de carbón y a la translocación de fotosintetatos que puede representar más del 100% de los requerimientos metabólicos basales del animal (Muscatine & Porter 1977, Muscatine 1980), por otro lado. La simbiosis ha sido implicada en las altas tasas de depositación de carbonato de calcio (Goreau *et al.* 1976; Darke & Barnes 1993). La asociación simbiótica que se establece entre los dinoflagelados fotosintéticos y los corales es la mejor estudiada de las simbiosis entre algas e invertebrados (Trench 1992). La asociación simbiótica es un patrón que tiende a ser permanente en el ciclo

de vida de los organismos, éstos establecen un estrecho contacto físico lo que les permite ciertas interacciones fisiológicas como un movimiento unilateral o bilateral de metabolitos (translocación), efectos morfogénicos y presencia de propiedades sinérgicas, como la producción de metabolitos que no son formados por los organismos al estar separados, lo que hace que funcionen como una sola unidad evolutiva (Iglesias-Prieto & Trench 1997).

Los dinoflagelados simbioses existen en enormes densidades en el tejido del hospedero (con una alta demanda de nutrientes al estar creciendo) (Cook & D'Elia 1987). La densidad poblacional de éstos en los corales escleractinios es de 0.6 a  $8.5 \times 10^6$  cels.  $\text{cm}^{-2}$  dependiendo de la especie (Drew 1972; Dustan 1979; Porter *et al.* 1984; Mc Closkey & Muscatine 1984; Muscatine *et al.* 1989). Bajo condiciones ambientales óptimas, la densidad poblacional es usualmente estable; sin embargo, hay condiciones en donde al incrementar los nutrientes, la densidad poblacional de los simbioses puede incrementarse hasta dos veces. En otros estudios se observa que elevadas temperaturas provocan un decremento en la población (Muscatine *et al.* 1989). La falta de nutrientes puede limitar la tasa de crecimiento (producción en biomasa) de los productores primarios (Falkowski *et al.* 1993, Dubinsky *et al.* 1990) bajando los niveles del índice mitótico y las tasas de crecimiento entre hospedero y simbiote se muestran desfasadas. Por lo anterior, se deduce que el balance en el flujo de nutrientes que existe entre el hospedero y el simbiote puede ser un importante mecanismo que regula la proporción de biomasa entre ambos (Muscatine & Pool 1979). La expulsión y/o la digestión del exceso de algas simbioses llevadas a cabo por el hospedero, así como la inhibición del crecimiento ocasionada por restricción en el flujo de nutrientes esenciales suelen ser vistas como mecanismos de control poblacional de simbioses (Muscatine & Pool 1979; Falkowski *et al.* 1993). También existe un control a través de la producción de inhibidores de crecimiento denominados factor-hospedero que induce la expulsión selectiva de metabolitos de los dinoflagelados simbioses (Muscatine 1967). Este factor-hospedero es una secreción putativa coralina mediante la cual se estimula al alga para que exude fotosintetatos translocándolos hacia el animal. Muscatine (1967) y Trench (1971) sugieren que a través de esta secreción el hospedero puede controlar la disponibilidad de carbón proveniente de los dinoflagelados simbioses.

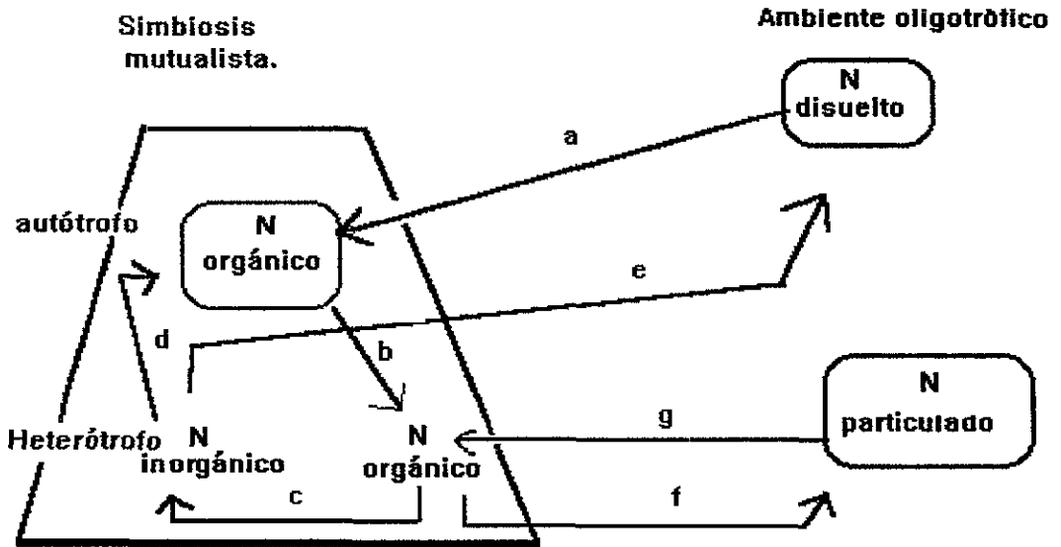
Se considera al nitrógeno como el nutriente limitante en aguas arrecifales, aunque el fósforo y otros nutrientes también pueden limitar el crecimiento en algunas zonas (Gladfelter

1985). La fotosíntesis llevada a cabo por los dinoflagelados simbióticos es un fenómeno importante para la obtención del nitrógeno disuelto en las asociaciones intactas (hospedero y simbiote presentes). El amonio que se origina del catabolismo del hospedero puede limitar el crecimiento de los dinoflagelados simbiotes (Hoegh-Guldberg *et al.* 1989 *a*) y la habilidad para incorporarlo y retenerlo es dependiente de la luz (Huppe & Turpin 1994). Se ha observado que la densidad promedio de los simbiotes se incrementa al exponer corales intactos a elevados niveles de nutrientes (Hoegh-Guldberg & Smith 1989 *a*; Muscatine *et al.* 1989). Dado que un incremento en la disponibilidad de nitrógeno resulta en una mayor densidad de simbiotes (Muscatine 1989) y que el mantenimiento de las tasas de crecimiento en simbiotes depende del nitrógeno translocado por el hospedero, se ha llegado a la conclusión de que las poblaciones naturales de simbiotes son denso-dependientes (Hoegh-Guldberg & Hinde 1986), estando aparentemente limitadas por nitrógeno (Cook & D'Elia 1987; Falkowski *et al.* 1993; Hoegh-Guldberg & Smith 1989 *b*); requiriendo, a pesar de ello, de ambientes bajos en nutrientes para mantenimiento y balance de la simbiosis (Falkowski *et al.* 1993).

De manera general la asociación simbiótica obtiene nitrógeno por la asimilación del mismo disuelto en el agua de mar, por la translocación de compuestos nitrogenados del simbiote al hospedero, por la asimilación de amonio excretado por el animal y por la asimilación de nitrógeno particulado que se encuentra en el zooplancton (figura 1).

La limitación de nitrógeno también afecta las tasas fotosintéticas (Kolber *et al.* 1988) al reducir la eficiencia de la conversión de energía fotoquímica, debido a que existe un decremento en la síntesis de proteínas asociadas con los centros de reacción de los fotosistemas I y II (Berges *et al.* 1996). Esta limitación conduce a una reducción en el número de centros de reacción del fotosistema II y en la capacidad para llevar a cabo la síntesis de proteínas, de manera que las células limitadas por nitrógeno son más susceptibles a presentar síntomas asociados con la fotoinhibición (Kolber *et al.* 1988).

En los corales ramificados la mayor parte del crecimiento tiene lugar en las puntas de las ramas (Goreau & Goreau 1959; Goreau *et al.* 1976), presentándose la mayor tasa de crecimiento en la zona apical (Fang *et al.* 1989; Goreau *et al.* 1976; Gladfelter 1982, 1985; Darke & Barnes 1993). El crecimiento de los corales se manifiesta como un aumento de la masa del



**Figura 1.** Modelo de reciclamiento de nitrógeno en una simbiosis mutualista (Modificado de Lewis & Smith 1971 en Muscatine y Porter 1977). a) Asimilación de amonio exógeno; b) Translocación de alanina, leucina y exudados glucoproteicos (Markell & Trench 1993); c) Catabolismo, formación de amonio; d) Asimilación y retención del amonio; e) Pérdida de amonio excretado; f) Pérdida de aminoácidos, mucoproteínas, larva plánula; g) Obtención a través del zooplancton.

esqueleto calcáreo que recubre al tejido vivo, dicho esqueleto está compuesto por aragonita (forma cristalina del carbonato de calcio) (Gladfelter 1982, 1985). El calcio debe pasar del agua de mar del celenterón del pólipo a través del tejido vivo antes de llegar al esqueleto, los pólipos coralinos absorben iones calcio y los transfieren mediante difusión y transporte activo hasta el sitio donde tiene lugar la calcificación (Goreau *et al.* 1976); los dinoflagelados simbiotes al utilizar el dióxido de carbono en la fotosíntesis, reducen así los niveles de ácido carbónico contribuyendo al cambio de bicarbonato de calcio a carbonato de calcio (Dawes 1986).

Se ha observado que corales ramificados presentan en su parte apical un menor grado de pigmentación con respecto a sus partes laterales. Fang *et al.* (1989) llevaron a cabo obser-

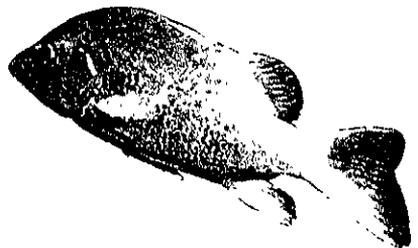
vaciones de las “puntas blancas” de las especies de coral *Acropora hyacinthus* y *A. formosa*, reportando que las muestras extraídas de las puntas blancas no contienen fotopigmentos, asimismo la cantidad de proteína total y carbón orgánico total fueron más altas en las partes laterales (pigmentadas) que en las puntas, mientras que la concentración de ATP en los pólipos de puntas fue mucho más alta con respecto a sus partes laterales. Fang *et al* (1989) proponen que el mecanismo de crecimiento rápido de una punta se puede explicar por el transporte de moléculas orgánicas de las partes laterales a las puntas, que se acelera fuertemente por el gradiente de nutrientes creado no únicamente por la producción de fotosintetatos en el lateral, sino también por el rápido consumo de metabolitos orgánicos en las puntas, ya que el rápido consumo de material genera más ATP. Pearse y Muscatine (1971) en Fang *et al* (1989) sugieren que la calcificación en las puntas “sin” dinoflagelados simbiotes para el coral *Acropora cervicornis* se aumentó por la fotosíntesis de las algas simbiotes de la zona lateral de la colonia de coral (Soong & Lang 1992).

Al existir esta demanda de nitrógeno en la zona de crecimiento (puntas blancas), se cambia el balance en el flujo de nutrientes respecto a las partes que no están creciendo (partes laterales), lo que permite estudiar las poblaciones de simbiotes en zonas de alta y baja demanda de nutrientes en una misma colonia de coral. El crecimiento de la población de endosimbiontes se muestra desfasado con respecto al crecimiento del hospedero y esto puede ser descrito bajo el modelo de Hallock (1981), el cual incorpora las eficiencias ecológicas y los beneficios obtenidos de la simbiosis, tanto por el hospedero, como por el simbiote en un ambiente oligotrófico.

Dado que los corales *P. porites* y *P. divaricata* presentan la zona de puntas con menor grado de pigmentación respecto a las zonas laterales de la colonia y considerando que el crecimiento en este tipo de corales se realiza en la punta de la colonia, misma que presenta una mayor demanda energética al estar creciendo. Es de suponer la existencia de diferencias en términos de la densidad poblacional de simbiotes, la concentración de pigmentos fotosintéticos por unidad de área, la eficiencia fotosintética en la separación de cargas del aparato fotosintético y del porcentaje de división mitótica de los dinoflagelados simbiotes en ambas zonas de la colonia.

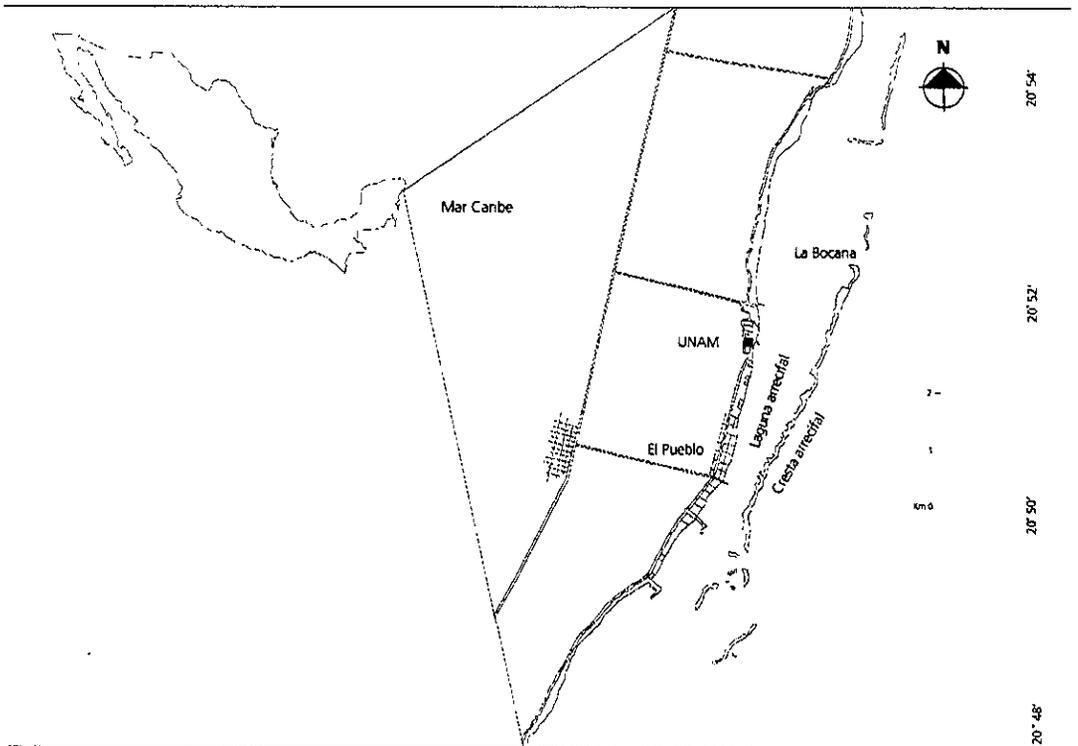
## OBJETIVO

- Este trabajo tiene como propósito evaluar comparativamente la concentración de clorofila *a* por célula de simbionte, el número de simbiontes por unidad de área, el cociente  $F_v/F_m$  y el índice mitótico en los dinoflagelados simbiontes de las especies de coral *Porites porites* y *P. divaricata* y analizar la relación de estos parámetros con las diferencias entre las dos zonas de crecimiento diferencial: puntas y partes laterales de las colonias de coral.



## ÁREA DE ESTUDIO

**E**l trabajo se realizó en Puerto Morelos, Quintana Roo, este sitio forma parte de la barrera arrecifal Maya que se presenta a lo largo de la costa del Caribe, desde punta Nizuc hasta Honduras. Está localizado a 20°48' latitud norte y 86°52' longitud oeste en el noreste de la península de Yucatán (figura 2).



**Figura 2.** Mapa de localización del área de estudio, Sistema Arrecifal de Puerto Morelos, Quintana Roo.

El arrecife de Puerto Morelos es considerado un sistema arrecifal de barrera, debido a que su desarrollo es paralelo a la línea de costa y se encuentra separado de ésta por la laguna (Jordan et al. 1981). El arrecife ha sido dividido en cuatro zonas principales: laguna, arrecife posterior, cresta y arrecife frontal, basándose en las características topográficas, en la composición específica de hexacorales y octacorales y en la acción de las olas (Jordan 1981). Estas zonas tienen características físicas y biológicas diferentes, siendo el arrecife (frontal, cresta y posterior) el más diferente entre sí comparado con la laguna. La rompiente arrecifal se caracteriza por una gran energía del oleaje y por crecimientos abundantes de hidrocorales *Millepora complanata* (Lamarck) y *M. alcicornis* (Linnaeus). La laguna arrecifal es el área que se encuentra entre la playa y la formación del arrecife. La amplitud de ésta varía alcanzando una distancia de 1.5 km. a la altura de la estación del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (ICMyL), UNAM y de unas centenas de metros a la altura del pueblo de Puerto Morelos. El clima es de tipo Awi (X1) (i1)g cálido húmedo con lluvias en verano (Köppen, modificado de García 1964), temperatura con una media anual mayor de 22°C y con una temperatura media del mes más frío mayor a 18°C (Jordan et al. 1979), la precipitación anual es de 1,100-1,300 mm. con lluvias distribuidas irregularmente durante el año.

# MÉTODO

## Colecta y Manejo de Corales

**S**e colectaron al azar 20 colonias del coral *Porites divaricata* (Lesueur 1820) de la laguna arrecifal de Puerto Morelos a 2.5 m. de profundidad utilizando equipo de buceo libre y 17 colonias del coral *P. porites* (Link 1807) de la bocana del arrecife de Puerto Morelos a 5m. de profundidad utilizando equipo de buceo autónomo y libre indistintamente. Los corales se transportaban inmediatamente al laboratorio en agua de mar a temperatura ambiente para mantenerlos sanos el mayor tiempo posible.

## Aislamiento de Simbiontes Algales del Tejido del Hospedero

Muestras de *P. divaricata* y *P. porites* se lavaron con agua de mar filtrada (Millipore 0.45 mm) para separar los restos de arena y/o algas de la superficie. Para realizar de manera independiente las mediciones de las partes apicales (puntas) del resto del coral (partes laterales), se utilizó una cubierta de látex y una liga, una vez dividida cada zona, el tejido se separó del esqueleto con la ayuda de una pistola de agua a presión Water-Pick®, después la mezcla del tejido y agua de mar filtrada se colectó en bolsas de plástico (Johanes & Wiebe 1970). La muestra se centrifugó a 6000 gravedades en una centrifuga Marathon 22KBR o a 1500 rpm en una centrífuga clínica, el sobrenadante conteniendo tejido animal era desechado. El precipitado que contenía algas a distintos grados de aislamiento, fue resuspendido en agua de mar filtrada y colocado en un homogenizador de tejidos para aislar completamente los restos de tejido animal. Este procedimiento se llevó a cabo hasta obtener una muestra limpia de restos del coral y de esta manera proceder al conteo de células en el microscopio. Una vez separadas las células simbiontes del hospedero se realizaron mediciones de la concentración de clorofila *a* por célula, del número de células por unidad de área, de la fluorescencia de la clorofila *a* y del índice mitótico.

Para la determinación de la densidad poblacional de los dinoflagelados simbiontes se realizaron seis conteos en el hemocitómetro para cada muestra, tanto de las áreas de puntas como de las áreas laterales en un microscopio óptico (40X).

El área ocupada por tejido vivo de las partes laterales se calculó considerando la sección del coral como un cilindro y a las puntas considerándolo como media esfera, de esta forma se obtuvo el número de células por unidad de área del coral.

### **Cuantificación de Pigmentos Fotosintéticos**

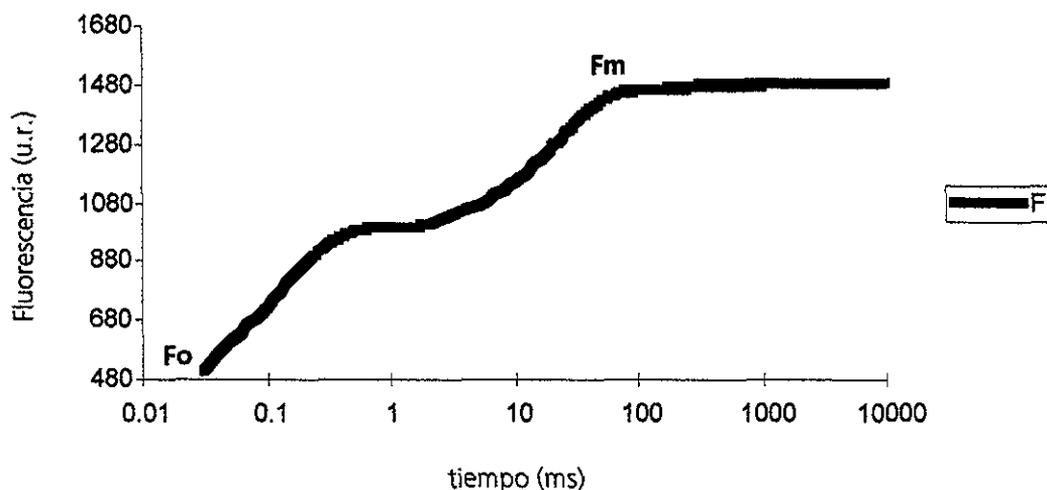
Los pigmentos fotosintéticos de clorofila *a* se extrajeron utilizando la técnica en acetona y dimetil sulfóxido (DMSO) (90:10, v: v), como se describe en Iglesias-Prieto *et al.* (1992). Las muestras de simbiontes aislados se centrifugaron (5 minutos a 1500 rpm), el precipitado fue resuspendido en 9 ml de acetona y centrifugado por 3 minutos en una centrífuga clínica; el sobrenadante fue apartado. El precipitado fue resuspendido en 0.025 ml de DMSO y mezclado vigorosamente por 50 segundos con un agitador Vortex. El sobrenadante con acetona fue adicionado a la muestra con DMSO. Finalmente la muestra fue clarificada por centrifugación. Esta operación fue repetida 2 ó 3 veces hasta obtener un precipitado blanco. Posteriormente se determinó la absorbancia a 725, 663 y 630 nm. con un espectrofotómetro Beckman (modelo 35); con estos datos se obtuvo la concentración de clorofila *a* utilizando las ecuaciones de Jeffrey & Humphrey (1975). A partir del número de células para cada muestra, se obtuvieron los valores de la concentración de clorofila *a* por célula.

### **Mediciones de Fluorescencia**

Las mediciones se realizaron utilizando un fluorómetro PEA (analizador de la eficiencia fotosintética) por sus siglas en inglés Hansatech, el cual consta de un arreglo de 6 diodos emisores de luz con emisión máxima a 650 nm. liberando 600 watts  $\cdot$  m<sup>2</sup> y un fotodiodo con un filtro que captura automáticamente la fluorescencia de la clorofila *a*, de esta manera se obtuvieron los valores del cociente Fv/Fm (figura A) de los simbiontes de *P. divaricata* y *P. porites*. El tiempo de excitación fue de 2 segundos para cada medición.

### **Colonias Intactas**

Para la obtención de los valores de Fv/Fm en puntas y partes laterales de los corales intactos, las muestras se colocaron en un contenedor para transportarlas a un cuarto oscuro con el fin de



**Figura A.** Curva de fluorescencia; Fm= fluorescencia máxima (centros de reacción cerrados); Fo= fluorescencia cero (centros de reacción abiertos). La fluorescencia variable (Fv) se obtiene de  $Fv = Fm - Fo$  y es la proporción de centros reacción cerrados / centros de reacción abiertos.

relajar los centros de reacción (centros de reacción abiertos) y de esta manera inducir un máximo en la cosecha de la fluorescencia. Para las mediciones de las zonas de puntas se colocaba el detector de fluorescencia justo en la parte apical, donde éste cubría los primeros 0.6-1.5 mm del coral; para las mediciones de las zonas laterales, el detector se colocaba en una parte del brazo del coral donde éste tuviera la máxima estabilidad al momento de la medición. Si alguna muestra era movida en el momento de ser medida, ese valor no era considerado y se procedía a medir otra parte del coral. Después de estas mediciones, las colonias de coral se regresaron al mar en otra zona para evitar coleccionar las mismas en muestreos posteriores. Se realizaron 302 mediciones para puntas y 336 mediciones para laterales.

### Simbiontes Aislados

Una vez separadas las células simbiontes del hospedero, se hicieron conteos de células con hemocitómetro para igualar la concentración de simbiontes en las puntas y en las partes

laterales, con el fin de eliminar las diferencias en la densidad poblacional. La concentración celular con la que se trabajó fue aproximadamente de  $3 \times 10^6$  células por mililitro para todas las muestras. Previo a las mediciones de Fv/Fm, las células se adaptaron a la oscuridad por un tiempo de cinco minutos. Posteriormente 300  $\mu$ L de la muestra, conteniendo aproximadamente un millón de células, se colocaron en un vial que se introdujo dentro de un cilindro de acrílico opaco acoplado al detector del fluorómetro, lo que permitió que las células fueran excitadas y la fluorescencia detectada por la parte inferior del vial.

### Índice Mitótico (IM)

Se realizaron mediciones del índice mitótico (proporción de células en división) en ocho muestras de 170 células algales, tanto para las áreas de puntas, como para las partes laterales. Para conocer la parte del coral que presentaba un mayor porcentaje de células en división, se procedió a hacer cortes al microtomo de 5 $\mu$  de grosor utilizando un microtomo tipo Swift. Con los cortes de coral se estableció un gradiente del índice mitótico a través del brazo del coral desde la punta hacia la base de la colonia. Para llevar a cabo esto, muestras de *P. divaricata* fueron colocadas durante 4 horas en una solución de agua de mar con tabaco para evitar que los pólipos se contrajeran, las muestras se fijaron en una solución de agua de mar y formol al 10% durante 24 horas, después las muestras se descalcificaron en una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 10% durante 24 horas (Padilla *com per.*), posteriormente se lavaron con agua desionizada y deshidratadas secuencialmente con alcohol al 30%, 50%, 70%, 88% 95% y 100%. Una vez descalcificadas, las secciones de coral fueron incluidas en parafina para realizar los cortes de 5 $\mu$ , éstos fueron colocados en portaobjetos (15 cortes en promedio por cada portaobjeto) y se lavaron con xilol para eliminar la parafina. Finalmente fueron teñidos con lugol y una vez teñidas las células, se realizaron conteos en el microscopio de células dividiéndose de 101 cortes en una sección de 3.5 mm. del coral, donde 1.8 mm abarcaban la zona de la punta (zona más clara).

El área de cada corte fue considerada como una elipse y se realizaron conteos celulares en 14 cortes de la punta hacia la base de la colonia de coral. De esta manera se obtuvieron valores del número de células por unidad de área para esos cortes de coral.

## **Análisis de Datos**

Los valores de la concentración de clorofila a por célula, del número de células por unidad de área, del cociente  $F_v/F_m$  y del índice mitótico se analizaron mediante la utilización del programa Statistica aplicando una prueba t de Student para muestras independientes y una prueba f de Fisher de dos vías.

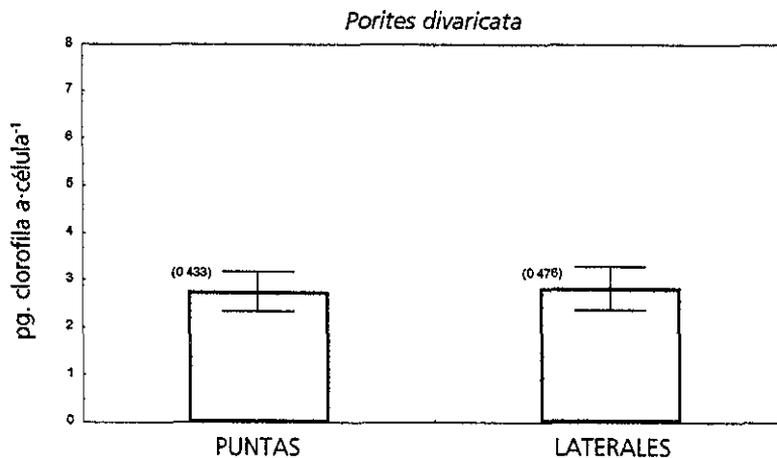
# RESULTADOS

## Concentración de Pigmentos Fotosintéticos y Densidad Poblacional de Simbiontes

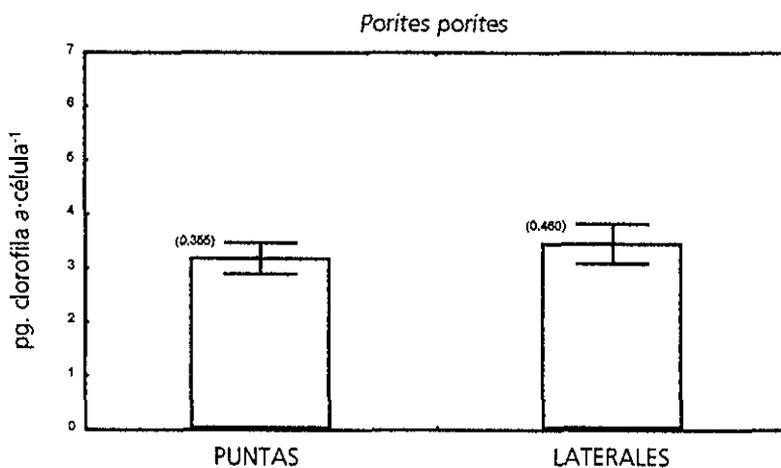
**S**e obtuvieron los valores de la concentración de clorofila *a* por célula y del número de células por unidad de área para ambas especies de coral. La finalidad de estas mediciones fue cuantificar las diferencias en términos de la densidad poblacional de los dinoflagelados simbiontes de las dos zonas del coral, así como determinar si existían diferencias en la concentración de pigmentos fotosintéticos en las mismas zonas.

De manera general, se observó que los valores de la concentración de clorofila *a* por célula de las puntas y las partes laterales, para ambas especies no mostraron diferencias significativas  $P > 0.05$ . Utilizando una prueba *t* de Student, las medias obtenidas fueron de 2.759 pg clorofila *a* · cel<sup>-1</sup> en las puntas y 2.831 pg clorofila *a* · cel<sup>-1</sup> en las partes laterales para *P. divaricata* y 3.179 pg clorofila *a* · cel<sup>-1</sup> en las puntas y 3.459 pg clorofila *a* · cel<sup>-1</sup> en las partes laterales para *P. porites* indicando que la concentración de pigmentos fotosintéticos se mantiene constante entre las puntas y las partes laterales del coral, en las figuras 3 y 4 se observa claramente que las medias no presentan diferencias notables entre sí.

Sin embargo, al comparar la densidad de simbiontes, se observa que existe una clara diferencia para ambas zonas, presentándose valores significativamente menores en las zonas de puntas que en las zonas laterales tanto en *P. divaricata* como en *P. porites* (figuras 5 y 6). Las medias obtenidas fueron de  $1.487 \times 10^6$  células · cm<sup>-2</sup> en las puntas y  $2.591 \times 10^6$  células · cm<sup>-2</sup> en las partes laterales ( $p < 0.05$ ) para *P. divaricata* y  $3.235 \times 10^6$  células · cm<sup>-2</sup> en las puntas y  $5.328 \times 10^6$  células · cm<sup>-2</sup> en las partes laterales ( $p < 0.05$ ) para *P. porites*. Estos valores sugieren que existe una diferencia poblacional de los simbiontes que viven en las partes apicales (cuadro 1).



**Figura 3.** Valores de la concentración de clorofila a por célula encontrados en puntas y laterales de *Porites divaricata*. Los números entre paréntesis representan el error estándar de la media de 13 replicados para cada zona de del coral.



**Figura 4.** Valores de la concentración de clorofila a por célula encontrados en puntas y laterales de *Porites porites*. Los números entre paréntesis representan el error estándar de la media de 9 replicados para cada zona de del coral.

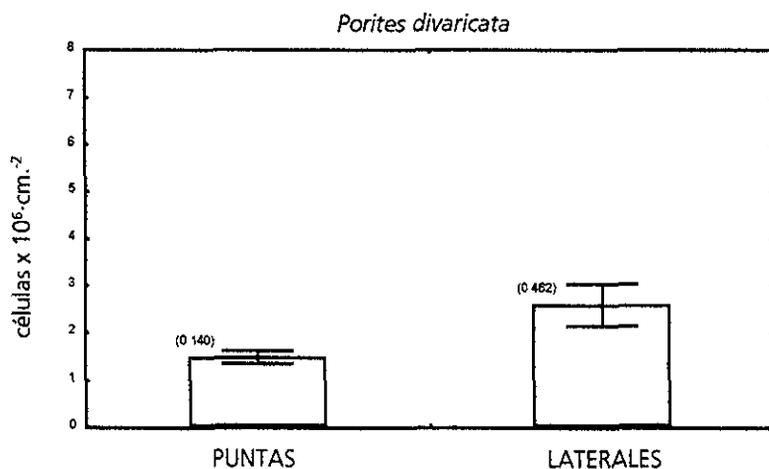


Figura 5. Diferencias en la densidad poblacional entre las puntas y las zonas laterales de *Porites divaricata*. Los números entre paréntesis representan el error estándar de la media de 13 replicados para cada zona del coral.

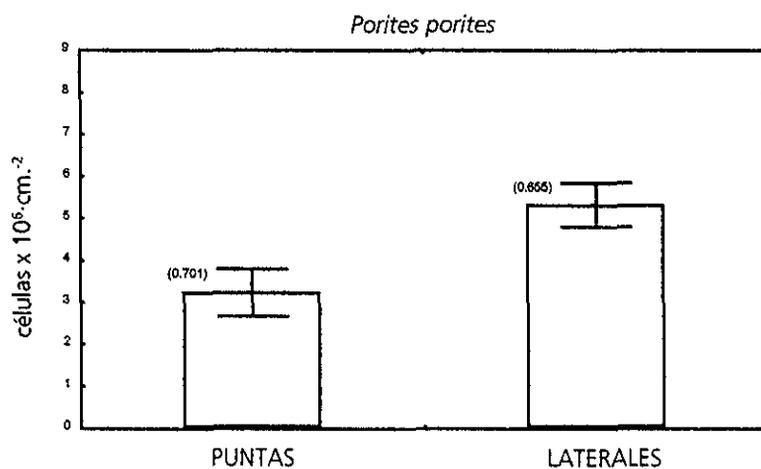


Figura 6. Diferencias en la densidad poblacional entre las puntas y las zonas laterales de *Porites porites*. Los números entre paréntesis representan el error estándar de la media de 9 replicados para cada zona del coral.

**Cuadro 1.** *P. porites* y *P. divaricata*. Medias obtenidas del número de células por unidad de área y concentración de clorofila *a* por célula, los valores de *p* se obtuvieron utilizando una prueba de *t* de Student y una prueba *U* de Mann-Witney.

Especie	Densidad (1x10 <sup>6</sup> células · cm <sup>-2</sup> )		Conc. Pigmentos (pg. clorofila <i>a</i> · célula <sup>-1</sup> )		
<i>Porites divaricata</i>	punta	1.487	<i>p</i> < 0.05	2.759	<i>p</i> > 0.05
	lateral	2.591		2.831	
<i>Porites porites</i>	punta	3.235	<i>p</i> < 0.05	3.179	<i>p</i> > 0.05
	lateral	5.328		3.459	

#### Mediciones de Fv/Fm en Corales Intactos

Se obtuvieron valores del cociente Fv/Fm para las zonas de puntas y laterales de las colonias de los corales *P. porites* y *P. divaricata* con el fin de reconocer si existía diferencia en la eficiencia de la separación de cargas del Fotosistema II en ambas zonas del coral, de esta manera se contó con un indicador de la condición fisiológica de los simbiontes lo que permitió correlacionar los valores observados en este parámetro con los obtenidos de la concentración de pigmentos fotosintéticos y los de densidad poblacional de simbiontes, con el fin de obtener mayor información acerca de la condición biológica de los simbiontes en las puntas y las partes laterales del coral.

Las diferencias de la cosecha cuántica se compararon aplicando un análisis de varianza utilizando una prueba *f* de Fisher. Los valores del cociente Fv/Fm fueron significativamente diferentes (*p* < 0.0001) en función de la posición punta y lateral; las medias fueron de 0.612 en las puntas y 0.690 en las partes laterales para *P. porites*; y 0.550 en las puntas y 0.597 en las partes laterales para *P. divaricata* (cuadro 2).

Los resultados muestran que para ambas especies de coral hay evidencia suficiente para decir que los valores de la eficiencia en la separación de cargas del fotosistema II de los

dinoflagelados simbióticos son distintos entre las puntas y las partes laterales (cuadro 2). Sin embargo, independientemente de esto, existen también diferencias entre las colonias (cuadro 3) aunque estas diferencias son menos pronunciadas que las que se presentan entre las dos zonas del coral.

**Cuadro 2.** *P. porites* y *P. divaricata*. Medias obtenidas de la comparación de Fv/Fm entre puntas y laterales en colonias intactas. EEM (error estándar de la media). Los valores de p se obtuvieron mediante una prueba f de Fisher

<i>Porites divaricata</i>	medias(Fv/Fm)	EEM	n	p
puntas	0.550	0.006	138	< 0.0001
laterales	0.597	0.004	169	
<i>Porites porites</i>				
puntas	0.612	0.005	164	< 0.0001
laterales	0.690	0.003	167	

**Cuadro 3.** *P. porites* y *P. divaricata*. Valores de p obtenidos de Fv/Fm en colonias intactas utilizando una prueba f de Fisher.

Efectos	<i>P. porites</i>	<i>P. divaricata</i>
Puntas y laterales	$4.372 \times 10^{-26}$	$2.036 \times 10^{-13}$
Colonias	$3.535 \times 10^{-7}$	$3.208 \times 10^{-14}$

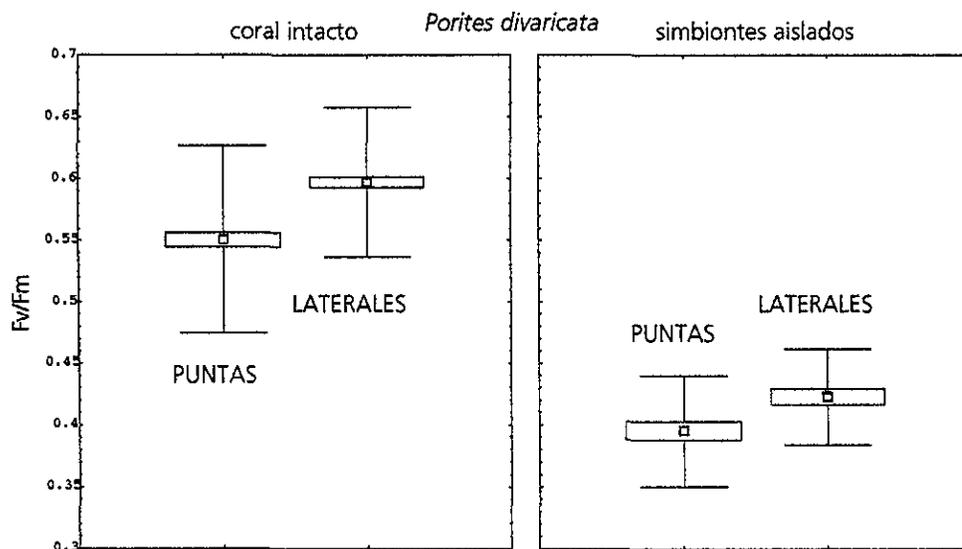
### Mediciones de Fv/Fm en Simbiontes Aislados

Por otro lado se hicieron mediciones del cociente Fv/Fm en simbiontes aislados de las puntas y las partes laterales. Se calcularon las diferencias de la cosecha cuántica de las zonas de puntas y laterales del coral igualando la concentración celular en ambas zonas, tomando números iguales de células para cada una de las muestras. Las diferencias de la cosecha cuántica se compararon aplicando un análisis de varianza utilizando una prueba f de Fisher. Los valores entre las puntas y las partes laterales mostraron diferencias significativas ( $p < 0.0001$ ) para ambas especies de coral. Las medias fueron de 0.521 en las puntas y 0.630 en las partes laterales para *P. porites* y 0.395 en las puntas y 0.422 para las partes laterales en *P. divaricata* (cuadro 4).

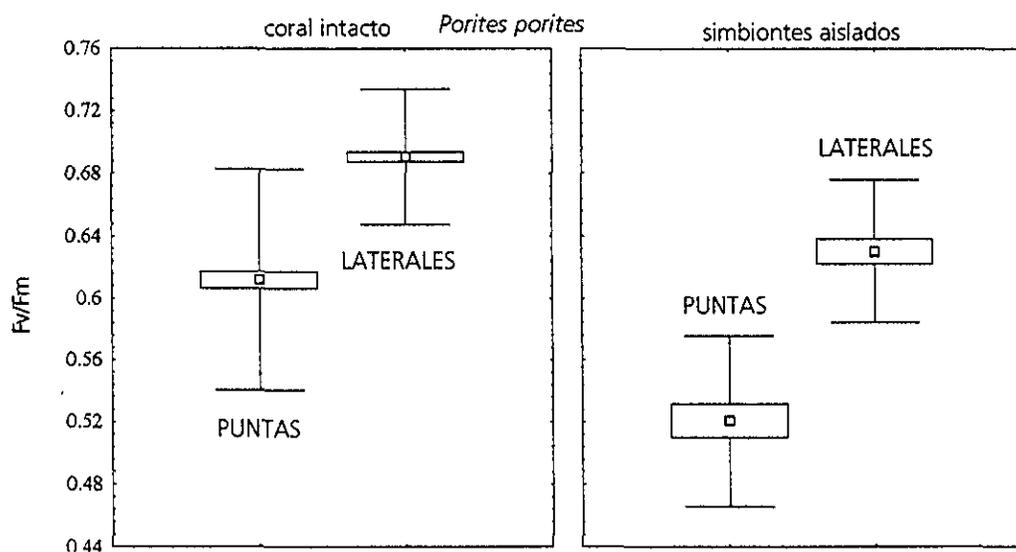
Para ambas especies de coral los valores de Fv/Fm son diferentes entre las puntas y las partes laterales, de la misma manera que en los corales intactos (figuras 7 y 8), encontrándose también diferencias significativas en los valores de Fv/Fm de las diferentes colonias

**Cuadro 4.** *P. porites* y *P. divaricata*. Valores de Fv/Fm que muestran las diferencias entre puntas y laterales de simbiontes aislados. Los valores de p se obtuvieron mediante una prueba f de Fisher.

<i>Porites divaricata</i>	medias (Fv/Fm)	EEM	n	p
puntas	0.395	0.007	32	< 0.0001
laterales	0.422	0.006	32	
<i>Porites porites</i>				
puntas	0.521	0.011	32	< 0.0001
laterales	0.630	0.008	32	



**Figura 7.** *Porites divaricata*. Desviación estándar, media y error estándar de la media de los valores de  $F_v/F_m$  de las puntas y las partes laterales en corales intactos y en simbiontes aislados.



**Figura 8.** *Porites porites*. Desviación estándar, media y error estándar de la media de los valores de valores de  $F_v/F_m$  de las puntas y las partes laterales en corales intactos y en simbiontes aislados.

$p < 0.0001$  (cuadro 5). De lo anterior se deduce que el aparato fotosintético de las poblaciones de endosimbiontes en las puntas presenta daño.

También se utilizó una prueba de  $f$  de Fisher para comprobar si existían diferencias entre los valores de  $F_v/F_m$  medidos en simbiontes aislados y los medidos en las colonias intactas (cuadro 6). Estas observaciones indicaron que las mediciones de la cosecha cuántica presentan una diferencia significativa entre las puntas y las partes laterales del coral y esta diferencia se mantiene para ambos casos.

**Cuadro 5.** *P. porites* y *P. divaricata*. Valores de  $p$  obtenidos de  $F_v/F_m$  en simbiontes aislados utilizando una prueba  $f$  de Fisher.

Efectos	<i>P. porites</i>	<i>P. divaricata</i>
Puntas y laterales	$3.104 \times 10^{-19}$	$2.402 \times 10^{-6}$
Colonias	$3.852 \times 10^{-14}$	$1.036 \times 10^{-16}$

**Cuadro 6.** *P. porites* y *P. divaricata*. Valores de  $p$  obtenidos de  $F_v/F_m$  en simbiontes aislados y colonias intactas utilizando una prueba  $f$  de Fisher 1-coral intacto y simbiontes aislados, 2-puntas y laterales.

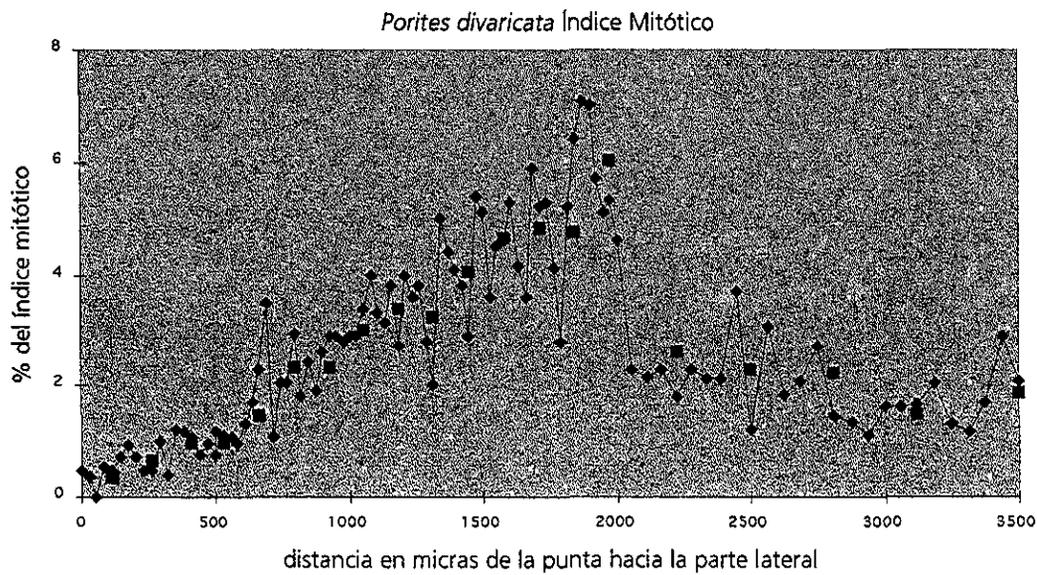
Efectos	<i>P. porites</i>	<i>P. divaricata</i>
1	$1.980 \times 10^{-17}$	0.000
2	$5.837 \times 10^{-25}$	$3.604 \times 10^{-5}$
1-2	0.070	0.281

### Índices Mitóticos

Los análisis del índice mitótico de simbiontes aislados muestran claramente que la zona de las puntas presentó el mayor porcentaje de células dividiéndose en relación a sus partes laterales (cuadro 7). Obteniendo un porcentaje mayor de 1.86% para la zona de las puntas y un porcentaje menor de 0.50% en la zona de las partes laterales, con una media de 1.75% para la zona de las puntas y de 0.60% para la zona de las partes laterales. Hallando una diferencia significativa ( $p < 0.05$ ) utilizando una prueba t de Student. Asimismo los resultados obtenidos mediante la serie de secciones de coral permitieron una observación más detallada, con este método se pudo obtener un gradiente de división celular a través de la distancia desde la punta hacia la base del coral (figura 9), observándose que el mayor porcentaje de división celular se encontró en la zona de transición punta-lateral.

**Cuadro 7.** Índices Mitóticos de *Porites divaricata* utilizando una prueba de t de Student.

Colonia	Puntas		Laterales
1	1.84%		0.65%
2	1.86%		0.50%
3	1.75%		0.67%
4	1.48%		0.62%
5	1.80%		0.58%
	prom 1.74%	( $p < 0.05$ )	0.604%
	EEM 0.069		0.030



**Figura 9.** Índice mitótico de *Porites divaricata*.

## DISCUSIÓN

La concentración celular de clorofila *a* por célula entre las puntas y las partes laterales de los corales *P. porites* y *P. divaricata* mostró que los dinoflagelados simbiotes no presentan diferencias significativas. Los valores para ambas especies se encuentran dentro de los intervalos reportados por otros autores (cuadro 8).

**Cuadro 8.** Valores de la concentración de clorofila *a* por célula en dinoflagelados simbiotes reportados en la literatura.

pg clorofila <i>a</i> · cel <sup>-1</sup>	Referencia
2.94-3.38	Dustan (1979)
2.87-8.47	Porter (1984)
4.80-9.80	Titlyanov <i>et al.</i> (1980)
2.98-12.97	Porter <i>et al.</i> (1984)
0.922-6.855	Presente trabajo

La concentración de clorofila *a* por célula generalmente es evaluada en términos de la cantidad de luz que incide sobre el área fotosintética. Las modificaciones en los contenidos y proporciones de los pigmentos fotosintéticos resultan de diferentes mecanismos de aclimatación a las condiciones lumínicas. Iglesias-Prieto & Trench (1994) mencionan que la estratificación que se presenta en la distribución de los corales a través de un gradiente de profundidad puede ser el resultado de la evolución y adaptación de los simbiotes a particulares regímenes lumínicos y los intervalos de distribución vertical en asociaciones simbióticas individuales son el resultado de las habilidades de sus simbiotes. Ellos analizaron las respuestas fotosintéticas de tres especies de *Symbiodinium* bajo dos diferentes regímenes lumínicos (luz saturante y luz subsaturante) y distinguieron que las células expuestas a luz

subsaturante presentan significativamente una mayor concentración celular de pigmentos fotosintéticos que cuando son expuestas a luz saturante. Con base en los resultados de ese trabajo, que a su vez son consistentes con otros (Dustan 1979, Titlyanov 1991; Wethey & Porter 1976); podemos decir que el ambiente en que viven *P. porites* y *P. divaricata* no presenta diferentes regímenes lumínicos y las diferencias en el grado de pigmentación de la colonia no se deben a alguna variación de la concentración de la clorofila *a* por célula por lo que no se presenta ningún tipo de respuesta de fotoaclimatación entre las puntas y las partes laterales de coral.

Los valores de densidad simbioses para ambas especies se encuentran dentro de los intervalos reportados en la literatura para otros corales escleractinios y la variación del número de células por unidad de área entre las puntas y las partes laterales también es consistente con los valores encontrados en la literatura (cuadro 9)

**Cuadro 9.** Valores de las densidades del número de dinoflagelados simbioses por unidad de área reportados en la literatura.

células x 10 <sup>6</sup> · Cm <sup>-2</sup>	Referencia
0.5-1.0	Hoegh-Guldberg y Smith (1989)
1.0-2.0	Muscatine et al. (1989)
3.0	Szmant-Froelich y Pilson (1984)
0.6-8.5	Porter (1984)
órdenes de 1	Gladfelter (1985)
1.71-7.59	Iglesias (1994)
0.8-8.0	Presente trabajo

Se encontró una clara diferencia en la densidad poblacional entre los dinoflagelados simbioses que se encuentran en las puntas respecto a las zonas laterales tanto en *P. porites* como en *P. divaricata*. Muscatine et al. (1989) mencionan que cuando las condiciones ambientales son favorables, la densidad poblacional de los simbioses es generalmente constan-

te. En este sentido, es de suponerse que tanto la zona apical como la zona lateral del coral están siendo influidas por las mismas condiciones ambientales externas, por lo que en este caso se puede descartar la idea de que el ambiente (externo) esté influyendo de manera diferencial sobre ambas zonas de la colonia. El hecho es que existe un factor que está modificando la población de endosimbiontes manifestándose como una menor densidad poblacional de éstos en el área de puntas en relación a las zonas laterales, lo que nos lleva a considerar que tal vez sea el resultado de un ambiente interno distinto. Estudios como los de Dubinsky *et al.* (1990), Cook *et al.* (1987), Falkowski *et al.* (1993) sugieren que la escasez de nutrientes puede limitar la tasa de crecimiento de los productores primarios. El reciclamiento de nutrientes internos juega un papel importante en la productividad primaria del ecosistema arrecifal como tal. En aguas arrecifales el nitrógeno es usualmente considerado como el nutriente limitante y en las asociaciones intactas la participación de los simbiontes es muy importante para la obtención y reciclaje de este elemento. Considerando que la disponibilidad del amonio que se origina del catabolismo del hospedero limita el crecimiento de los dinoflagelados fotosintéticos (Hoegh-Guldberg & Smith 1989 a) (dado que los productos de desecho de los corales son indispensables para que el alga realice la fotosíntesis). Lo anterior nos sugiere que la diferencia en la densidad poblacional de los simbiontes en las dos zonas del brazo de la colonia posiblemente sea efecto de una limitación en el flujo de nitrógeno y no una limitación por luz.

Las mediciones de fluorescencia son una herramienta básica aplicada a las investigaciones de la fisiología vegetal. La fluorescencia variable de la clorofila *a* está relacionada con la actividad fotoquímica del fotosistema II de los organismos que producen oxígeno (Strasser *et al.* 1995). En el aparato fotosintético, la luz se absorbe por los pigmentos antena y la energía de excitación se transfiere a los centros de reacción de los dos fotosistemas (FSI y FSII), donde dicha energía se conduce a los centros de reacción en donde se lleva a cabo la conversión de la energía fotosintética (Krause & Weis 1991). En este trabajo los valores de fluorescencia de la clorofila *a* se utilizaron como un indicador del estado fisiológico general de los dinoflagelados simbióticos (actividad reductora del fotosistema II). Los valores obtenidos del cociente  $F_v/F_m$  en simbiontes aislados nos indicaron que se mantiene una diferencia entre las puntas y las partes laterales (cuadro 4), así como en los corales intactos. La diferencia de dicho cociente en estos últimos podría deberse a la arquitectura del brazo del

coral y/o al número significativamente menor de dinoflagelados simbiosntes presentes en las puntas. Posteriormente con los valores obtenidos en los simbiosntes aislados se demuestra que estas diferencias observadas no son producto de las diferencias en la densidad poblacional ni tampoco al efecto que pudo existir al realizar las mediciones a corales intactos –como la geometría de la colonia– (cuadro 6 y figura B).

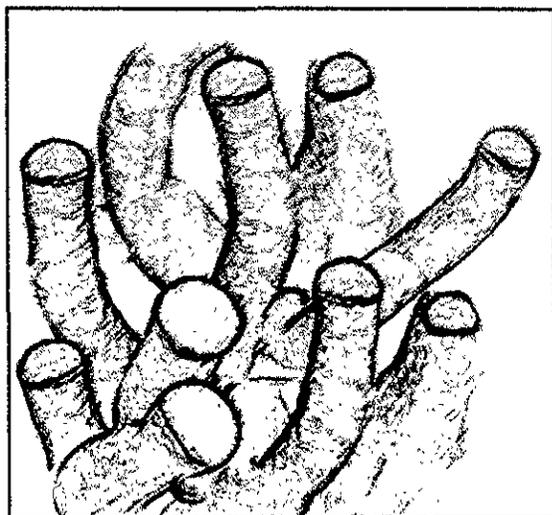


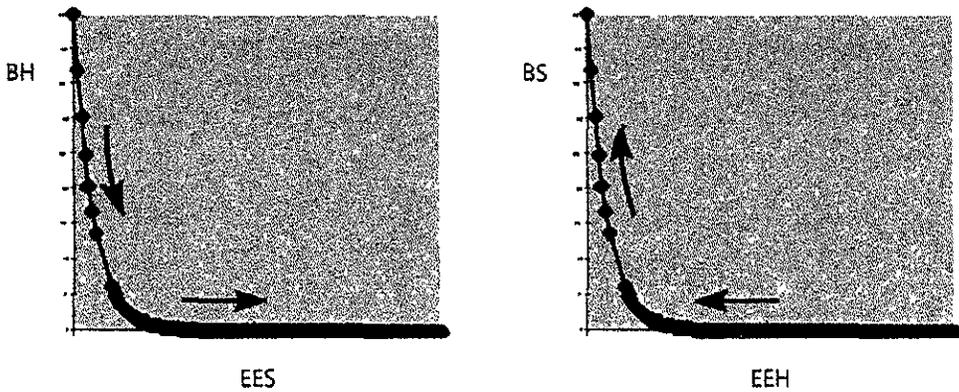
Figura B. Colonia de coral.

Es muy probable que la diferencia observada entre los simbiosntes de las puntas y las partes laterales se deba a un mecanismo de control poblacional bajo condiciones de un nutriente limitante. El cociente  $F_v/F_m$  puede disminuir al haber deficiencia de nitrógeno y las células limitadas por este nutriente pueden comportarse como si estuvieran bajo un efecto de daño por luz. Con base en los resultados, se deduce que el estado fisiológico en términos de la eficiencia fotosintética está siendo afectado y la asociación en este punto presenta otra modificación que quizás esté relacionada con la regulación poblacional de endosimbiosntes.

Los valores obtenidos del índice mitótico son un buen indicador que permite conocer el grado de división celular de las algas fotosintéticas y al relacionarlo con el número de células por unidad de área nos permitieron establecer una variación de la densidad poblacional.

Debido a que cuando una alga tiene cubiertas sus cuotas celulares, es decir, la concentración interna mínima requerida para reproducirse, era de suponer que en el área de puntas el porcentaje de células dividiéndose sería más bajo que en las partes laterales puesto que en las puntas se presentaron valores de  $F_v/F_m$  y número de células de simbionte por unidad de área menores a los observados en las partes laterales. En contraste con lo que se suponía, los valores del índice mitótico mostraron que la zona de puntas presentó el mayor porcentaje de células dividiéndose en relación a las partes laterales (cuadro 7). Sin embargo, los resultados obtenidos mediante las secciones de coral permitieron una observación más detallada distinguiéndose un gradiente de división celular a través de la distancia desde la punta hacia la zona de transición punta-lateral de la colonia, mostrando diferencias con los valores obtenidos en simbiontes aislados (que fueron poco sensibles dadas las características de esta observación). Cuando las regiones del coral están creciendo son metabólicamente más activas que otras áreas de la misma colonia, donde el excedente energético puede ser utilizado en respiración y producción de tejido y en menor sentido puede ser disponible para síntesis de gametos (Gladfelter 1985 y Fang 1989). El mayor porcentaje de división celular se encontró en la zona de transición punta-lateral (figura 9), indicándonos que en ese punto los simbiontes poseen niveles de nutrientes necesarios para satisfacer sus cuotas celulares y, por lo tanto, es factible que se lleve a cabo la división debido a que sus requerimientos celulares están cubiertos. Sin embargo, en la zona de crecimiento de la colonia la disponibilidad de nutrientes probablemente esté disminuida ya que el hospedero al estar creciendo presenta una mayor demanda de nitrógeno, de manera tal que en dicha zona el flujo de nitrógeno está beneficiando al hospedero, a la vez que la población de algas se ve limitada por el flujo del nutriente manifestándose en una diferencia de pigmentación, siendo el resultado de la diferencia en la densidad poblacional y  $F_v/F_m$  menores a los presentados en las partes laterales. Por lo que es de suponer que los factores externos que incidan sobre este tipo de corales, exhibirán con gran probabilidad respuestas diferenciales, puesto que existe una demanda de nitrógeno en el área de crecimiento, la cual resulta presumiblemente más susceptible a condiciones adversas.

Con estas observaciones podemos establecer que el crecimiento de los dinoflagelados simbiontes dentro del hospedero está desbalanceado y conjunto con el efecto del factor-hospedero éste es un mecanismo que controla el flujo de nutrientes entre el alga y el coral (Falkowski *et al.* 1993).

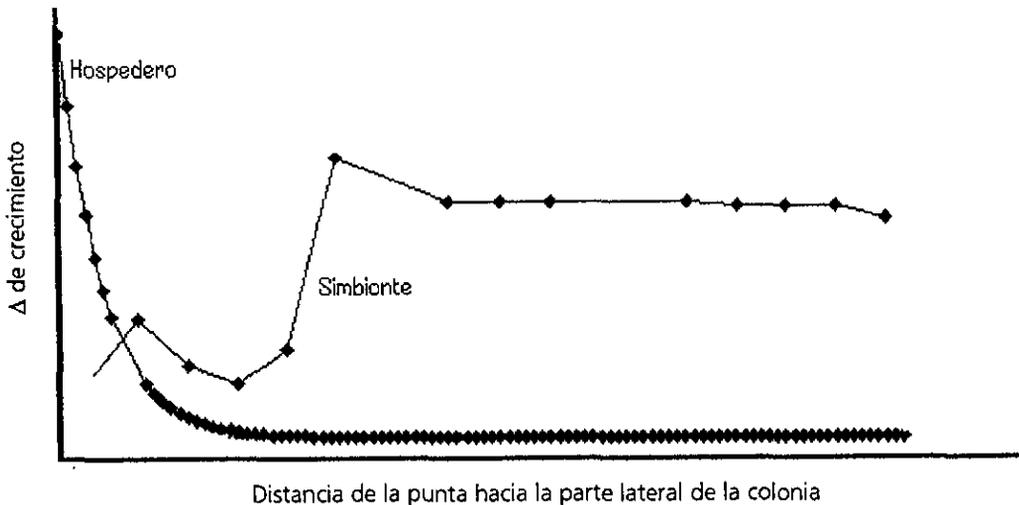


**Figura 10.** Relación entre las eficiencias ecológicas y los beneficios derivados de la asociación simbiótica entre el hospedero y el alga simbiote. BH=beneficio del hospedero; BA=beneficio del alga simbiote; EEH=eficiencia ecológica del hospedero; EEA=eficiencia ecológica del alga simbiote.

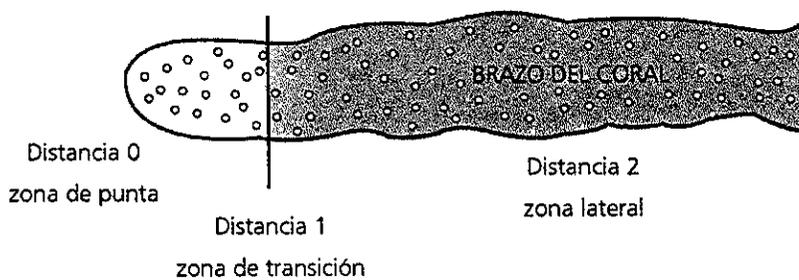
La tasa de crecimiento de los simbiotes en la punta está desfasada en relación a la producción de tejido por el hospedero, como lo menciona Hallock (1981). El crecimiento algal se incrementa mientras la eficiencia del hospedero declina y el crecimiento del hospedero se incrementa conforme baja la eficiencia algal. Dado que las algas fotosintéticas parecen estar limitadas por nitrógeno, debe existir un eficiente reciclamiento de los nutrientes dentro de la asociación (sitema mixotrófico<sup>1</sup>) y en este sentido nos referimos a la disponibilidad del amonio derivado del hospedero que regula la tasa de crecimiento de los simbiotes al ser una fuente primordial de nutrientes para éstos. El modelo incorpora las eficiencias del hospedero, del simbiote y los beneficios de la asociación, de tal manera que al aumentar la eficiencia ecológica del alga, es decir, cuánto del nitrógeno asimilado es incorporado como biomasa, el beneficio del hospedero baja y de la misma forma, al incrementar la eficiencia ecológica del hospedero, disminuye el beneficio del alga (figura 10). En este trabajo la zona de transición punta-lateral, para ambas especies de coral puede ser vista como un modelo que muestra cómo están desacopladas las tasas de crecimiento en una asociación simbiótica puesto que en ese punto, en los corales ramificados toma lugar el crecimiento, ello permite estudiar la dinámica poblacional de los

<sup>1</sup> Mixotrófica: Unión del autótrofo y del heterótrofo.

dinoflagelados simbióticos en una misma colonia en zonas de alta y baja demanda de un nutriente limitante (figura 11). En la zona de punta los endosimbiontes presentan una tasa de crecimiento mínima, mientras que en la zona de transición la tasa de crecimiento es máxima. Contrario a lo anterior, el hospedero presenta en la punta el máximo de crecimiento y en la zona de transición la tasa de crecimiento se hace mínima. Si nos extendiéramos hacia la zona lateral o basal de la colonia, esperaríamos encontrar que la tasa de crecimiento del hospedero respecto a la tasa de crecimiento de los endosimbiontes sea cero (figura 12). El éxito de los simbiontes dependerá entonces de la habilidad del sistema para reciclar los nutrientes con mínimas pérdidas, lo cual a su vez se relaciona con bajas eficiencias tanto del hospedero como del simbionte para que la asociación pueda ser ventajosa en un ambiente oligotrófico, ya que si se aumentara la eficiencia del alga incrementándose las concentraciones de nitrógeno inorgánico externo. La densidad de zooxantelas aumentaría y la población algal se acercaría a un crecimiento balanceado donde el hospedero perdería control sobre la densidad poblacional de simbiontes (Falkowski *et al.* 1993).



**Figura 11.** Crecimiento desfasado entre el hospedero y el simbionte en la simbiosis microalgal de un coral ramificado.



**Figura 12.** Brazo del Coral: tasas de crecimiento del hospedero y del simbiote.

Tasa de crecimiento del hospedero/distancia 0 = máxima; Tasa de crecimiento del hospedero/distancia 1=mínima, Tasa de crecimiento del simbiote/distancia 0=mínima; Tasa de crecimiento del simbiote/distancia 1=máxima.

## CONCLUSIONES

- De manera general podemos observar que las diferencias observadas entre las puntas y las partes laterales no se deben a un efecto por luz.
- El número de células por unidad de área es mayor en las partes laterales y los valores del cociente  $F_v/F_m$  en las partes laterales también se presentan altos en relación a las puntas.
- Los valores del índice mitótico demuestran que el mayor porcentaje se encontró en la zona de transición punta-lateral.
- Los endosimbiontes en la punta se encuentran limitados al haber una mayor demanda de nitrógeno que el animal utiliza para formación de tejido nuevo.
- Una forma de control poblacional al existir un área de demanda energética es desacoplando la producción en biomasa entre el animal y el alga en función del flujo de nitrógeno, en donde el éxito de la asociación depende de la habilidad para reciclar el nutriente limitante de crecimiento.

Estas observaciones favorecen el entendimiento de los mecanismos de control poblacional en sistemas mixotróficos, reflejando cómo las asociaciones simbióticas utilizan los nutrientes limitantes alcanzando un eficiente reciclamiento de éstos, permitiendo adaptaciones a los ambientes pobres en nutrientes.

## LITERATURA CITADA

- Berges, J. A., Charlebois, D. O., Mauzerall, D.C. & Falkowski, P.G. (1996). Differential effects of nitrogen limitation on photosynthetic efficiency of photosystem I and II in microalgae. *Plant Physiol.* 110: 689-696.
- Bilger, W., U. Schreiber, M. Bock (1995). Determination of quantum efficiency of photosystem II and non-photochemical quenching of chlorophyll fluorescence in the field. *Oecologia* 102: 425-432.
- Collado-Vides A. M. L. & J. González González (1996). Estudio comparativo de la fitoflora del Caribe de México y Cuba. *Investigaciones Marinas* sin fecha.
- Cook, C. B. & C. F. D'Elia (1987). Are Natural Populations of zooxanthellae ever nutrient-limited? *Symbiosis*. 4: 199-212.
- Darke, W. M. & D. J. Barnes (1993). Growth trajectories of corallites and ages polyps in massive colonies of reef-building corals of the genus *Porites*. *Marine biology*. 117: 321-326.
- Dawes, C. J. (1986). *Botánica marina*. Limusa, México. 673 pp.
- Drew, E. A. (1972). The biology and physiology of algae-invertebrate symbiosis. II. The density of symbiotic algal cells in a number of hermatypic hard corals and alcyonarians from various depths. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 9: 71-75.
- Dubinsky, Z., N. Stambler, M. Ben-Zion, L. R. Mc Closkey, L. Muscatine & P. G. Falkowski (1990) The effect of external nutrient resource on the optical properties and photosynthetic efficiency of *Stylophora pistillata*. *Proc. R. Soc. Lond.* B. 239: 231-246.

- 
- Dustan, P. (1979). Distribution of zooxanthellae and photosynthetic chloroplast pigments of the reefbuilding coral *Montastrea anularis* Ellis and Solander in relation to depth of West Indian coral reef. *Bull. Mar. Sci.* 29: 79-95.
  - Falkowski, P. & D. A. Kiefer (1985). Chlorophyll *a* fluorescence in phytoplankton relationship to photosynthesis and biomass. *Journal of Plankton Research.* (7) n: 715-731.
  - Falkowski, P.G., Dubinsky, Z., Muscatine L. & L. Mc. Closkey (1993) Population control in symbiotic corals. *Bioscience.* 43 (9): 606-611.
  - Fang, L. S., Y. W. J. Chen & C. S. Chen (1989). Why does the white tip of stony coral grow so fast without zooxanthellae? *Marine Biology.* 103: 359-363.
  - García E. 1973. *Modificaciones al sistema de Köppen.* Instituto de Geografía. UNAM.246 pp.
  - Gladfelter, E. H. (1982) Skeletal Development in *Acropora cervicornis*: I Patterns of Calcium Carbonate Accretion in the Axial Corallite. *Coral Reefs.* 1: 45-51.
  - Gladfelter, E. H. (1984). Skeletal Development in *Acropora cervicornis* III. A Comparison of monthly rates of linear extension and calcium carbonate accretion measured over a year. *Coral Reefs.* 3: 51-57
  - Gladfelter, E. H. (1985) Metabolism, calcification and carbon production II Organism level studies. *Proc. 5th Int Coral Reef Cong,* Tahiti vol. 4: 527-539.
  - Goreau, T.F. & N. Y. Goreau (1959). The physiology of skeleton formation in corals II Calcium deposition by hermatypic corals under various conditions in the reefs. *Biol Bull.* 117: 239-250.
  - Goreau T. F., N.Y. Goreau & T. J. Goreau (1976). Corals and corals reefs. *Scientific American* 241 (2): 110-120.

- 
- Hallock, P. (1981) algal symbiosis: A mathematical analysis. *Marine Biology*. 62: 249-255.
  - Hoegh-Guldberg, O. & G. S. Smith (1989)a. Influence of the population density of zooxanthellae and supply of ammonium on the biomass and metabolic characteristics of the reef corals *Seriatopora hystrix* and *Stylophora pistillata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 57: 173-186.
  - Hoegh-Guldberg, O. & G. J. Smith (1989)b. The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora hystrix* Dana. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 129: 279-303.
  - Hoegh-Guldberg, O. & Hinde (1986). Studies on a nudibranch that contains zooxanthellae II. contribution to animal respiration (CZAR) in *Pterocolidia ianthina* with high and low levels of zooxanthellae. *Proc. R. Soc. Lond.* B 228: 511-521.
  - Huppe H. C. & D. H. turpin (1994) Integration of carbon and nitrogen metabolism in plant and algal cells. *Annu. Rev. Plant physiol: Plant Mol. Biol* 45: 577-607.
  - Iglesias-Prieto, R., J. L. Matta, W. A. Robins & R. K. Trench (1992). Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum*. in culture. *Proc Natl Acad. Sci.* 89: 1032-1335.
  - Iglesias-Prieto R. & R. K. Trench (1994). Acclimation and Adaptation to Irradiance in Symbiotic dinoflagellates. I Responses of the Photosynthetic Unit to changes in photon flux density. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 113: 163-175.
  - Iglesias-Prieto, R. & R. K. Trench (1994, 1997). Photoadaptation, photoacclimation and niche diversification in invertebrate-dinoflagellate Symbiosis. *Proc 8th Int. Coral Reef Symp.* 2: 1314-1324.

- Jeffrey, S. W. & G. F. Humphrey (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b*, and *c*<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Plant Physiol.* 167: 191-194.
- Johannes, R. E. & W. J. Wiebe (1970). Method for determination of coral tissue biomass and composition. *Limnol. Oceanogr.* 15: 822-824.
- Jordan, E. (1979). Estructura y composición de arrecifes coralinos en la región noroeste de la península de Yucatán, México. *An. Ins. Ciencias del Mar y Limnología*. UNAM, México. 6 (1): 59-86.
- Jordan, E. M., E. M. Merino, O. Moreno & M. Martín (1981). Community structure coral reefs in the Mexican Caribbean. *Proc. 4th Int. Coral Reef Symp.* Manila. Vol 2.
- Keller, A. A. (1987). Mesocosm studies of DCMU-enhanced fluorescence as a measure of phytoplankton photosynthesis. *Marine Biology*. 96: 107-114.
- Kenyon, J. C. (1972). Sexual reproduction in Hawaiian *Acropora*. *Coral Reefs*. 11: 37-43.
- Kolber, Z., J. Zehr & P. Falkowski (1988). Effects of growth irradiance and nitrogen limitation on photosynthetic energy conversion in photosystem II. *Plant Physiol.* 88: 923-929.
- Krause, G. H. & E. Weis (1991). Chlorophyll *a* fluorescence and photosynthesis: The basics. *Annu Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42: 313-349.
- Lewis, J. B., Gladfelter, E. H. & D. W. Kinsoy (1985). Metabolism, calcification and carbon production. II Seminar Discussion. *Proc. 5th Int. Coral Reef Cong*, Tahiti 4: 540-542.

- 
- Mc Closkey, L. R. & L. Muscatine (1984). Production and respiration in the Red Sea coral *Stylophora pistillata* as a function of depth. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B* 222: 215-230.
  - Muscatine, L. (1967). Glycerol excretion by algae from corals and *Tridacna* and its control by host. *Science* 156: 516-519
  - Muscatine, L. & J.W. Porter (1977). Reef corals: Mutualistic symbiosis adapted to nutrient-poor environments. *Bioscience*. 27 (7): 454:459.
  - Muscatine, L. & Pool R. R. (1979). Regulation of numbers of intracellular algae. *Proc. R. Soc. Lond. B*. 204: 131-139.
  - Muscatine, L. (1980). Productivity of zooxantellae. In: *Primary productivity in the sea*. P. G. Falkowski, ed. Plenum, New York, pp 381-402.
  - Muscatine, L., P. G. Falkowski, Dubinski, Z., P. A. Code & L. R. Mc Closkey (1989). The effect of external nutrient resources on the population dynamics of zooxanthellae in a reef coral. *Proc. R. Soc. Lond B*. 236: 311-324.
  - Porter, J. W., Muscatine, L., Dubinsky, Z., P. G. Falkowsky (1984). Primary production and Photoadaptation in light and shade adapted colonies of the symbiotic coral *Stylophora pistillata*. *Proc. R. Soc. Lond.* 222: 161-180.
  - Rowan, R. (1998) Diversity and ecology of zooxanthellae on coral reef. *J. Phycol.* 34: 407-417.
  - Soong, K. & S. C. Lang (1992). Reproductive integration in reef corals. *Biol Bull.* 183: 418-431.
  - Strasser, R. S., a. Srivastava & Govindjee (1995). Polyphasic chlorophyll *a* fluorescence transient in plants and cyanobacteria. *Photochemistry and photobiology*. (6) 1: 32-42.

- Szmant-Froelich, A. & M.E. Q. Pilson (1984) effects of feeding frequency and symbiosis with zooxanthellae on nitrogen metabolism and respiration of the coral *Astrangia danae*. *Marine Biology*. 81: 153-162.
- Titlyanov, E. A. (1991). Light Adaptation and production characteristics of branches differing by age and illumination of the hermatipic coral *Pocillopora verrucosa*. *Symbiosis*. 10: 249-260.
- Trench, R. K. (1971). The physiology and biochemistry of zooxanthellae symbiotic with marine coelenterates. *Proc. Roy. Soc. Lond.* B 177: 257-261.
- Trench, R. K. (1974) Nutritional potentials in *Zoanthus sociathus*. *Helgoländer wiss. Meeresunters.* 26: 174-216.
- Trench, R. K. (1992). Microalgal-Invertebrate Symbiosis, *Current trends Encyclopedia of Microbiology*. Vol. 3 Academic Press, Inc USA 129-141pp.
- Trench, R. K. (1993). Microalgal-invertebrate symbioses; a review. *Endocytobiosis Cell Res.* 9:135-175.
- Wethey, D. S. & J. W. Porter (1976). Sun and Shade differences in productivity of reef corals. *Nature*. 262: 281-282.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA