



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

VARIABILIDAD ESTACIONAL DE LA FISIOLOGÍA FOTOSINTÉTICA Y CALCIFICACIÓN EN CUATRO ESPECIES DE CORALES CONSTRUCTORES DE ARRECIFES EN EL CARIBE.

TESIS

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA:

RICARDO IVÁN CRUZ CANO

TUTOR PRINCIPAL:

**DRA. SUSANA ENRÍQUEZ DOMÍNGUEZ
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA)**

COMITÉ TUTOR:

**DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA)
DR. GUILLERMO HORTA-PUGA
(FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA)
DR. HÉCTOR REYES BONILLA
(UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR)
DR. LUIS EDUARDO CALDERÓN AGUILERA
(CICESE, ENSENADA)**

MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

**VARIABILIDAD ESTACIONAL DE LA FISIOLÓGÍA FOTOSINTÉTICA Y
CALCIFICACIÓN EN CUATRO ESPECIES DE CORALES CONSTRUCTORES DE
ARRECIFES EN EL CARIBE.**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:

RICARDO IVÁN CRUZ CANO

TUTOR PRINCIPAL:

DRA. SUSANA ENRÍQUEZ DOMÍNGUEZ
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA)

COMITÉ TUTOR:

DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO
(INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA)
DR. GUILLERMO HORTA-PUGA
(FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA)
DR. HÉCTOR REYES BONILLA
(UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR)
DR. LUIS EDUARDO CALDERÓN AGUILERA
(CICESE, ENSENADA)

MÉXICO, SEPTIEMBRE DE 2015

A mi familia: Mamá, Papá, Juan, Bere y David. Gracias por ser el motor de mi vida, mi mayor regalo en este mundo, y fuerza en los momentos difíciles.

Mis amigos: Todos ustedes que a pesar del tiempo y distancia, siempre están en mi corazón.

A las dos luces de mi vida: Ale y Sara, gracias por ser aquella luz que siempre me sacó de mis momentos oscuros y caminaron a mi lado en este tramo de la vida.

Agradecimientos

Mediante estas palabras quiero agradecer a todas aquellas personas e instituciones que contribuyeron de una u otra manera a mi desarrollo profesional y personal en esta etapa de mi vida, que culmina con la realización de este escrito de tesis.

Primeramente quiero agradecer a mi familia: Mamá, Papá, Juan, Bere y Davo. Gracias por ser el motor que me impulsa siempre a ser mejor persona, hermano e hijo; por todo el esfuerzo, apoyo, amor y comprensión que me demostraron a lo largo del tiempo que estuve fuera. Por inculcar en mí los valores que tengo, que a donde quiera que voy me llevo. Son el regalo más preciado que tengo en la vida, y me siento afortunado de tener a la mejor familia de todas. Los amo.

Ale, gracias por ser la persona que me brinda siempre paz y cariño cuando lo necesité. Por estar conmigo, caminar a mi lado, apoyarme y demostrarme tu amor a pesar de la distancia. Por esas largas charlas al teléfono y por hacerme sentir la cercanía, a pesar de no estar en el mismo sitio.

Sara, gracias por ser una parte muy especial y esencial en mi vida. Por brindarme de tu luz, sacarme de mis peores momentos, depresiones y desesperación, así como cambiarlos por ratos de paz, alegría y esperanza. Siempre me llevaré una parte de ti, así como tu una de mí. Pase lo que pase, estaré contigo, no hasta el fin...sino siempre. Nuestros recuerdos me acompañarán en el camino.

A la Dra. Susana Enríquez Domínguez, en primer lugar, por darme la oportunidad de trabajar con ella; de iniciarme en el estudio de la fotofisiología, un campo que para mí era nuevo, sin embargo, siempre estuvo ahí, dispuesta a escucharme, aclarar mis dudas, orientarme, corregirme y contribuir a mi desarrollo personal y académico, haciéndolo siempre con una sonrisa e ímpetu. No solamente quiero agradecerle por eso, sino porque además de ser una gran investigadora, comprometida al 100% con su deber científico, es una gran persona, con una calidad humana excepcional, empatía y sensibilidad admirables, ya que además de ser mi tutora y guía en esta etapa de formación, fue también una gran amiga, consejera, apoyo, terapeuta, y muchas cosas más que me hacen tenerle un gran cariño y gratitud. Muchas gracias doctora.

Al Dr. Guillermo Horta-Puga, por ser la persona que me inició con esta pasión por el estudio de los arrecifes de coral. Me siento afortunado de seguir en contacto con usted y tenerlo en esta etapa de formación, ya no como mi director de tesis, sino como un guía para ser mejor en este ámbito de la investigación. Gracias por todos sus consejos, apoyo y palabras.

Al Dr. Roberto Iglesias-Prieto, por ser al igual que la Dra. Susana, un guía en este camino. Por sus enseñanzas, consejos y palabras, las cuales me sirven día a día para mejorar como persona y profesionista. Asimismo le agradezco también por todos los apoyos brindados por el, como el espacio para trabajar.

Al Dr. Luis Calderón Aguilera y al Dr. Héctor Reyes Bonilla, por ser parte de mi comité, sus consejos, críticas constructivas y observaciones para la mejora de este trabajo.

A mi equipo de trabajo en el laboratorio de Fotobiología: Tim, por su valiosa ayuda en la realización de mi trabajo, por apoyarme en todo el trayecto de desarrollo del trabajo, por su paciencia y apoyo. Nancy, por estar ahí a mi lado y ser la primera persona en introducirme en el trabajo del laboratorio. Asimismo quiero agradecer a Román, Nadine, Wiebke y David por su apoyo, paciencia y consejos durante mi estancia en Puerto.

A mis amigas de Puerto, Nancy y Sandra, gracias, por estar ahí, por brindarme su amistad, comprenderme, soportarme con mis locuras e incoherencias, así como siempre velar por mi bienestar. Muchas gracias, por ser lo más bonito que me llevo de Puerto, los vínculos con personas tan bellas como ustedes. Siempre recordaré aquellos momentos de risas, lágrimas, bromas, comida, tristeza, trabajos, reportes, cruceros, clases y más momentos que ahora atesoro. Quiero que sepan que siempre estarán en mi corazón. Las quiero mucho y las veo como mis hermanas mayores.

A los amigos de la maestría, Yoli, Daniel, Manzana, Victoria, y Edgar gracias por los momentos de alegría que pasamos a lo largo de nuestra formación. A todos mis hermanos en esta vida dentro de la Biología: Daniel, Laura, Adán, por estar ahí conmigo y seguir siendo parte de mi historia. Y a mis hermanos Víctor, Ruth, Sergio, Paty, Ana Laura, Mara, Tamahara, Omar, Martha, por ser parte de mi vida ya por mas de la mitad de ésta. Por brindarme su apoyo, alegría, confianza y palabras.

Al personal del posgrado de Ciencias del Mar y Limnología, y profesores por aceptarme, brindarme todos los apoyos y guías en mi formación.

A CONACYT, por la beca otorgada, misma que me permitió desarrollar mi trabajo de investigación.

Finalmente a la UNAM, por darme los momentos mas hermosos de mi vida, y por ser mi casa de estudios, a la que le debo mucho y le pagaré con mi mejor esfuerzo en el ámbito profesional

Ricardo

Índice

Resumen.....	008
Abstract.....	009
Introducción.....	010
Objetivos.....	022
Objetivo general.....	022
Objetivos particulares.....	022
Materiales y Métodos.....	023
Toma de muestras.....	023
Exposición y temperatura.....	024
Fluorometría de clorofila a.....	024
Determinación de espectros de reflectancia.....	025
Mediciones de fotosíntesis y respiración.....	026
Mediciones de calcificación.....	026
Análisis de pigmentos.....	029
Densidad de células simbiotes.....	029
Resultados y discusión.....	030
Exposición y Temperatura.....	030
Caracterización fisiológica y estructural de los organismos.....	034
Variación estacional del contenido de células simbiotes.....	036
Variación estacional de la pigmentación del holobionte (densidad de clorofila a).....	042

Variación estacional de la absorptancia.....	047
Variación estacional de Fv/Fm.....	052
Variación estacional del contenido de pigmentos en <i>Symbiodinium</i> (Ci).....	059
Variación estacional del coeficiente específico de absorción de la luz (a*).....	072
Variación estacional de la tasa máxima de fotosíntesis.....	077
Variación estacional de las tasas respiratorias.....	081
Variación estacional del cociente P/R.....	086
Variación estacional de la calcificación.....	089
Variación estacional del contenido de proteínas solubles.....	096
Conclusiones.....	099
Bibliografía.....	106
Anexo fotográfico.....	119

RESUMEN

La relación simbiótica coral-alga responde a los cambios ambientales en luz y temperatura ajustando la producción del holobionte a un óptimo fisiológico. Para entender este ajuste, el presente trabajo examinó la variabilidad estacional a lo largo de un año en la fisiología fotosintética (F_v/F_m), tasas metabólicas (fotosíntesis, respiración y calcificación), así como diferentes descriptores de la simbiosis (densidad de simbiosites, contenido de clorofila-a, pigmentos por célula, coeficiente específico de absorción-a*), en cuatro especies constructoras arrecifales del Caribe: *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*. Estos organismos experimentales se mantuvieron a 4-5 m de profundidad en la laguna de Puerto Morelos y se registraron los cambios diarios en la temperatura del agua y la irradiancia. Los resultados obtenidos muestran un gran dinamismo en el ajuste ambiental de las cuatro especies, siendo la luz en primavera y la temperatura en verano por encima de 30°C, los que inducen los mayores cambios en la pigmentación de *Symbiodinium* del tejido coralino; asimismo, se observó que la variación estacional en las cuatro especies para este parámetro mostró un patrón similar. Se encontraron dos mínimos anuales en la densidad de simbiosites (Verano y finales de invierno) a diferencia de descripciones previas que sólo reportaron un mínimo anual en verano. Para el parámetro F_v/F_m , se observó que los valores promedio de las 4 especies son similares, sin embargo, *M. cavernosa* fue la que presentó los valores más bajos y mayor variación; por el contrario, *P. strigosa* tuvo los valores más altos y la menor variación, sugiriendo que la primera es la más sensible a acumular fotodaño, mientras que la segunda es la más robusta. Finalmente, el patrón de calcificación que documentan otros estudios en el cual hay mayor calcificación en verano, y menor en invierno, no se observa claramente durante el año del experimento.

ABSTRACT

The symbiotic relationship between coral and algae responds to environmental changes in light and temperature, adjusting the holobiont responses to a physiological optimum. In order to understand such adjustments, this work studied the seasonal variability along one year in some parameters like photosynthetic physiology (Fv/Fm), metabolic rates (photosynthesis, respiration and calcification) such as various symbiosis descriptors (symbiont density, chlorophyll a content, pigment per cell (Ci), chlorophyll a-absorption specific coefficient(a*) in four reef-building coral species: *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* and *Orbicella annularis*. Those organisms were maintained in the Puerto Morelos reef lagoon, at a depth of 4-5 m, so there could be registered diurnal changes in seawater temperature and irradiance. Results obtained shows a high dynamism in the environmental adjustment by the four species, suggesting that the light in the spring conditions, and seawater temperature above 30°C in summer, are the main factors triggering major changes in *Symbiodinium*'s pigmentation; also there was observed that seasonal changes in pigmentation has the same pattern in the four species. There were also found two yearly minimum for symbiont density (summer and winter ending), differing these results with those previously described by other authors that only report a yearly minimum in summer. For the Fv/Fm, it was found that mean values in the four species were similar. However, *M. cavernosa* show the lowest values and highest variability in this parameter. On the other hand, *P. strigosa* had the highest values and lowest variability, suggesting that the first one is the most sensitive to accumulate photo-damage while, the last one is more robust. Finally, the calcification pattern documented for other studies, showing a higher calcification in summer and a lower activity in winter, was not clearly observed during the year of the present research.

INTRODUCCIÓN.

Los arrecifes de coral son estructuras geológicas calcáreas, de aguas tropicales poco profundas y de origen biológico, que soportan una gran diversidad de interacciones tróficas entre organismos marinos. Constituyen uno de los ecosistemas más diversos del planeta. De todos los organismos que secretan carbonato de calcio y contribuyen a la formación de los arrecifes de coral modernos, los corales escleractinios son los más importantes ya que son los responsables de la construcción de su estructura primaria (Perry, Spencer y Kench 2008), debido a que presentan una elevada tasa de calcificación y producen la base de la estructura geológica arrecifal.

La mayoría de estos corales son conocidos como “hermatípicos”, (del griego ἔρμα *herm*, barrera, arrecife y τύπος, *typ(o)* forma). La elevada tasa de calcificación que es característica de estos corales, se debe a la asociación simbiótica que establecen con algas unicelulares, dinoflagelados del género *Symbiodinium*. El establecimiento de esta asociación, explica el éxito ecológico y evolutivo de los corales escleractíneos así como de la formación de arrecifes (Andres y Witman 1995, Tunnell 2007).

Una relación simbiótica es aquella en la que los organismos de diferentes especies interactúan para su mutuo beneficio. Por lo general involucra el intercambio directo de “bienes y servicios” (alimento, defensa, transporte, etc.) y puede resultar en la adquisición de nuevas capacidades (propiedades funcionales) o mejoras de algunas ya existentes por parte de un integrante o ambos. En la relación simbiótica coral-dinoflagelado, la mejora del holobionte se ve reflejada en el incremento de la tasa de calcificación en los corales hermatípicos (Pearse y Muscatine 1971, Herre *et al.* 1999, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006) así como en la capacidad y eficiencia para absorber la luz por parte de los

dinoflagelados simbiosomas cuando forman parte de la estructura del holobionte (Enríquez *et al.* 2005).

Las algas simbióticas de los corales residen en vacuolas (simbiosomas) unidas a la membrana en las células gastrodérmicas del hospedero, y su densidad por unidad de área usualmente oscila entre 1-2 millones de células por cm² de superficie coralina. El número de algas simbiosomas dentro del tejido puede ser altamente variable dentro de una misma colonia (Kemp *et al.* 2014), y entre especies, cambiando tanto a escala temporal a lo largo de un ciclo anual (Fitt *et al.* 2000, Fagoonee *et al.* 1999, Kemp *et al.* 2014) como espacial y dependiente de la disponibilidad de nutrientes (Muscatine *et al.* 1989). Sin embargo, los mecanismos y factores que rigen esta variabilidad todavía no se conocen exactamente (Muller-Parker y D'Elia 1997, LaJeunesse *et al.* 2003, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006, Thornhill *et al.* 2006).

Symbiodinium es un dinoflagelado simbiote que no sólo establece relaciones simbióticas con cnidarios, ya que ha sido encontrado frecuentemente asociado con una gran variedad de invertebrados marinos y protistas entre los que destacan: cnidarios, platelmintos, moluscos, poríferos y foraminíferos (Muller-Parker y D'Elia 1997, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006). En un principio, se pensaba que los simbiosomas presentes en los corales y otros cnidarios pertenecían a una sola especie, *Symbiodinium microadriaticum*. Sin embargo, *Symbiodinium* ha demostrado diferencias relevantes con respecto al número cromosómico, el tamaño celular en su fase vegetativa, número de cloroplastos, tamaño y forma, producción de MAA's (Mycosporine-like aminoacids), perfiles de isoenzimas, composición de ácidos grasos y esterol, pero también en relación a la fisiología fotosintética, tasas de crecimiento e infectividad hacia el hospedero, lo que ha dado evidencia de su gran diversidad molecular (Iglesias-Prieto y Trench 1997; Muller-Parker y D'Elia 1997, LaJeunesse *et al.* 2003, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006).

Actualmente, se han descrito para *Symbiodinium*, 8 clados sub-genéricos genéticamente divergentes, de los cuales 6 (A-D, F, G) se encuentran en los corales escleractíneos. Esta diversidad genética tiene probablemente su origen en la evolución de la simbiosis y su adaptación al ambiente. Las diferentes “respuestas evolutivas” han dado origen a una gran diversidad de organismos y morfologías del pólipo, el esqueleto de coral y la colonia, pero también a una gran diversidad en las propiedades fisiológicas que expresan las diferentes uniones hospedero-simbionte. Cada clado comprende numerosos tipos que son distinguibles genética, ecológica y biogeográficamente (Muller-Parker y D’Elia 1997, Coffroth y Santos 2005, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg 2006, Thornhill *et al.* 2006, Meyer y Weis 2012).

Las ventajas funcionales que confiere la simbiosis con algas unicelulares, a unos organismos como los cnidarios, se encuentran relacionadas con mejoras en el transporte de gases, solutos y el intercambio de recursos nutricionales (Yellowlees, Rees y Leggat 2008). Las algas aportan al coral el oxígeno necesario para su respiración, además de absorber residuos metabólicos tóxicos como el amonio. Esto les permite independizarse de las tasas de difusión del oxígeno con el medio exterior además de cubrir un alto porcentaje de los requerimientos metabólicos del holobionte con los productos derivados de la fotosíntesis del alga. Se ha estimado que las algas simbiotes translocan cerca del 95% de sus productos fotosintéticos al hospedero, principalmente en forma de glicerol. Por otra parte, los dinoflagelados simbiotes adquieren dentro del tejido del coral los nutrientes inorgánicos, el carbono, CO₂ y el ambiente lumínico apropiado para la fijación fotosintética de la energía lumínica en forma de moléculas de carbono orgánico (Muller-Parker y D’Elia 1997, Fitt *et al.* 2000, Enríquez *et al.* 2005, Rodríguez-Román e Iglesias-Prieto 2005, Berkelmans y van Oppen 2006, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg 2006, Yamashita *et al.* 2011). Esta fijación de C por parte del simbiote es considerada la base de la alta productividad de los corales, ya que el C orgánico fijado por medio de la fotosíntesis está potencialmente disponible para el hospedero como una fuente de carbono y energía. Si el C fijado

por el simbiote alcanza o excede el requerimiento combinado respiratorio de C del coral y el simbiote ($P_{zx} > R_{zx} + \text{animal}$; cociente fotosíntesis/respiración $P/R > 1$), el modelo tradicional para este cociente, considera que el coral es potencialmente fotoautótrofo con respecto al carbono y, por tanto, menos dependiente de fuentes externas (alimento) de dicho elemento.

Cuando el P/R es menor a 1, el C debe ser tomado de otras fuentes nutricionales, particulado o disuelto. Este cociente, derivado de mediciones de oxígeno, generalmente muestra que los corales de aguas superficiales tienen una proporción $P/R > 1$, mientras que el P/R de los corales de aguas profundas es menor a 1 (Muller-Parker y D'Elia 1997, Yamashita *et al.* 2011).

La variación en dicho cociente, se debe a que la producción fotosintética del simbiote depende de la cantidad de luz, sin embargo, la radiación lumínica disminuye de forma exponencial con la profundidad. Por lo tanto, aunque las algas simbiotes y los corales se “aclimatan” a menores cantidades de luz para mejorar su producción fotosintética, este fuerte descenso del campo lumínico con respecto a la profundidad resulta en significativas disminuciones del crecimiento de los corales (Coles y Brown 2003, Edmunds *et al.* 2012) y de cocientes P/R menores de 1. A pesar de esto, debido a que los corales son unas de las estructuras biológicas más eficientes para absorber la luz (Enríquez *et al.* 2005), pueden llegar a colonizar ambientes muy poco iluminados (Coles y Brown 2003, Edmunds *et al.* 2012).

Los cambios en el ambiente lumínico con la profundidad (intensidad y calidad de la luz) así como los cambios temporales asociados a la inclinación solar, la cobertura de nubes y frecuencia de tormentas, que tienen como consecuencia cambios estacionales en la temperatura del agua, exigen que los simbiotes se “fotoaclimaten” a la continua variación de las diferentes condiciones ambientales. En respuesta a esta variabilidad ambiental, *Symbiodinium* puede presentar cambios en su concentración de pigmentos, como resultado de cambios en el

número de centros de reacción de los fotosistemas y tamaño de sus antenas o complejos colectores de luz (Iglesias-Prieto y Trench 1994), pero también el holobionte experimenta cambios en la abundancia del simbiote dominante y en la cantidad de células simbiotes presentes en el tejido (Fagonee *et al.* 1999, Fitt *et al.* 2000, Warner *et al.* 2002, Suwa *et al.* 2008).

Estos cambios estructurales del simbiote son los esperables en cualquier organismo fotosintético y le permiten ajustar su capacidad fotosintética a las variaciones en el ambiente lumínico que se producen a lo largo del año. Conforme la luz incrementa, las tasas de crecimiento algal, fotosíntesis máxima, respiración, absorción de luz *in vivo* (a^*) y el contenido de pigmentos fotoprotectores como β caroteno incrementan, pero por otra parte, el contenido celular de pigmentos, en particular de las clorofilas a y c, peridina, además del área tilacoidal, el tamaño de las unidades fotosintéticas (PSU's) y el rendimiento cuántico de la fotosíntesis (ϕ) disminuyen (Iglesias-Prieto y Trench 1994, Iglesias-Prieto y Trench 1996, Iglesias-Prieto y Trench 1997; Yellowlees, Rees y Leggat 2008, Hennige *et al.* 2009, Hennige *et al.* 2011).

Como resultado de estos ajustes de *Symbiodinium* que dependen de la habilidad aclimatativa y/o adaptativa de cada filotipo, un coral puede adquirir diferentes capacidades para colonizar zonas someras expuestas a alta luz y/o aguas profundas por debajo de la zona fótica (Muller-Parker y D'Elia 1997, Yellowlees, Rees y Leggat 2008).

Además de la luz, la temperatura es un factor muy importante en el ajuste estacional del holobionte. En un rango fisiológico óptimo, la temperatura incrementa las tasas metabólicas según la ley de Arrhenius, en un factor ≈ 2 cada diez grados. Esto es debido a que a mayor temperatura se facilitan las interacciones enzimáticas, y, por tanto, aumentan la tasa de fotosíntesis y respiración del holobionte. El efecto neto de la temperatura sobre el metabolismo del holobionte y su productividad dependerá de cómo afecte diferencialmente a la

fotosíntesis, respiración y la tasa de calcificación del holobionte (Muller-Parker y D'Elia 1997).

Por otro lado, la densidad de simbioses también puede verse influenciada por los cambios en la temperatura del agua de mar. Este efecto tiene un componente relacionado con la fisiología algal, y otro con el hospedero; ya que un incremento de la temperatura favorece el crecimiento de *Symbiodinium*, y de sus tasas fotosintéticas, pero puede causar también pérdida de células en el hospedero y, por lo tanto, de espacio para "hospedar" a *Symbiodinium*. En condiciones de estrés térmico, se pueden producir grandes pérdidas de células simbioses como resultado de fuertes incrementos de daño por luz en *Symbiodinium* (Lesser y Fariell 2004, Abrego *et al.* 2008, Hennige *et al.* 2011, Bellantuono *et al.* 2014), lo que puede desencadenar el fenómeno de blanqueamiento (Jones *et al.* 2008, Sampayo *et al.* 2008, McClanahan *et al.* 2007, Rodríguez-Román *et al.* 2010, Fitt *et al.* 1993, Kemp *et al.* 2014).

El blanqueamiento coralino es un fenómeno que resulta de una disfunción en la relación simbiótica y se expresa como una pérdida dramática de pigmentos, simbioses y actividad fotosintética del holobionte. El simbiote pierde pigmentos, pero también su densidad en el tejido del hospedero. Dicho fenómeno puede ser inducido por una variedad de factores físicos y biológicos, entre los que se han mencionado: incrementos y descensos anómalos en las temperaturas marinas superficiales, radiación UV, infección bacteriana, incidencia de enfermedades, disminución en la salinidad, y contaminación (Brown 1997, Muller-Parker y D'Elia 1997, Fitt 2001, Toller *et al.* 2001, Downs *et al.* 2002, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006, Colombo-Pallota *et al.* 2010).

Los corales que experimentan blanqueamiento muestran una grave reducción de su capacidad fotosintética y en consecuencia, de sus tasas de calcificación y crecimiento (Muller-Parker y D'Elia 1997, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006, Colombo-Pallota *et al.* 2010, Yamashita *et al.* 2011). El mecanismo fisiológico que

explica el blanqueamiento inducido por incrementos extremos en la temperatura del océano, no se conoce todavía pero está relacionado con un incremento de fotodaño en *Symbiodinium*; ya sea por daño directo al fotosistema II, o al proceso de fijación de carbono en el Ciclo de Calvin-Benson; como consecuencia de esto, el hospedero sufre daño en el ADN, apoptosis y necrosis tisular. La producción de ROS (Especies Reactivas de Oxígeno) y el estrés oxidativo también parecen contribuir en las disfunciones que se han descrito en corales blanqueados (Lesser 1996, Fagonee *et al.* 1999, Downs 2002, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006, Yamashita *et al.* 2011).

Se ha observado que anomalías térmicas de sólo +1-2°C en verano han conducido a importantes eventos masivos de blanqueamiento en los arrecifes de coral de todo el planeta (Goreau y Hayes 1994, McClanahan *et al.* 2007, Goldenheim y Edmunds 2011, Donner 2011, Liu *et al.* 2013) y han resultado en mortalidades dramáticas con importantes consecuencias para el arrecife, trayendo como consecuencia una pérdida de biodiversidad en conjunto con otros fenómenos como la sobrepesca y el proceso de eutroficación (Lidell 1992, Brown 1997, Koop *et al.* 2001, McCook *et al.* 2001, Kuffner y Paul 2001, McManus y Polsenberg 2004, Hughes y Rodríguez 2007, El blanqueamiento coralino es considerado una importante amenaza ligada al cambio global que actualmente se cierne sobre todos los arrecifes de coral del planeta (Fitt y Warner 1995, Brown 1997, Hoegh-Guldberg 1999, Díaz-Pulido y McCook 2002, Walther *et al.* 2002).

Todos estos cambios fisiológicos que se presentan en *Symbiodinium* y el holobionte a lo largo de año, son ajustes fotoaclimatativos asociados a las fluctuaciones estacionales de luz y temperatura (Fitt *et al.* 2000, Downs *et al.* 2002, Gorbunov *et al.* 2001, Anthony y Hoegh-Guldberg 2003, Thornhill *et al.* 2006 Winters *et al.* 2006, Weeks *et al.* 2008) . Dentro de los patrones o cambios estacionales documentados hasta la fecha, destacan por su consistencia, los cambios en la densidad de simbioses documentados por Fagonee *et al.* (1999); Brown *et al.* (1999) y Fitt *et al.* (2000). Estos autores fueron los primeros en

documentar que durante los meses más fríos y, en general con menores disponibilidades de luz (invierno), se presenta el mayor número de simbioses en el tejido del coral, mientras que en verano, coincidiendo con los meses más cálidos, aunque no necesariamente los de mayor irradiancia, debido a que coincide con la época de lluvias, los contenidos de simbioses disminuyen significativamente y se observan los mínimos valores anuales (Muller-Parker y D'Elia 1997, Fagoonee *et al.* 1999; Brown *et al.* 1999; Fitt *et al.* 2000).

Sin embargo, la variación estacional en la pigmentación de *Symbiodinium* (contenido celular de pigmentos, Ci) y del coral, no presenta un patrón tan consistente (Brown *et al.* 1999; Fitt *et al.* 2000). Se ha documentado una gran variabilidad entre especies, encontrando desde aquellas que aparentemente no presentan cambios estacionales, hasta las que pueden mostrar patrones similares a los cambios en el contenido de simbioses o incluso opuestos (Brown *et al.* 1999; Fitt *et al.* 2000).

Por otra parte, el tejido del coral también ha mostrado cambios estacionales en su grosor (Cruz-Piñón *et al.* 2003) y contenido de proteínas (Fitt *et al.* 2000), las cuales se han relacionado con las variaciones estacionales en el crecimiento vertical del pólipo (extensión esquelética) y en la tasa de calcificación que se registran en el esqueleto de coral y se documentan por medio de radiografías (Rayos X) mediante la formación de bandas alternadas de alta y baja densidad de CaCO₃ (Goreau 1959, Goreau y Goreau 1960, Knutson *et al.* 1972, Highsmith 1979; Hudson 1981).

Es conocido que las bandas de alta densidad se forman en verano y las de baja densidad en invierno, lo que se asocia al efecto de los cambios estacionales sobre la fisiología del holobionte (Dodge y Vaisnys 1975; ; Dodge y Brass 1984; Dodge *et al.* 1984; Tomascik y Sander 1985; Guzmán y Cortés 1989; Barnes y Lough 1989, 1993, Howe y Marshall 2002). La variabilidad interanual que se encuentra registrada en el esqueleto de coral se considera un indicador ambiental muy

poderoso y útil para monitorear el efecto del ambiente sobre el holobionte y, en concreto, se está utilizando para detectar cambios en el arrecife de coral atribuibles al cambio global (Clausen y Roth 1975, Death *et al.* 2009, Carricart-Ganivet *et al.* 2000; Carricart-Ganivet y Merino 2001; Cruz-Piñon *et al.* 2003, Carricart-Ganivet 2004, Jokiel 2013, Lough *et al.* 2014).

A pesar del importante esfuerzo de investigación que se está haciendo en esclerocronología de corales, todavía no se ha descrito cómo se ajusta el holobionte a los cambios estacionales de luz y temperatura, tanto en su morfología como en su fisiología y, cómo afectan estos ajustes a la capacidad de calcificación coralina. Entender estos mecanismos fisiológicos puede ayudar a explicar el patrón estacional de calcificación documentado y común para la gran mayoría de las especies de coral. Esta información es crítica para fundamentar las interpretaciones que se hacen de la variación registrada en la tasa de calcificación del esqueleto, a partir de simples asociaciones de variación con los cambios en el ambiente, o incluso para poder detectar posibles inconsistencias y mejorar estas interpretaciones contribuyendo al desarrollo de modelos bio-ópticos de producción de carbonato apoyados en un mejor conocimiento a los ajustes de la fisiología del coral al ambiente.

Entender el efecto de los cambios estacionales en luz y temperatura sobre *Symbiodinium* así como sobre el holobionte, puede contribuir a brindar información muy importante para entender los ajustes aclimatativos de la simbiosis y quizás también los límites de tolerancia de estos en condiciones que afectan a la estabilidad de la relación simbiótica e inducen blanqueamiento y reducciones en la calcificación. Por ejemplo, uno de los aportes de entender mejor la fisiología de la calcificación en el contexto estacional, podría ser validar o refutar la hipótesis de que *Symbiodinium* y el hospedero compiten por el pool de carbono inorgánico interno, el primero para fijar carbono en fotosíntesis y el segundo para calcificar (Marubini y Davis 1996).

Se sabe que en condiciones de mayor disponibilidad de nutrientes, los cuales promueven un incremento de la pigmentación del coral, número de simbioses, grosor del tejido y su contenido de nutrientes y proteínas, además de su actividad fotosintética, sin embargo, se disminuye fuertemente su tasa de calcificación (Tomascik y Sander 1985; Muscatine *et al.* 1989, Tomascik 1990, Marubini y Davies 1996). Hay también evidencia a partir de variación de la señal isotópica que indica que la mayoría del carbono que se utiliza en calcificar proviene de la fotosíntesis de los simbioses y que no hay competencia entre el coral y el simbiote en el pool de carbono. Otros mecanismos fisiológicos asociados a los ajustes de la simbiosis y que involucran el acoplamiento y/o desacoplamiento de la fotosíntesis y la calcificación en el holobionte, podrían explicar la variabilidad de la actividad de calcificación de los corales e identificar los principales factores, externos e internos que la regulan.

No obstante, poco se sabe todavía de los cambios fisiológicos y estructurales de los corales a lo largo de un ciclo anual. Se ha documentado que el grosor del tejido aumenta cuando las condiciones son favorables para la fisiología del coral (Barnes y Lough 1993). Sin embargo, Cruz-Piñón *et al.* 2003 reportan para las especies del Caribe, *Orbicella faveolata* y *O. annularis* un mayor grosor de tejido en Agosto (460 μm) frente a Febrero (260 μm) a pesar de que en el verano hay un mayor estrés lumínico y térmico y los organismos presentan un menor contenido en proteínas, algas simbioses y nutrientes. Por otro lado, el índice mitótico de los simbioses es el doble en Febrero que en Agosto (Cruz-Piñón *et al.* 2003). Se han documentado también diferencias estacionales asociadas a la actividad fotosintética de *Symbiodinium*, medida por medio de la señal de fluorescencia de la clorofila a (Warner *et al.* 2002). Estos autores confirman que en verano *Symbiodinium* acumula mayor daño por luz, pues se observan valores menores de la eficiencia fotosintética del fotosistema II que en invierno (F_v/F_m y $\Delta F/F_m'$, Warner *et al.* 2002) lo que indica que los organismos están expuestos a un mayor estrés lumínico en verano, o su capacidad de reparación y fotoprotección se reduce en verano. También se ha documentado por Thornhill *et al.* (2006), que la

identidad genética de *Symbiodinium* sufre apenas cambios o muy leves en el simbionte dominante a lo largo de 5 años de monitoreo continuo de 6 especies distintas, y que las asociaciones simbióticas son más heterogéneas en los ambientes someros, en comparación con los profundos.

El estudio de Fagonee *et al.* (1999) concluye que la densidad de *Symbiodinium* aumenta en otoño e invierno hasta tres veces la que se observa en la primavera y verano y, que el número de simbiontes está asociado positivamente con la variación de la concentración de nitratos. Sin embargo, la variación estacional en el número de simbiontes ocurren en todos los hábitats arrecifales y no siempre se observa un patrón estacional claro en la concentración ambiental de nitrato.

La fluctuación anual de la luz y la temperatura con cambios estacionales más estables y predecibles de la radiación solar durante los meses más fríos de invierno, así como más variables y dependiente de la frecuencia y duración de las tormentas, en los más cálidos del verano, pero también dependientes del patrón de cambio en las estaciones de transición de primavera y otoño, podrían ser el motor que regula los cambios estacionales de la biología de esta simbiosis. Estos ciclos estacionales pueden explicar ajustes claves de la simbiosis al ambiente, a partir de los cambios en la luz y la temperatura, con importantes efectos sobre la fisiología, adecuación y el crecimiento coralino (Muller-Parker y D'Elia 1997, Fitt *et al.* 2000, Warner *et al.* 2002, Stat, Carter y Hoegh-Guldberg, 2006).

La mayor parte de los estudios descriptivos acerca de la variabilidad estacional de la fisiología de corales constructores de arrecifes han contemplado intervalos de variación de 2 a 3 meses, y un número reducido de parámetros, lo que es insuficiente para describir los cambios fisiológicos que experimentan los organismos a lo largo del año e identificar los principales factores que los inducen. Muchos otros estudios se han enfocado a analizar la respuesta fisiológica de los organismos al ambiente, por lo que se han desarrollado generalmente sobre escalas temporales cortas, de días a semanas, y usualmente son llevados a cabo

durante una sola estación, sin contemplar las posibles diferencias que podría tener esta respuesta según la condición del holobionte en cada estación. Una descripción detallada de estos cambios anuales con una resolución temporal más fina, y sobre un diverso grupo de especies, permitiría identificar: (1) patrones comunes y específicos de cada especie en el ajuste fisiológico estacional; (2) condiciones fisiológicas contrastantes de los organismos a lo largo del año y sus posibles implicaciones sobre la variación de la producción de carbonatos del arrecife; y (3) especies y/o condiciones fisiológicas que presentan mayor/menor sensibilidad/robustez al estrés ambiental.

OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la variabilidad estacional a lo largo de un ciclo anual de la fisiología fotosintética y de calcificación, en cuatro especies de corales constructores de arrecifes en el Caribe.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Determinar la variación estacional en la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (F_v/F_m)
- Determinar la variación estacional de la pigmentación de los organismos, distinguiendo entre los cambios en el número de células y en el contenido de pigmentos por célula (C_i).
- Describir la variación de la tasa instantánea de calcificación de los corales.
- Describir los cambios en la capacidad y eficiencia de absorción de luz de los corales: cambios en absorptancia (A) y en el coeficiente específico de absorción ($a^* - m^2 \text{ mg Chl}a^{-1}$)
- Determinar la variación estacional en la fisiología fotosintética de las 4 especies de corales: cambios en fotosíntesis máxima (P_{\max}) y en tasa de respiración (R).

MATERIALES Y MÉTODOS.

-Toma de muestras

La colecta de muestras de todos los organismos que se han utilizado en este estudio se llevó a cabo el día 21 de Mayo de 2013, en el arrecife Petempich, a una profundidad de 4-5 m. Dichas muestras (3 colonias diferentes por especie) se extrajeron utilizando martillo y cincel, las cuales fueron fragmentadas y cortadas (aproximadamente 70 fragmentos por especie), para después ser pegadas en una placa enumerada y llevar el registro de estas (Anexo fotográfico). Las especies con las que se trabajó fueron *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

Posteriormente, las placas con los fragmentos de coral ya montados, se llevaron al arrecife posterior de la laguna arrecifal de Puerto Morelos, a una profundidad aproximada de 5 metros, donde se encuentra una zona de trabajo denominada SPA, (20° 52' 48.9" N, 86° 50' 59.34" W) y unas mesas con carriles en las que se colocaron los organismos (Anexo fotográfico). Los corales se trasladaron a este lugar de la laguna para facilitarles su aclimatación después del estrés inicial resultado de extraerlos, fragmentarlos y pegarlos en las placas, y aclimatarlos a las condiciones ambientales en las que se desarrolló este estudio. Las muestras se dejaron un mes de recuperación en el SPA, antes de iniciar la descripción experimental, ya que ese tiempo es suficiente para que se aclimaten y los organismos vuelvan a calcificar.

Al terminar el proceso de aclimatación, se comenzó el análisis fisiológico de las muestras, realizando mediciones en campo y también en el laboratorio. La señal de fluorescencia se medía *in situ* sobre los organismos situados en la laguna, y periódicamente, se extraían 4 corales pertenecientes a cada una de las especies a analizar y se hacían las mediciones fisiológicas. Posteriormente, las muestras eran

extraídas y procesadas en el laboratorio para la descripción de los cambios estructurales en el contenido de pigmentos, conteos celulares, etc.

-Exposición y temperatura

Los cambios en la temperatura que se observaron desde el inicio del experimento hasta su fin, se midieron con registros locales por medio de *HOBO data loggers*, que fueron colocados en el SPA y que registraron la temperatura cada 5 minutos. Cuando se trasladaban los organismos experimentales al laboratorio para ser procesados, se sacaban los HOBO's y descargaban los datos en la computadora, para así poder ir describiendo a lo largo del año la variación de la oscilación diaria y estacional de la temperatura del agua y estimar los valores promedio por día. Asimismo, la luz fue medida a lo largo del día por el Servicio Meteorológico de la UASA, Puerto Morelos, con un irradiómetro Li-1400 LI-COR Datalogger (Lincoln, Nebraska, USA). Se calculó la integral de la variación diurna en irradiancia, estimando los valores de exposición de luz ($\text{mol quanta m}^{-2} \text{ día}^{-1}$) que variaron dependiendo fundamentalmente de las condiciones atmosféricas, tales como lluvias y nubes.

-Fluorimetría de clorofila a

Para monitorear los cambios en la fisiología fotosintética de los corales, se emplearon mediciones de fluorescencia de la clorofila *a*, que es un método no destructivo que permite detectar respuestas inmediatas de los organismos a los cambios ambientales. La fluorescencia de la clorofila *a* de los dinoflagelados simbióticos se registró con un fluorómetro sumergible de pulsos de amplitud modulada PAM (Waltz, Alemania). El rendimiento cuántico máximo de la separación de carga del fotosistema II (F_v/F_m) es una medida de la eficiencia en hacer fotoquímica del PSII (Fotosistema II). Este valor máximo se registró al atardecer cerca de la puesta de sol, y permite registrar el daño por luz acumulado

en el día y que queda reflejado en disminución de la eficiencia por la acumulación de fotosistemas II inactivos (incapaces de reducir al segundo aceptor estable de electrones Q_B) (Anexo fotográfico).

-Determinación de Reflectancia

Para la determinación de los espectros de reflectancia de los corales se siguió la metodología propuesta por Enríquez *et al.* (2005). Estos espectros fueron medidos entre longitudes de onda de 400-700 nm. Los organismos eran sumergidos en agua de mar dentro de un contenedor con fondo negro. A dichas muestras se les administró iluminación homogénea y difusa con varias fuentes de luz (halógena en anillos, diodos y una fuente de luz incandescente) para cubrir todo el espectro de emisión del PAR (400-700 nm). La iluminación desde abajo se proyectaba sobre una semiesfera de madera, recubierta con pintura blanca mate altamente reflectante, que era la que funcionaba como fuente de luz difusa, la cual estaba colocada a 25 cm por encima de la superficie coralina (Anexo fotográfico).

La luz reflejada se recolectaba con una fibra óptica acoplada a un espectrorradiómetro Ocean Optics USB 4000 (Ocean Optics, Dunedin, USA, Anexo fotográfico). Este detector se colocaba bajo el agua, a una distancia aproximada de 1cm de la muestra coralina, formando un ángulo de 45° con la superficie coralina (Anexo fotográfico). La reflectancia se expresa como la fracción/proporción de la radiación incidente sobre la superficie coralina que es reflejada por ésta. Las medidas absolutas de la luz reflejada se refieren a la luz reflejada por una superficie blanca (esqueleto de coral blanqueado), que es usada como referencia del 100% de la luz incidente de emisión.

La absorptancia (A) o capacidad de absorción de luz del coral, se define como la fracción de luz incidente absorbida por una superficie, y puede ser cuantificada a partir de mediciones de la reflectancia, asumiendo que el esqueleto coralino tiene una mínima transmisión, inferior al error de la determinación ($T < 1\%$). Dicho valor

se obtiene con la fórmula: $A = 1 - R$, en donde R es el valor determinado de la reflectancia (R). Este valor de la **Absoptancia** (A), es utilizado para poder cuantificar la dosis de luz que es absorbida por una superficie coralina.

-Mediciones de fotosíntesis/respiración

Las tasas de respiración y fotosíntesis se cuantificaron mediante incubaciones en cámaras de acrílico, un respirómetro, hecho en el laboratorio utilizando electrodos de oxígeno tipo-Clark (Hansatech Inc.) y siguiendo el protocolo descrito por Rodríguez-Román *et al.* (2006) y Colombo-Pallota *et al.* (2010). Las cámaras de acrílico tenían camisa de agua para el control de la temperatura durante la incubación a través de un sistema de baño recirculador (RTE-100/RTE 101LP; Neslab Instruments, Portsmouth, NH, USA). La temperatura de incubación para cada determinación fue el promedio de la temperatura del SPA durante el periodo de tiempo al que había estado expuestos los organismos experimentales desde la determinación anterior. Cada una de las cámaras contenía un agitador magnético para asegurar suficiente agitación para romper la capa límite durante la incubación y homogenizar la concentración de oxígeno y su registro por el electrodo. La luz era suministrada por medio de unas lámparas de halógeno colocadas aproximadamente a 15 cm por encima de las cámaras (Anexo fotográfico). Las intensidades luminosas en el interior de las cámaras eran calibradas con el sensor de luz de un Diving PAM (Waltz) previamente calibrado contra un sensor plano corregido por coseno Li-1400 LI-COR Datalogger (Lincoln, Nebraska, USA). La intensidad de luz de la incubaciones fue de $500 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$.

-Calcificación

Las tasas de calcificación se midieron utilizando la técnica de la anomalía de alcalinidad (Smith y Kinsey 1978), la cual se basa en el principio de los cambios

que se inducen sobre la proporción de dos equivalentes de alcalinidad total con la pérdida de un ión divalente (Ca^{++}) por cada mol de CaCO_3 precipitado. Para evitar interferencias con otros procesos que involucran también a iones divalentes (p. ej. absorción de fosfato), sólo se trabajó en las incubaciones con agua oceánica que se recolectaba de la zona exterior de la laguna arrecifal. Esta agua es completamente oligotrófica y está libre de cualquier presencia de nutrientes que pudiera interferir en estas determinaciones (Merino 1997). Esta agua oceánica se colectaba el mismo día de las incubaciones, se filtraba ($0.45 \mu\text{m}$) y almacenaba hasta su uso inmediato en las incubaciones. No se trabajaba con agua almacenada por más de una semana.

Con respecto a las incubaciones, para cada una de las muestras, estas se hicieron en cámaras de acrílico de 200 ml equipadas con bombas sumergibles internas para mantener un flujo de agua constante. Asimismo, se mantenía una temperatura del agua constante, la cual era el promedio de la temperatura del SPA durante el periodo de tiempo al que había estado expuestos los organismos experimentales desde la determinación anterior. Para realizar las incubaciones, se suministraba una luz con una intensidad de $500 \mu\text{mol quanta m}^{-2} \text{s}^{-1}$, la cual era provista por una fuente de luz de halógeno, que se encontraba encima de las cámaras transparentes (Anexo fotográfico).

La intensidad lumínica fue calibrada utilizando el sensor de luz de un Diving PAM (Heinz, Walz, Alemania) previamente calibrado contra un sensor corregido a coseno (Li-Cor). Las incubaciones se realizaban durante una hora y se registraba simultáneamente los cambios en la concentración de oxígeno (fotosíntesis) por medio de un electrodo de oxígeno, y se tomaba una muestra del agua antes y después de la incubación para determinar los cambios que se habían producido en el agua resultado de la actividad de calcificación del coral.

Al agua recolectada al final de la incubación, se le agregaron unas gotas de cloroformo, con la finalidad de detener cualquier tipo de actividad biológica que

podiera cambiar las propiedades de la muestra. Asimismo, se añadió cloroformo a una muestra de agua de mar filtrada inicial, sin coral incubado, el cual sirvió como punto de referencia en los valores iniciales del agua de la incubación.

El método de anomalía de la alcalinidad se basa en el principio de que la alcalinidad total, o capacidad de neutralizar los iones de (H^+) del agua no está afectada por la fotosíntesis o la respiración, pero sí se encuentra afectada por la calcificación (o disolución) debido a que la precipitación de 1 mol de $CaCO_3$, reduce la alcalinidad por 2 equivalentes molares. La cantidad total de "C" inorgánico en el agua de mar (ΣCO_2), sin embargo, sí esta afectada por la respiración, por la fotosíntesis y por la calcificación. Por esta razón, el método desarrollado por Yao y Birne (1998), así como Smith y Kinsey (1978) mejor conocido como la técnica de la anomalía de la alcalinidad, es comúnmente utilizado para medir tasas de calcificación en organismos arrecifales (Colombo-Pallota *et al.* 2010, Gattuso *et al.* 1999, Gattuso *et al.* 2000)

Para las determinaciones de calcificación coralina, se realizaron análisis por triplicado de cada una de las muestras, considerando una SD, para las mediciones de alcalinidad de menos de 5mmol. Se llevó a cabo una microtitulación, con HCl 0.1 N, el cual era administrado por una jeringa que a su vez, era dosificada por una bomba para jeringas (Kd Scientific Inc., Holliston, USA), en una cubeta con alrededor de 15 ml de muestra y con N_2 que era bombeado constantemente. El colorante RCP se añadía a la muestra de agua, antes de la titulación .

Asimismo, durante esta titulación, se monitorearon los cambios a 432, 589 y 750 nm por medio de un espectroradiómetro Ocean Optics USB 4000 (Ocean Optics, Dunedin, USA), en conjunto con una fuente de luz xenon (PX-2, Ocean Optics, Dunedin, USA). La temperatura del agua era registrada con un termómetro digital al final de la titulación. Para la medición adecuada de esta determinación, se utilizó una muestra de referencia certificada, cuya alcalinidad ya era conocida, del laboratorio de Física Marina (Instituto Scripps de Oceanografía, USA).

-Análisis de pigmentos.

El tejido coralino fue extraído del esqueleto con agua de mar filtrada, y utilizando una pistola Waterpik. Este material fue homogenizado con un homogenizador de tejido, para posteriormente ser centrifugado a 2000 rpm durante 10 min. La pastilla resultante de esa centrifugación, se resuspendió en 5 ml de agua de mar filtrada, de la cual se extrajeron 0.5 ml para los conteos celulares y se preservaron en 200µl de lugol. Los pigmentos fotosintéticos se extrajeron en acetona al 90% a la cual se añadió dimetil sulfóxido (20:1 V:V; Iglesias-Prieto *et al.* 1992) y la concentración de clorofila a se determinó espectrofotométricamente a 675 nm. Se utilizaron las ecuaciones propuestas por Jeffrey y Humphrey (1975) para determinar la concentración de clorofila a y c.

-Densidad de simbioses

Las densidades de los dinoflagelados simbioses se hicieron con muestras de 1 ml, preservadas en formol. Se calcularon a partir de conteos en hemocitómetro de manera replicada (n=8), así como de sus determinaciones de superficie y área, a partir de correlaciones entre el peso y el área de una cubierta de aluminio empleada. (Anexo fotográfico).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados que se obtuvieron para cada uno de los parámetros estudiados durante todo el año, iniciando desde Mayo del 2013 hasta Junio de 2014 se presentan a continuación:

-Exposición y temperatura

Durante el año del experimento, la temperatura más baja registrada fue en el mes de Enero, de 24.6°C y la temperatura más alta corresponde al mes de Julio con 30.7°C. El valor más bajo de la exposición lumínica fue de 0.11 mol m⁻² día⁻¹, para el día 20 de Enero de 2014 mientras que el más alto con un valor de 47.44 mol m⁻² día⁻¹ para el día 25 de Junio de 2013 (Tabla 1).

Tabla 1. Exposición (luz) y temperatura promedio por mes durante el tiempo del proyecto, así como valores máximos y mínimos, comparados con los datos del periodo 1993-2005 en la misma zona.

Mes	Exposición diurna promedio (mol m⁻² día⁻¹)	Temperatura promedio 2013-2014 (°C)	Temperatura promedio para el periodo 1993-2005
Mayo	39.25	29.05	28.20
Junio	33.63	29.25	28.60
Julio	35.98	29.43	29.40
Agosto	35.36	29.87	29.90
Septiembre	27.09	28.98	29.50
Octubre	26.86	29.31	28.40
Noviembre	26.05	28.25	26.80
Diciembre	24.86	25.55	25.70
Enero	19.28	26.24	25.10
Febrero	29.71	26.85	25.30
Marzo	32.98	27.35	25.80
Abril	34.63	28.00	26.80
Mayo	35.53	28.46	28.20
Junio	32.32	28.63	28.60
Mínima	0.11	24.62	25.10
Máxima	47.44	30.75	29.90

Se puede observar en la tabla anterior y en la figura 1 que los cambios en la luz y temperatura a lo largo del año son muy dinámicos, ya que algunos factores como las nubes y lluvias afectan fuertemente la variación de la irradiancia que llega a la laguna arrecifal, así como el efecto de la luz sobre el calentamiento del agua en esta laguna somera.

Temperatura y Exposición

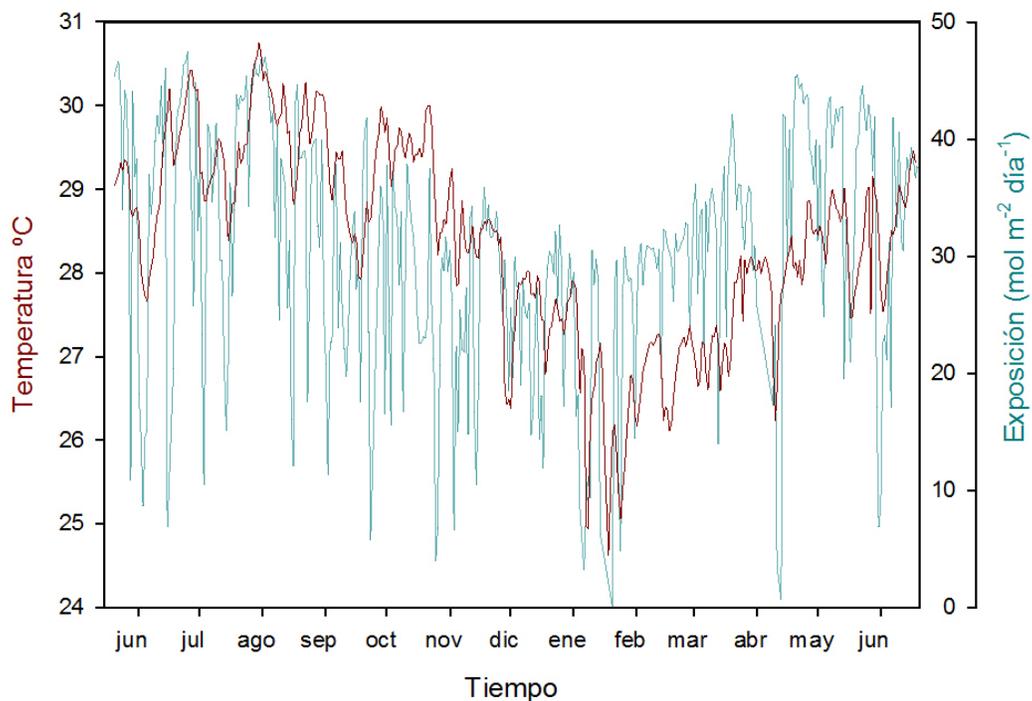


Figura 1. Variación de la exposición (luz) y la temperatura del agua en la laguna arrecifal de Puerto Morelos a lo largo del periodo Mayo 2013-Junio 2014 en que se desarrolló el presente trabajo.

Como se observa en la tabla 1, los valores de temperatura promedio por mes, son en algunos meses, distintos a los valores registrados por el Servicio Académico Oceanográfico y Meteorológico de la UASA, Puerto Morelos, durante el periodo 1993-2005 (Rodríguez-Martínez *et al.* 2010). De manera particular, durante los meses de invierno e inicios de primavera, los valores de temperatura en este trabajo se registraron significativamente mayores a los del promedio del periodo

1993-2005, es decir, se observó un invierno y primavera excepcionalmente más cálidos en comparación al periodo anterior (Figura 2).

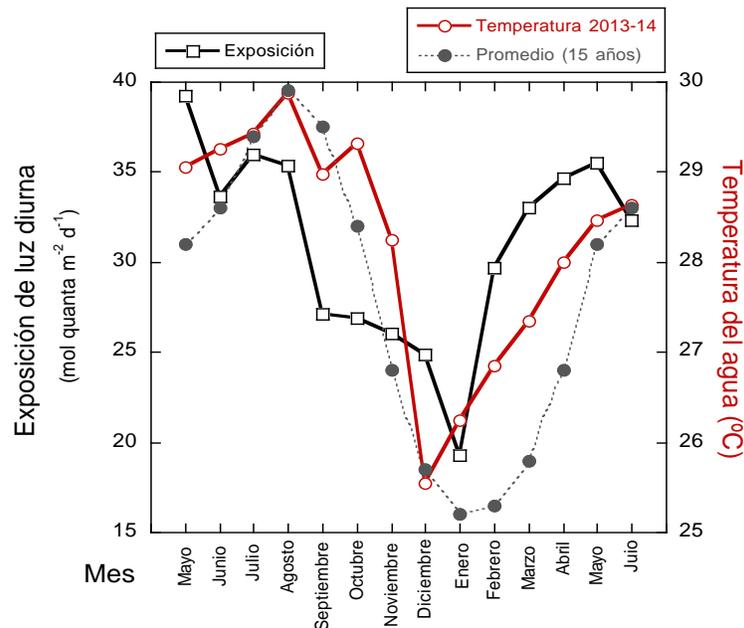


Figura 2. Variación de los promedios mensuales de la exposición (luz) y temperatura del agua en la laguna arrecifal de Puerto Morelos a lo largo del periodo Mayo 2013-Junio 2014 en que se desarrolló el presente trabajo.

Algo que cabe mencionar con respecto a la temperatura, es la importancia de monitorear constantemente y observar que no se llegue a temperaturas que puedan ser estresantes para los corales y rebasen ciertos límites de tolerancia conocidos como “umbral de blanqueamiento” (NOAA). Para poder determinar este umbral, se toma en cuenta un término conocido como MMM (Maximum Monthly Mean). Dicho término hace referencia al promedio mensual más alto de temperatura, es decir, el mes más cálido en el ciclo estacional, y de este mes se saca la media máxima mensual. Un grado por encima del MMM, es considerada como la temperatura del umbral de blanqueamiento. Cuando la SST (Temperatura Superficial del Mar, por sus siglas en inglés “Sea Surface Temperature”) es más

caliente que el umbral de blanqueamiento, los corales experimentan estrés térmico, lo cual se considera la principal causa del blanqueamiento coralino.

Para esta zona, el valor del MMM según la NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration), es de 29°C, y el umbral de blanqueamiento es considerado a partir de los 30°C. Sin embargo, debido a la resolución espacial que emplean, estos valores pueden tener cierto grado de error, lo cual es el caso para esta zona, ya que basándonos en los datos promedio de temperatura que tiene el Servicio Académico Oceanográfico y Meteorológico de la UASA, Puerto Morelos, durante el periodo 1993-2005, se observa que realmente el MMM para esta zona es de 30°C. No obstante, desde ambas perspectivas (NOAA y datos locales), en la zona, no se experimentó un verano especialmente caliente (Figura 3).

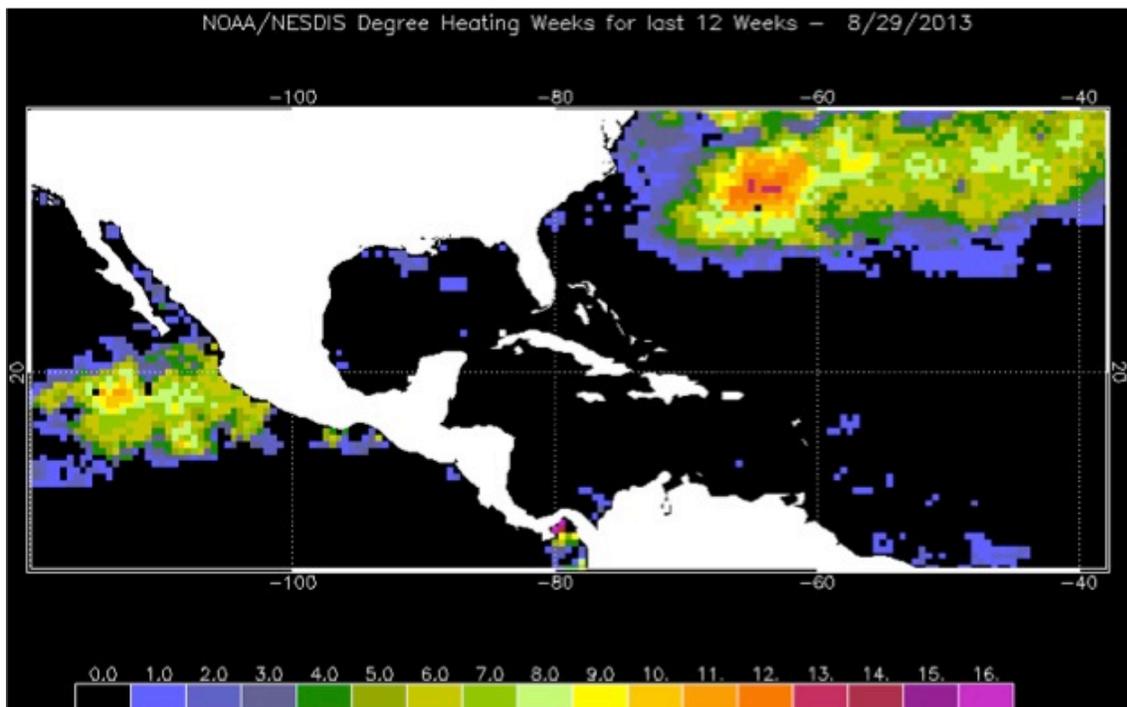


Figura 3. Grados de estrés térmico empleando la escala DHW de la NOAA. Las zonas en color negro indican que no hubo estrés térmico en el área que abarca, los cambios en el color y los valores (1-16) indican grado de estrés desde leve a severo.

Aún así, aunque el verano en el cual se realizó el experimento no fue particularmente estresante, se puede observar que se presentaron ciertas anomalías térmicas, es decir, aquellos momentos en que se superó el valor del MMM, sin llegar a ser mayores que el umbral de blanqueamiento. Estos eventos de anomalías térmicas nos permiten darnos una idea del grado de “estrés” que pueden experimentar los organismos, así como poder ver si tuvieron un efecto en la fisiología de estos. Durante todo el tiempo que duró el experimento, a lo largo del ciclo anual, se presentaron 6 eventos en los cuales la temperatura superficial del mar rebasó el valor del MMM. Dichos eventos (Tabla 2), su duración, temperaturas promedio así como sus valores de anomalía son:

Tabla 2. Eventos de anomalías térmicas, mayores al MMM de Puerto Morelos (30°), duración, temperaturas promedio y máximas alcanzadas

Evento	Duración (días)	T° promedio (°C)	T° máxima alcanzada (°C)	Valor de la anomalía (°C)
16-jun-13	1	30.20	30.20	0.20
24 – 30 junio 2013	7	30.25	30.42	0.42
26 julio – 6 agosto 2013	12	30.36	30.75	0.75
11 y 12 agosto 2013	2	30.14	30.26	0.26
21 y 22 agosto 2013	2	30.16	30.28	0.28
27 – 31 agosto 2013	5	30.13	30.16	0.16

Caracterización fisiológica y estructural de los organismos experimentales:

Analizando los promedios por especie de los parámetros estudiados, así como sus coeficientes de variación (Tabla 3), se observa que su variabilidad estacional no es de la misma magnitud y que las diferencias entre especies son para algunos parámetros muy relevantes. Los cambios más importantes se observaron en la tasa de calcificación (promedio CV=104%), y en el cociente P/R (promedio CV= 96%), especialmente el de las dos *Orbicellas*. En promedio, las tasas de fotosíntesis y de respiración también mostraron una variabilidad estacional

significativa (59% para la fotosíntesis y 54% para la respiración) y mayor que la que se estimó para la variación de la pigmentación del coral (51%), así como la pigmentación de *Symbiodinium* (49%). La variabilidad de a^* en las dos *Orbicellas* (> 54%) fue mayor que en *P. strigosa* (41.4%) y *M. cavernosa* (36.5%). El número de células simbiotes del tejido presentó la mayor variabilidad en *P. strigosa* (50.6%) y *O. annularis* (39.9%) así como la menor en *O. faveolata* y *M. cavernosa* (33% y 31% respectivamente).

Por último, los parámetros que presentaron la menor variabilidad fueron la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (Fv/Fm) (12%) y la absorptancia (6%).

Tabla 3. Promedios anuales para los parámetros estudiados en el presente trabajo (con SE±), así como sus coeficientes de variación (C.V. %). Los C.V. subrayados son aquellos que son más altos entre las 4 especies.

Variable	Especies			
	<i>P. strigosa</i>	<i>O. faveolata</i>	<i>M. cavernosa</i>	<i>O. annularis</i>
Células (*10 ⁶)	1.80 ± 0.11 <u>C.V.= 50.56</u>	2.18 ± 0.09 C.V.= 32.97	1.64 ± 0.06 C.V.= 31.40	1.92 ± 0.09 C.V.= 39.85
Ci (pg Chla m ²)	5.40 ± 0.44 <u>C.V.= 65.13</u>	3.15 ± 0.15 C.V.= 39.19	5.83 ± 0.29 C.V.= 39.75	2.79 ± 0.18 C.V.= 52.99
Absorptancia 675 nm	0.84 ± 0.02 C.V.= 5.88	0.89 ± 0.02 C.V.= 6.76	0.89 ± 0.01 C.V.= 5.42	0.86 ± 0.02 C.V.= 5.79
Chla (mg Chla m ²)	77.22 ± 4.17 C.V.= 42.55	69.21 ± 5.14 <u>C.V.= 58.51</u>	92.96 ± 5.17 C.V.= 43.85	52.17 ± 3.92 <u>C.V.= 59.17</u>
Chlc (mg Chlc m ²)	34.42 ± 1.84 C.V.= 42.26	26.85 ± 2.03 <u>C.V.= 59.74</u>	39.49 ± 2.28 C.V.= 45.54	19.98 ± 1.47 <u>C.V.= 58.11</u>
Fotosíntesis (μmol O ₂ cm ² hr ⁻¹)	1.153 ± 0.101 <u>C.V.= 65.68</u>	1.297 ± 0.101 C.V.= 58.67	0.972 ± 0.074 C.V.= 56.98	1.050 ± 0.077 C.V.= 55.22
Respiración (μmol O ₂ cm ² hr ⁻¹)	0.648 ± 0.045 C.V.= 52.22	0.723 ± 0.050 C.V.= 52.63	0.562 ± 0.042 C.V.= 56.52	0.630 ± 0.045 C.V.= 54.27
P/R	2.06 ± 0.15 C.V.= 55.17	2.29 ± 0.24 <u>C.V.= 80.43</u>	2.08 ± 0.14 C.V.= 52.05	1.63 ± 0.43 <u>C.V.= 197.76</u>
Calcificación (μmol CaCO ₃ cm ² hr ⁻¹)	0.165 ± 0.020 C.V.= 93.44	0.123 ± 0.016 C.V.= 103.41	0.086 ± 0.013 C.V.= 115.51	0.174 ± 0.024 C.V.= 104.05
a^* Chla 675 nm	0.028 ± 0.001 C.V.= 41.39	0.042 ± 0.002 <u>C.V.= 54.35</u>	0.031 ± 0.001 C.V.= 36.50	0.055 ± 0.003 C.V.= 54.26
Fv/Fm	0.58 C.V.= 7.76	0.57 C.V.= 12.34	0.53 C.V.= 15.13	0.57 C.V.= 11.85

- **Variabilidad estacional del contenido de células simbiotas:**

La variabilidad estacional en el número de células simbiotas presentó importantes diferencias entre especies (Figura 3).

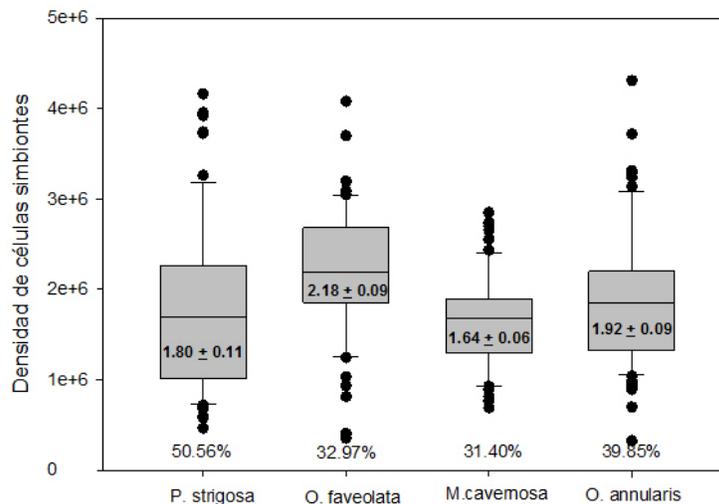


Figura 3. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) de la densidad de simbiotas en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis* descrita como cambios en el # células por m².

P. strigosa fue la especie que presentó la mayor variabilidad a lo largo del año (los mayores y menores valores) por otra parte, las dos *Orbicellas* presentaron en promedio mayor contenido de células simbiotas. Se encontraron diferencias muy importantes entre las cuatro especies analizadas en el patrón de variación estacional de este parámetro (Figuras 3 y 4). La especie que presentó la menor densidad de simbiotas durante todo el año (Figura 3), y menor variación estacional para este parámetro fue *M. cavernosa* ($1.64 \cdot 10^6$ # células por m² y 31.40% respectivamente). Por otra parte, *O. faveolata* presentó el valor promedio mayor ($2.18 \cdot 10^6$ # células por m²) y *P. strigosa* la que mayor variabilidad presentó a lo largo del año (50.56%).

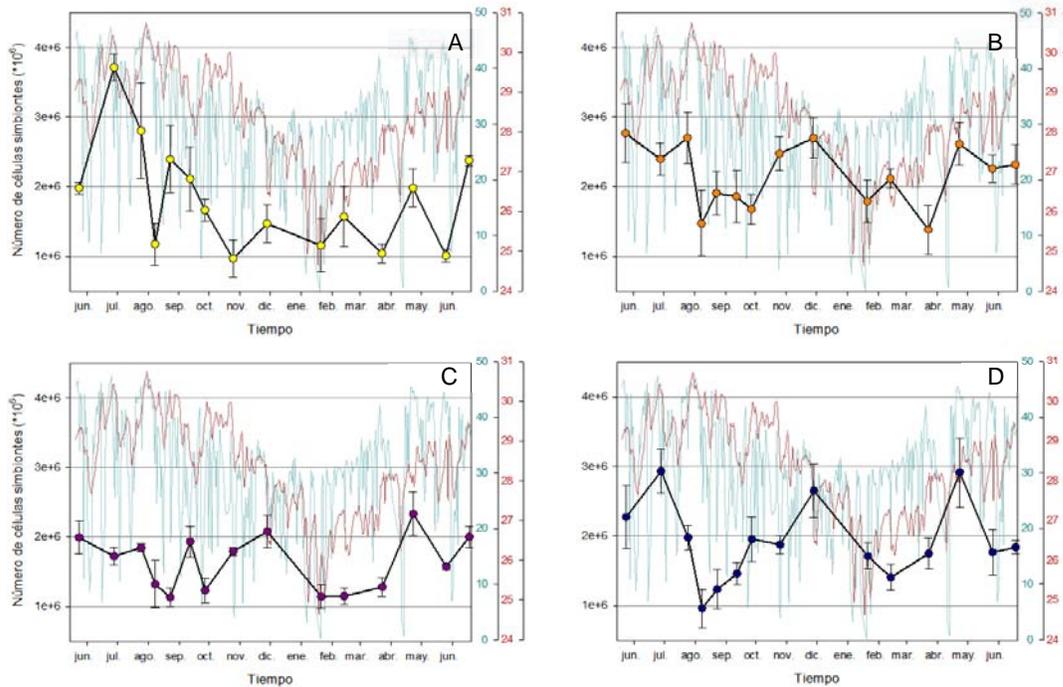


Figura 4. Variación estacional del número de simbiontes en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

En la figura 4 se puede apreciar la variabilidad estacional del número de simbiontes de las cuatro especies analizadas. Estos resultados indican que el patrón anual documentado previamente por Fagoonee *et al.* (1999) y Fitt *et al.* (2000) con un máximo anual en invierno y un mínimo en el verano no se pudo observar claramente en este estudio. Las dos *Orbicellas* parecen experimentar dos mínimos anuales y no un único mínimo como se había documentado. Por otra parte, *M. cavernosa* incluso mostró un descenso mayor y prolongado del número de simbiontes al final del invierno e inicio de la primavera (Figura 4C).

Un mínimo anual en invierno en el número de simbiontes de los corales escleractíneos no ha sido hasta ahora documentado. Por otro lado, *P. strigosa* no presentó ningún patrón estacional de variación claro (Figura 4A), aunque el gran descenso del número de simbiontes que esta especie experimentó en octubre del 2013 no llegó a recuperarse hacia los valores iniciales para la siguiente primavera (2014), pero sí lo hicieron los valores de las otras tres especies (Figura 4).

En el caso de *O. faveolata*, se aprecia claramente que hubo un descenso en el número de células simbiotes a partir de agosto, y que este número se mantiene en esos valores bajos hasta finales del mes de septiembre, incrementando durante el invierno y volviendo a descender conforme avanza éste hasta el inicio de la primavera. Al final de la primavera, en el mes de Abril, e inicio del verano, estos valores aumentan otra vez y se mantienen altos y similares a los determinados al principio de este ciclo anual (Figura 4B).

O. annularis presentó un patrón similar al encontrado en *O. faveolata*, con los valores más altos de células simbiotes durante el mes de julio, noviembre y abril (Figura 4D). Sin embargo, después de Abril del 2014 no mantuvo constante su número de simbiotes sino que experimentó un fuerte descenso en este, aunque no se encontraron diferencias significativas en el número de células simbiotes entre Junio de 2014 y Junio de 2013 (Figura 4D).

Por otro lado, *M. cavernosa* fue la especie que presentó menores cambios en la concentración de células simbiotes, y el menor promedio anual. Al igual que las dos *Orbicellas*, sus densidades de simbiotes bajan en el mes de agosto, para aumentar conforme termina el verano y se avanza hacia el invierno, y de nuevo vuelven a descender al final del invierno, en los meses de febrero y marzo del 2014.

Para analizar un poco más en detalle esta variación, se calcularon los valores promedios mensuales de luz y temperatura (Figura 5), y se delimitaron cuatro periodos: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio). Se compararon los patrones de variación estacional de las cuatro especies, y se observaron coincidencias a pesar de la gran variabilidad que se reconoció entre las cuatro especies. Por ejemplo, los contenidos mínimos de *Symbiodinium* coincidieron en las cuatro especies con el máximo de temperatura

del agua registrado en el mes de agosto del 2013, pero en particular, con el segundo evento más caliente del agua de la laguna (Figura 5).

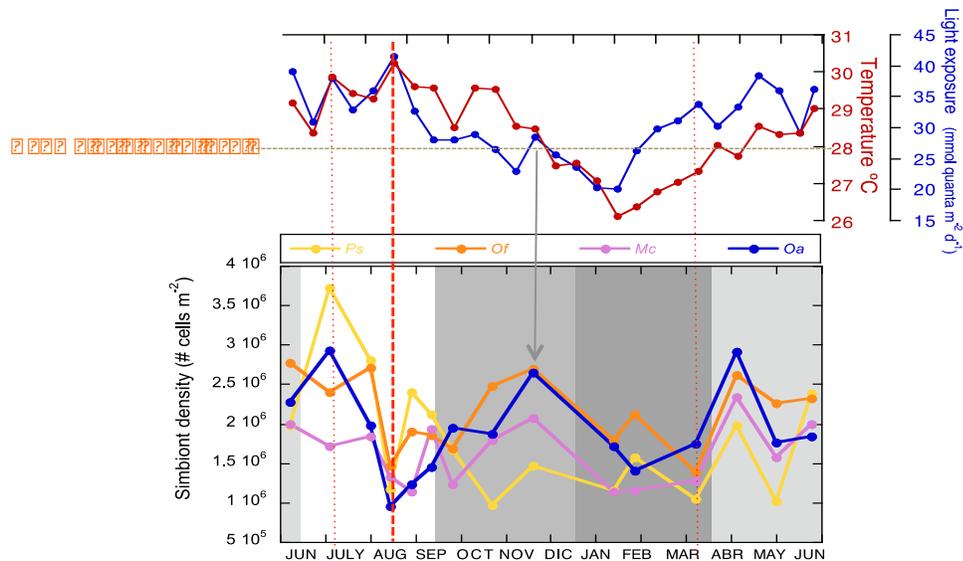


Figura 5. Variación para cada periodo en el número de simbioses en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

También se observó un segundo mínimo del contenido de simbioses en todas las especies al final del invierno e inicio de la primavera (marzo 2014; Figura 5). Por otro lado, valores máximos del contenido de células simbioses se registraron al final de la primera etapa de transición (en el mes de Noviembre de 2013) en tres especies, las dos *Orbicellas* y *M. cavernosa* (Figura 5), pero también a inicios del verano. Sólo la especie *P. strigosa* incrementó fuertemente su población de simbioses a inicios del mes de Julio, coincidiendo con el primer evento prolongado de temperatura del agua levemente por encima de 30°C (Figura 5). *O. annularis* también mostró asociado a ese evento un incremento significativo del número de células pero no así *O. faveolata* y *M. cavernosa* que presentaron la respuesta contraria: una leve disminución (Figura 5).

Las cuatro especies también experimentaron un incremento significativo en el número de células en el mes de Abril, coincidiendo con un incremento de la

temperatura del agua que alcanzó ya valores alrededor del óptimo fisiológico local de 28°C. Este máximo se detectó justo después del mínimo invernal (Figura 5). Para *P. strigosa*, no se observó un patrón de variación estacional claro, con una variabilidad en el número de simbiosomas muy diferente al de las otras tres especies. Esta especie mostró una gran oscilación en la variación del contenido de simbiosomas.

En general, el análisis de esta variación a lo largo de un único ciclo anual no permitió confirmar la variación estacional descrita previamente por Fagoonee *et al.* (1999) y Fitt *et al.* (2000), quienes documentaron un máximo anual en invierno y un mínimo en el verano, pero no reportaron un segundo mínimo anual en el contenido de células simbiosomas al final del invierno como se observó en este estudio claramente para tres especies. Este segundo mínimo pudo deberse a la situación excepcional de las condiciones del agua de la laguna, especialmente más calientes para el invierno y primavera del 2014, pero quizás puede reflejar una variación estacional consistente para la latitud de la laguna arrecifal de Puerto Morelos, que quizás no esté presente en otras latitudes (Isla Mauricio en el Indo-Pacífico para Fagoonee *et al.* 1999; o Bahamas en Fitt *et al.* 2000), o que no haya podido ser detectada debido a la menor resolución temporal de las caracterizaciones anteriores (en el caso de Fitt *et al.* (2000) fue de tres meses = 90 días).

Por otro lado, este estudio permitió confirmar el efecto adverso de eventos moderados de incremento de la temperatura menores a 1°C por encima del valor local de MMM (30°C), que se vieron reflejados claramente en una pérdida significativa de células simbiosomas en las cuatro especies examinadas. Un pequeño evento de incremento moderado de la temperatura ($T^{\circ}\text{C} < 31^{\circ}\text{C}$) durante 12 días fue suficiente para inducir una pérdida de simbiosomas muy significativa (52.80% de pérdida, Figura 5). Sin embargo, un evento anterior de sólo siete días y con un incremento de la temperatura similar (0.1°C inferior en promedio) no provocó una pérdida significativa de simbiosomas. Más aún, incluso en dos

especies, *O. annularis* y *P. strigosa* parece que indujo un incremento en la población de *Symbiodinium* en el tejido del coral (Figura 5).

Una observación que se pudo hacer también en este estudio es que la recuperación de la población de simbioses que se observa en la etapa de transición I (meses de septiembre a noviembre) no continúa durante el invierno (Fig. 5). En los inicios de este estudio asumimos que el número de células no sería muy variable en invierno y decidimos que la caracterización destructiva no sería tan intensa en invierno. Ello nos condujo a ampliar el intervalo de esta caracterización en invierno, por lo que no sabemos cuándo se alcanzó exactamente el máximo estacional del número de células después de la recuperación a lo largo de la etapa de transición I. Lo que sí se puede concluir de este análisis es que desde el máximo valor determinado en Noviembre se produjo un descenso importante del número de simbioses en la siguiente determinación del mes de Enero del 2014 (Figura 5).

De forma similar, entre el mes de Marzo y Abril se observa también un incremento significativo del número de células simbioses coincidiendo con el incremento de la temperatura del agua (Figura 5). En los dos periodos, la temperatura del agua descendió (durante el invierno) y ascendió (durante la primavera) significativamente con respecto al óptimo fisiológico local de 28°C. Por tanto, se podría interpretar a partir de este análisis, que no sólo las elevadas temperaturas del verano (anomalías térmicas) son capaces de inducir pérdida significativa de simbioses, sino que también descensos de la temperatura ambiental por debajo del óptimo fisiológico podrían afectar negativamente también a la población de simbioses de los corales escleractíneos.

- Variabilidad estacional de la pigmentación del holobionte (Densidad de clorofila a):

De manera general con respecto a la variación estacional del contenido de pigmentos de los organismos experimentales, en concreto de la Clorofila a por unidad de área (sección transversal de pigmentos), se observó que las cuatro especies estudiadas difieren significativamente en su pigmentación. Dos especies, *P. strigosa* y *M. cavernosa* tienen mayor pigmentación (Figura 6). y las otras dos especies *O. faveolata* y *O. annularis* fueron menos pigmentadas (Figura 6).

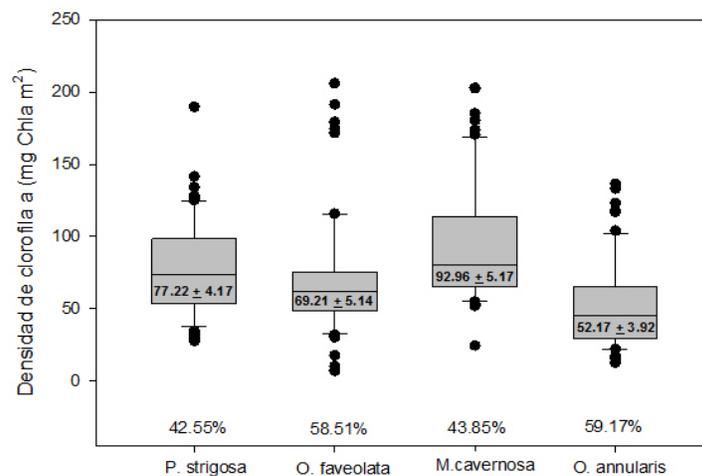


Figura 6. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) de la pigmentación de *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis* descrita como cambios en la densidad de clorofila a (mg Chla m⁻²).

Algo que cabe mencionar es que las 2 especies que presentaron un mayor contenido de pigmentos, *P. strigosa* y *M. cavernosa*, son también las que presentaron un menor coeficiente de variación estacional en la pigmentación. Por otra parte, *O. faveolata* y *O. annularis*, presentaron coeficientes de variación muy similares y relevantes > 50% (58.51 y 59.17% respectivamente, Figura 6).

De manera general para las cuatro especies se puede observar como los valores en la densidad de clorofila a van descendiendo progresivamente desde el inicio de

este monitoreo (Junio 2013) conforme avanza el verano, alcanzando valores mínimos a mediados del mes de agosto, lo que coincide con los valores más altos de temperatura (Figura 7).

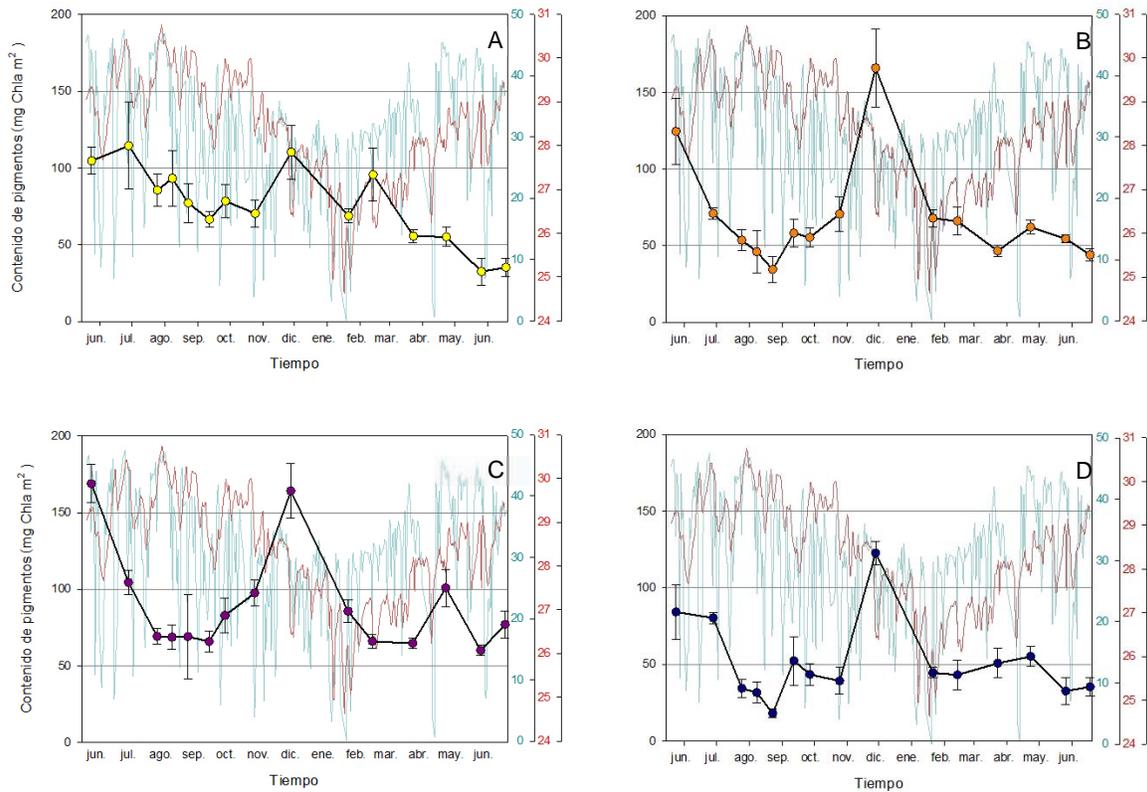


Figura 7. Variaciones estacionales en la concentración de Chl a, en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

Los valores mínimos de pigmentación los presentó *O. annularis* y los máximos *M.cavernosa*. Coincidiendo con un descenso de la temperatura del agua en Septiembre, se inicia el proceso de recuperación de la pigmentación en tres especies (las dos *Orbicellas* y *M. cavernosa*), aunque *O. annularis* mostró una interrupción de esta recuperación con el nuevo episodio de calentamiento del agua de la laguna que se observó en los meses de Octubre y Noviembre. A finales del mes de Noviembre, todas las especies, incluida *P. strigosa*, mostraron un significativo aumento de la pigmentación (Figura 7) hasta alcanzar un máximo en el mes de Diciembre (Figura 7). Sin embargo, a partir de ese máximo, se observó

una progresiva pérdida de pigmentación hasta registrarse en el mes de Junio del 2014 valores similares o incluso menores a los mínimos determinados en el verano del 2013 (Figura 7).

Comparando la variación estacional de las cuatro especies, se observó un patrón similar, lo que indica que los cambios en la pigmentación de los corales experimentales obedecieron a una presión ambiental similar.

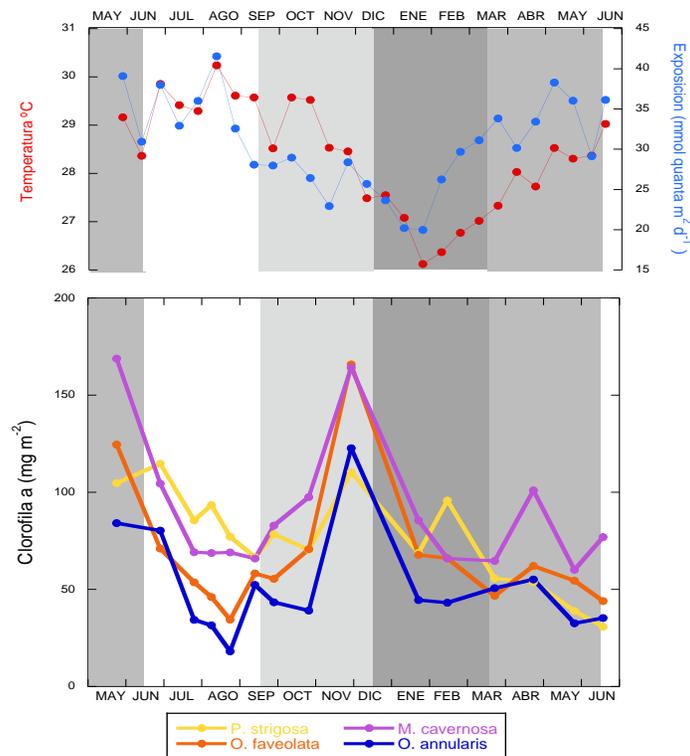


Figura 8. Variación para cada periodo en la densidad de clorofila en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

El mismo patrón de variación estacional del contenido de pigmentos (Chla) se observó en las cuatro especies (Figura 8). Los valores más bajos se observaron casi todo el año en *O. annularis*, aunque *P. strigosa*, quien había presentado la mayor pigmentación en el verano del 2013, mostró valores tan bajos de la

pigmentación como *O. annularis* en Junio del 2014. Por el contrario, *M. cavernosa* fue la especie que mostró al inicio del monitoreo, en la recuperación del invierno y al final del año, los mayores valores de su pigmentación (Figura 8).

Utilizando los valores promedios de las cuatro especies y aplicando un filtro del 30% (equivalente a 4 meses considerando los 392 días de análisis), se pudo describir un patrón común de variación en la densidad de pigmentos de todos los organismos experimentales (Figura 9). Este patrón común indica que se produjo en verano, una pérdida de pigmentación similar en todos los organismos, y posteriormente, en la etapa de transición (octubre-noviembre) una recuperación también parecida hasta alcanzar similares o incluso superiores en las dos *Orbicellas*, a la pigmentación observada al inicio del verano (Junio 2013). En el invierno, sin embargo, se produjo en todos los organismos una fuerte reducción de la pigmentación, misma que continuó en la primavera hasta alcanzar al inicio del segundo verano valores incluso inferiores a los que se determinaron durante el periodo más caliente del mes de agosto de 2013 (Figura 9).

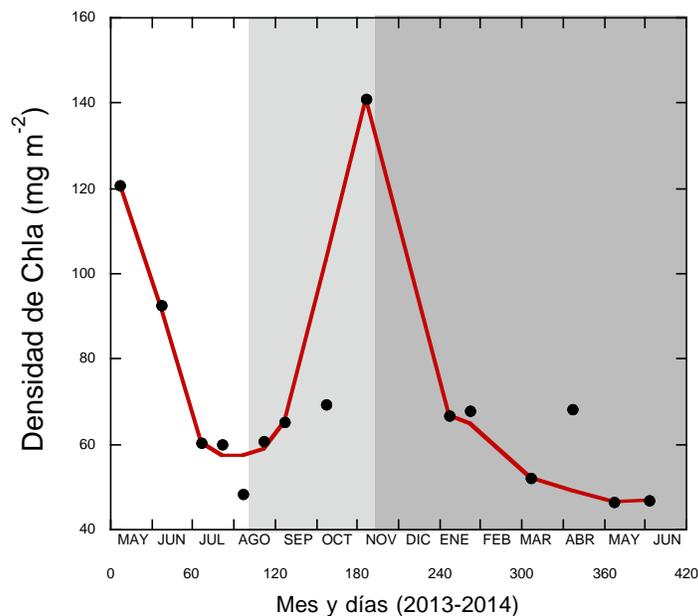


Figura 9. Patrón de variación estacional en la densidad de clorofila *a* común para las cuatro especies examinadas, descrito a partir de los valores promedios de las cuatro especies y aplicando un filtro del 30% (4 meses, 3 temporadas).

Según este patrón estacional se puede concluir que la descripción de la variación de la pigmentación a lo largo de varios ciclos anuales documentada por Fitt *et al.* (2000) con mínimos en el verano y máximos en el invierno, no se ha podido confirmar en este estudio. Tampoco esta variación muestra los dos mínimos anuales observados para el número de simbioses (Figura 5), sino un descenso muy significativo de la pigmentación de los organismos en verano y asociados a los periodos de mayor temperatura del agua, así como una clara recuperación de la pigmentación hasta el inicio del invierno, cuando la temperatura desciende del óptimo fisiológico, en donde se volvió a observar una nueva y progresiva pérdida de pigmentos hasta alcanzar en Junio del 2014 valores similares a los mínimos del verano del 2013 (Figura 9).

Considerando que los organismos experimentales eran trozos de aproximadamente 30 cm², aislados de su colonia y expuestos a mayores limitaciones de recursos, pero también a mayor nivel de radiación, ya que se colocaron sin inclinación simulando ser la parte apical de la colonia, la respuesta observada no sólo refleja el cambio estacional asociados a los cambios de la luz y la temperatura, sino la aclimatación de los organismos en el invierno y primavera a alta luz. Es decir, en condiciones de menos recursos y mayor radiación solar, todos los organismos fotosintéticos expresan una respuesta común: la reducción de la pigmentación para reducir la energía absorbida en exceso y potencialmente dañina para la actividad fotosintética.

-Variabilidad estacional de la Absorptancia.

La variabilidad estacional de las absorptancias fue mucho menor que la de la pigmentación de los organismos (5.9% vs 9.1% en promedio, Figura 10).

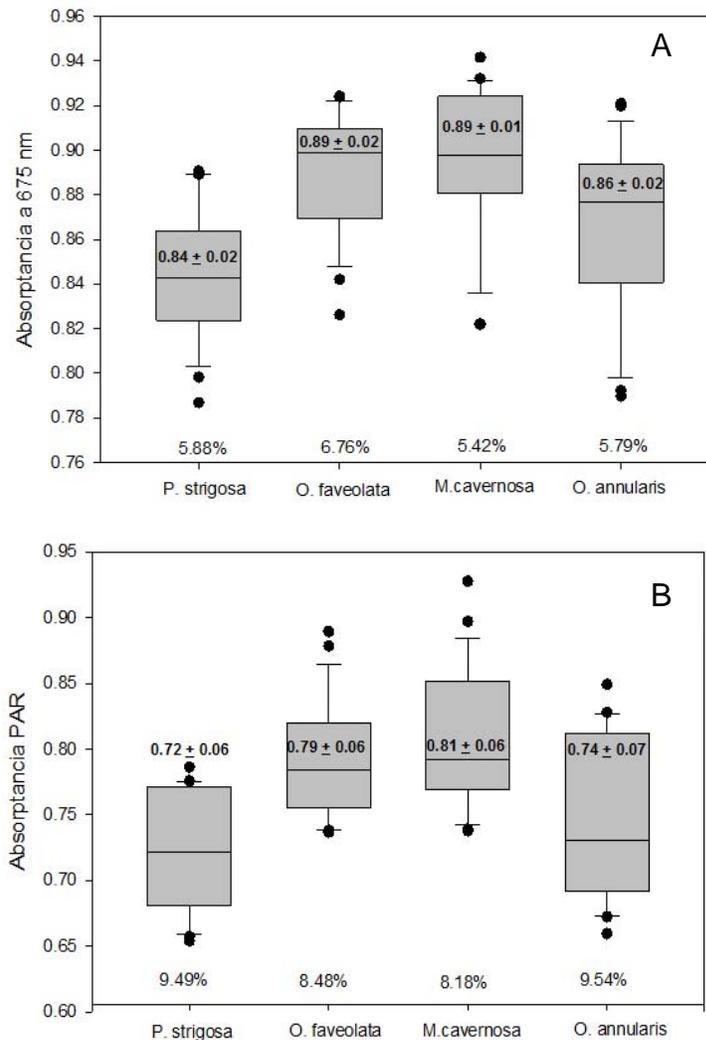


Figura 10. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) en los valores de absorptancia a 675 nm (10-A) y en el espectro del PAR (10-B) para *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

No se encontraron diferencias entre las cuatro especies en los valores de absorptancia a 675nm (Figura 10). Ninguna de las especies presentó un valor promedio de A_{675} menor a 0.80 en el transcurso del año, lo que indica que con

independencia de los cambios en la cantidad de pigmentos accesorios, un mismo pigmento, la clorofila *a*, fue capaz de absorber >80% de la luz incidente en todos los organismos experimentales. No se encontraron diferencias entre especies en los coeficientes de variación.

A pesar de la pequeña variabilidad estacional observada en la absorptancia, sus implicaciones funcionales son muy relevantes, pues determinan los cambios en la capacidad de colectar la energía lumínica para el mantenimiento de la actividad fotosintética y también calcificadora del coral. Para examinar las implicaciones funcionales de los cambios estacionales observados en la pigmentación de los organismos experimentales se comparó primero la asociación entre la pigmentación y la absorptancia (Figura 11).

Se pudo observar que valores de este descriptor aumentan de forma no lineal con el incremento de la pigmentación (Figura 11) y que esta disminución es mucho mayor en el valor del promedio del rango del visible (A_{PAR} , 400-700 nm) que en el pico de absorción de la clorofila *a* a 675 nm (A_{675})

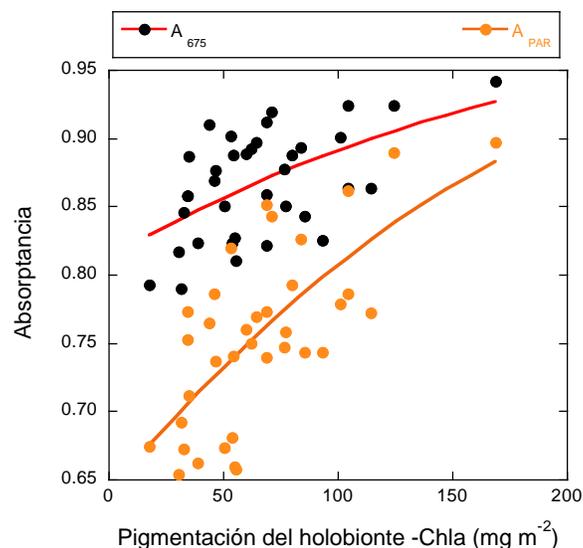


Figura 11. Variación de la absorptancia (A_{PAR} y A_{675}) con la densidad de clorofila *a*. A_{PAR} ($R^2= 0.10005$), A_{675} ($R^2= 0.009$).

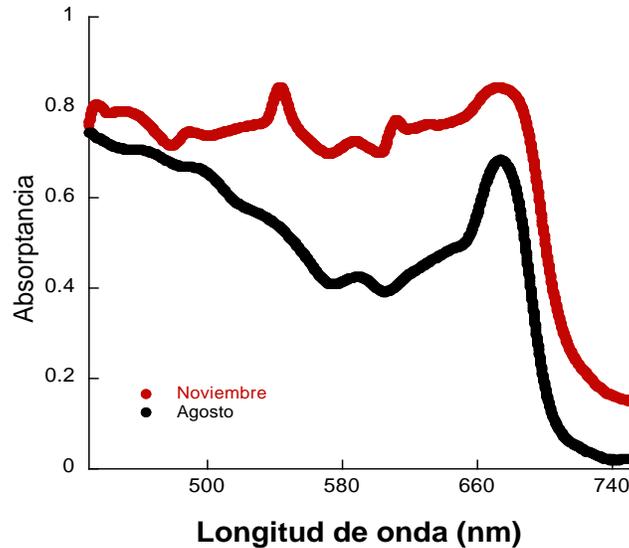


Figura 12. Variación espectral de la Absorptancia en dos ejemplares de *O. annularis* con diferente densidad de clorofila a, para el mes de Agosto (negro) y Noviembre (rojo)

Los patrones estacionales de variación también mostraron diferencias significativas entre los dos descriptores. Los valores de absorptancia en las longitudes de onda correspondientes de los 400 a los 700 nm (PAR), presentaron mayores cambios a lo largo del año que los de A_{675} , con una clara tendencia, similar a la de la pigmentación, a reducirse al final del año en todos los organismos (Figuras 12 y 13). Esta tendencia no se observa tan claramente en el descriptor A_{675} de las dos *Orbicellas* (Figura 13), lo que permitió reconocer dos mínimos anuales en la capacidad de absorción de luz de estas dos especies (primavera y final del verano-otoño), y un máximo anual en el invierno.

En *M. cavernosa* y *P. strigosa*, estos dos mínimos anuales no se observaron y el patrón de variación se asemeja más al de A_{PAR} . En *M. cavernosa* se observó una progresiva disminución de A_{675} desde la primavera hasta el final del verano-otoño hasta su recuperación en un máximo invernal (Figura 13). En *P. strigosa* se observa, sin embargo, una disminución más rápida de A_{675} en primavera hasta alcanzar los mismos mínimos valores del verano anterior. Según esta variabilidad, se puede concluir que se expresa una respuesta a alta luz (menor pigmentación y

absorción de luz) durante el verano y asociado a las elevadas temperaturas, pero también al final del invierno e inicio de la primavera (Figura 13).

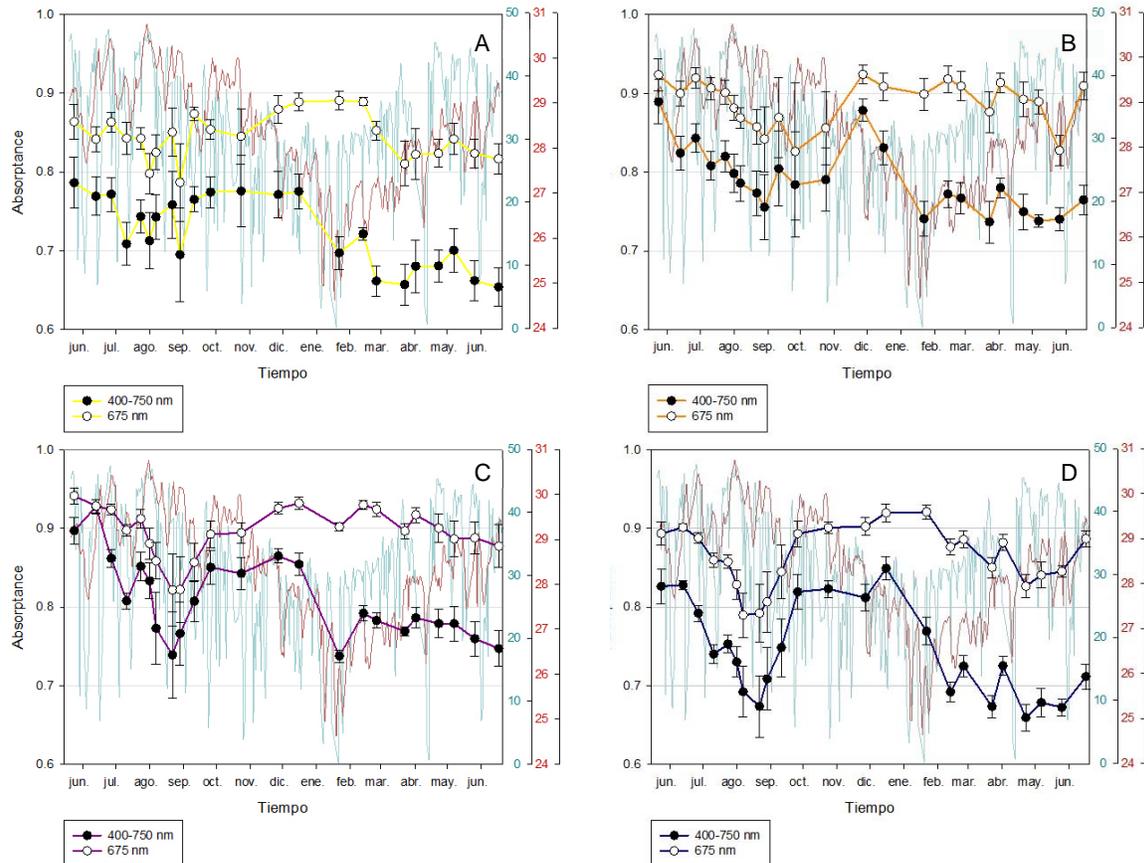


Figura 13. Variaciones estacionales en la absorptancia (675 nm y PAR) en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

Comparando las cuatro especies (Figura 14) se observa un patrón similar en las cuatro aunque con ligeros desfases en la recuperación de la pigmentación en el otoño. *P. strigosa* y *O. faveolata* presentaron un mayor retraso en alcanzar los máximos del invierno (Figura 14 A-B) mientras que *O. annularis* y *M. cavernosa* alcanzaron estos máximos varios meses antes (Figura 14 C-D). *P. strigosa* es la especie que mostró a lo largo del año los valores menores de Absorptancia y *M. cavernosa* los mayores (Figura 14A). Al final del año, es también esta especie, la

que mostró la menor absorptancia ($A_{675} = 83\%$) significativamente menor que el valor que mostraron las otras tres especies ($A_{675} = 90\%$).

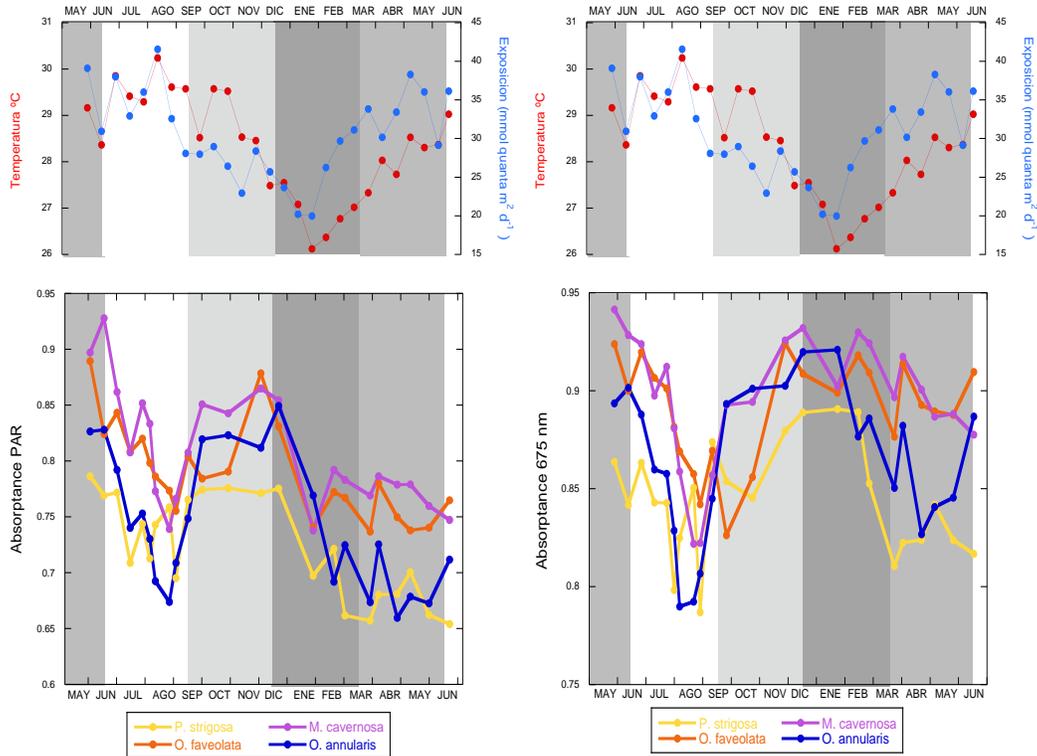


Fig 14. Variación estacional de la absorptancia a 675nm y en el promedio del PAR para *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

Para determinar si los cambios en la pigmentación y la absorptancia son una respuesta fotoaclimatativa inducida por un incremento del fotodaño se analizó la variación estacional de F_v/F_m

-Variabilidad estacional de Fv/Fm

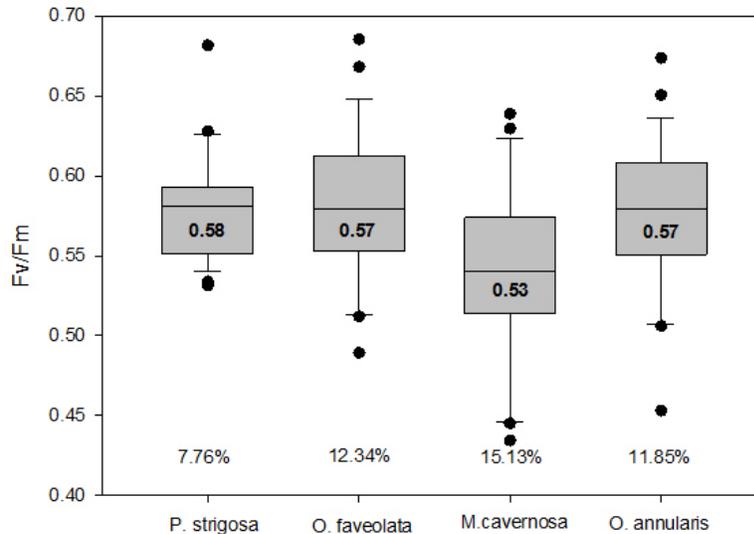


Figura 15. Promedio y coeficiente de variación (unidades porcentuales) de Fv/Fm de las cuatro especies. en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

De manera general, con respecto al parámetro Fv/Fm, se observa que los valores promedio correspondientes a las 4 especies son similares (Figura 15), siendo la especie *M. cavernosa*, la que presentó los valores mas bajos (0.53) además de ser la que mayor variación presentó a lo largo del año (15.13%; Tabla 3). Por otra parte, la especie que presentó el mayor valor promedio de Fv/Fm así como el menor coeficiente de variación durante todo el año fue *P. strigosa* (0.58 y 7.76% respectivamente).

A pesar de ser el descriptor que presentó el menor coeficiente de variación, y de que su variabilidad es mucho más dependiente de las diferencias puntuales en la radiación solar entre el día muestreado y el día anterior, se puede observar en la figura 16 que Fv/Fm presenta una variabilidad significativa en el transcurso del año, y que esta variabilidad fue similar en las cuatro especies (Figuras 16 y 17).

Los valores menores se observan en el verano (junio a septiembre) y al inicio de la primavera (marzo). Los cambios en verano coinciden con las mayores temperaturas del agua, en particular de los dos eventos de calentamiento por encima del valor local de MMM (pequeñas anomalías térmicas registradas), que coinciden con los dos mínimos de F_v/F_m observados en verano para todas las especies (Figuras 16 y 17).

El mínimo valor de F_v/F_m que se registró en Marzo coincide con el inicio de la primavera y, por tanto, a un aumento progresivo de la disponibilidad de luz y temperatura del agua (Figura 16). A partir de Abril, todas las especie comienzan a acumular fotodaño hasta presentar los mínimos valores en el verano coincidentes con los dos eventos de estrés térmico.

La rápida reducción de la luz después del segundo evento de estrés térmico que coincide con una disminución de la temperatura del agua, indujo una rápida recuperación del daño acumulado en el verano en las cuatro especies. Estas observaciones confirman que el efecto combinado de la luz y el estrés térmico explican la acumulación de fotodaño en *Symbiodinium* en el verano y su respuesta a alta luz (pérdida de pigmentación y de capacidad de absorción de luz), lo que se refleja en la variación de F_v/F_m .

Por otro lado, la aclimatación de los organismos en primavera (abril) al incremento de la temperatura y de la luz, también se reflejó en una progresiva acumulación de fotodaño (reducción de F_v/F_m) que se inició en el mes de Abril del 2013 y que continuó en el verano, según los resultados observados al inicio de esta descripción.

En las cuatro especies se observó el mismo patrón de variación (Figuras 16 y 17). También se observan diferencias entre ellas en la variabilidad de F_v/F_m , pues *M. cavernosa*, es la especie que presentó los valores más bajos en los meses de

agosto y febrero, aunque similares a los de *O. annularis* en Febrero. Por otro lado, *P. strigosa* y *O. faveolata*, parecen contener al simbionte más robusto y/o menos sensible a acumular daño por luz.

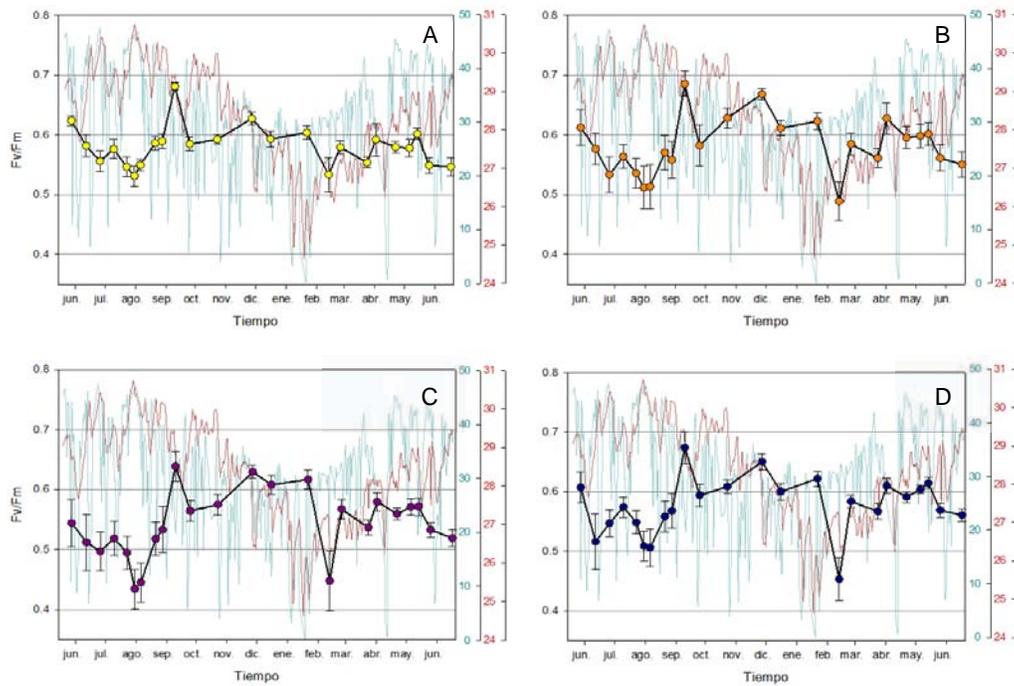


Figura 16. Variaciones estacionales en los valores de Fv/Fm para cada especie. en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

La figura 17 muestra la total coincidencia en las cuatro especies en la variación de Fv/Fm registrada a lo largo del año.

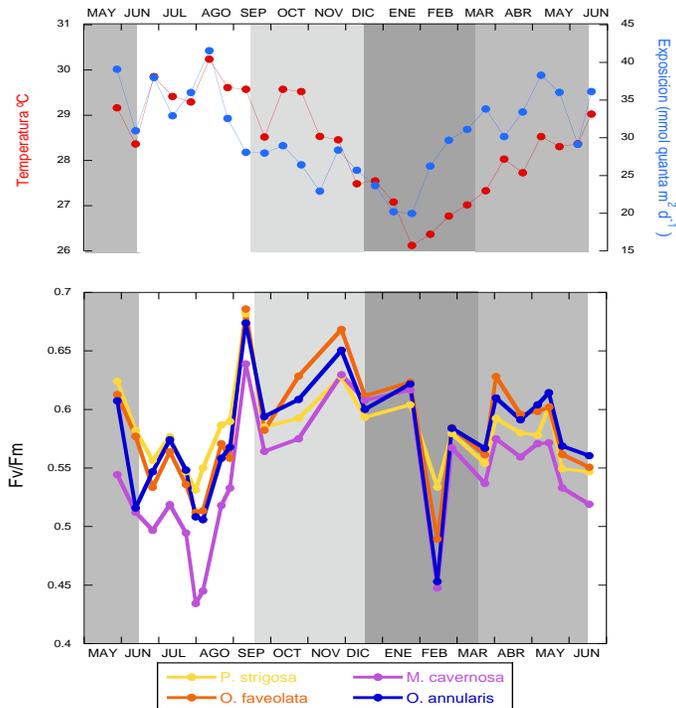


Figura 17. Variación estacional de Fv/Fm en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

El patrón estacional de cambio es exactamente el mismo en las cuatro especies, lo que indica que la variación de Fv/Fm responde a una presión ambiental similar sobre *Symbiodinium*. Este descriptor depende fuertemente de la luz del día anterior y el daño acumulado en el fotosistema II, pero a pesar de esta dependencia, se observa un patrón estacional común tanto en la recuperación como en la acumulación de fotodaño.

Este patrón estacional común se puede observar analizando los promedios de todas las especies (para cada muestreo) y aplicando un filtro del 23% que corresponde a 3 meses y, por tanto, a las cuatro estaciones analizadas (Figura 18):

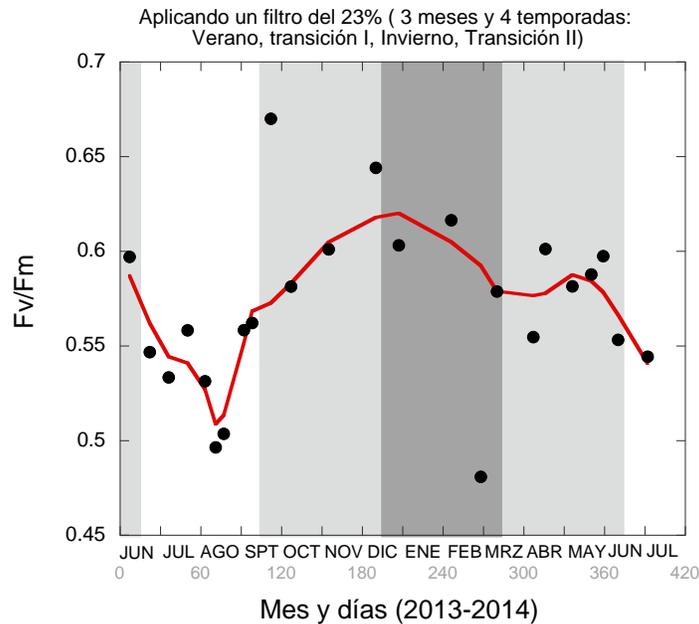


Figura 18. Patrón de variación estacional en Fv/Fm común para las cuatro especies examinadas, descrito a partir de los valores promedio de las cuatro especies y aplicando un filtro del 23% (tres meses).

Según este patrón estacional común, se observa una progresiva acumulación de daño en el verano que se inicia en Mayo, al final de la primavera, y que termina cuando se relajan el estrés térmico y lumínico. La recuperación posterior también termina en el inicio del invierno (Diciembre) cuando la temperatura del agua desciende del óptimo fisiológico, aunque no se pudo determinar un umbral térmico claro asociado a este descenso invernal. Al inicio de la primavera se estabiliza este descenso (se incrementa el número de simbios), pero se volvió a iniciar una progresiva a acumulación de fotodaño en todas las especies en el mes de Mayo, mucho antes de detectarse anomalías térmicas o temperaturas particularmente elevadas.

Según estos resultados, el descenso de Fv/Fm no ocurre sólo en el verano, se observa desde la primavera y a pesar de que la luz ya no incrementa tan claramente, sino que ya se había alcanzado un máximo de exposición en Mayo (Figura 17). Esta caída progresiva de Fv/Fm inicia cuando la temperatura del agua supera los 28°C, y se observa en las cuatro especies con similar magnitud (no hay diferencias significativas entre especies): $P. strigosa = -0.00067 \pm 0.0002 \text{ día}^{-1}$ ($R^2 =$

0.779, $p < 0.05$); *O. faveolata* = $-0.00092 \pm 0.0003 \text{ día}^{-1}$ ($R^2 = 0.83$, $p < 0.05$); *M. cavernosa* = $-0.00087 \pm 0.00034 \text{ día}^{-1}$ ($R^2 = 0.76$, $p < 0.05$); y *O. annularis* = $-0.00069 \pm 0.0003 \text{ día}^{-1}$ ($R^2 = 0.68$, $p < 0.05$).

En el verano, los dos mínimos se observan en los dos momentos en que la temperatura del agua supera los 30°C, valor que coincide con el máximo mensual del verano para esta zona (MMM) según el promedio registrado en el Servicio de Hidrología y Meteorología de la UASA. Este valor local de MMM se considera el umbral térmico de tolerancia regional, pero anomalías de sólo +1°C ya resultarían estresantes (Hotspots según la NOAA) para los corales de esta región. Según nuestros resultados, la acumulación de fotodaño no ocurre sólo en el verano y coincidente con los periodos de mayor estrés térmico (temperatura > 30°C), sino que se observa desde que la temperatura del agua supera el óptimo fisiológico de los corales de esta región (28°C). Es decir, este descenso de Fv/Fm y la acumulación progresiva de fotodaño parece deberse principalmente al efecto combinado de luz y temperatura > 28°C.

Los dos eventos de estrés térmico en los que se llegan a superar los 30°C de temperatura, se vieron atenuados debido a que se presentaron tormentas y lluvias, permitiendo de esta manera una recuperación rápida en los valores de Fv/Fm y evitando así una fuerte acumulación de fotodaño y la disrupción de la simbiosis. Sin embargo, fue suficiente para inducir una fuerte pérdida de pigmentación (Figura 8) y de simbiosis (Figura 5). En un mes y gracias a una rápida disminución del estrés lumínico, Fv/Fm se recuperó rápidamente en las cuatro especies alcanzando los mayores valores del año en el mes de septiembre.

Posteriormente, el paso de varios frentes de tormentas que están reflejados en una caída brusca de la temperatura promedio del agua al finales de septiembre (Figura 17), Fv/Fm también disminuye hasta iniciar una progresiva recuperación en la etapa de Transición 1, asociada al decremento estacional en la exposición lumínica y la temperatura. El parámetro Fv/Fm alcanza valores máximos hasta

finales de noviembre. Las tasas de recuperación por día del fotodaño acumulado fueron muy similares en las cuatro especies, del orden del 18-20% de recuperación de actividad del fotosistema II. La pendiente estimada fue un orden de magnitud superior a la tasa de acumulación de daño observada en primavera. *M. cavernosa* presentó la tasa menor de recuperación ($0.0055 \pm 0.0001 \text{ día}^{-1}$; $R^2 = 0.96$, $p < 0.05$), mientras que se observaron valores similares en las otras tres especies (*O. annularis* = $0.0060 \pm 0.0001 \text{ día}^{-1}$; $R^2 = 0.95$, $p < 0.05$; *O. faveolata* = $0.0061 \pm 0.0001 \text{ día}^{-1}$; $R^2 = 0.96$, $p < 0.05$; *P. strigosa* = $0.0062 \pm 0.0002 \text{ día}^{-1}$; $R^2 = 0.77$, $p < 0.05$).

El fin de la recuperación coincide con el descenso de la temperatura del agua por debajo del óptimo fisiológico local de 28°C. En el invierno, se estabiliza el valor de Fv/Fm y a finales del invierno e inicios de primavera, como consecuencia del incremento en la exposición lumínica, se observó un descenso rápido de Fv/Fm en las cuatro especies, que llega a producir similares mínimos a los que se registraron en el Verano cuando se presentaron los dos periodos de anomalía térmica ($> 29^\circ$). Sin embargo, este descenso de Fv/Fm es rápidamente contrarrestado por la fisiología del holobionte que consigue recuperarse y volver a tener valores similares de Fv/Fm a finales del mes de febrero e incrementarlos hasta que se inicia en el periodo de transición de invierno a verano (primavera) la acumulación progresiva de fotodaño cuando la temperatura del agua asciende por encima de 28°C (Figura 17).

De todos estos resultados, se puede sacar la conclusión de que *M. cavernosa* es la especie que fue más sensible a acumular fotodaño y esto se vió especialmente en verano y en primavera. Por contraste, *P. strigosa* es la especie que mostró la menor afectación por estrés lumínico en verano, incluso en el segundo episodio de estrés térmico en Agosto de 2013. Por otro lado, *O. faveolata* es la especie que consiguió las mayores recuperaciones en otoño aunque la recuperación de Fv/Fm fue muy rápida en las cuatro especies en el momento que se relaja la luz y

también el estrés térmico (< 30°C), alcanzando los valores mayores estimados al final del verano (Septiembre), justo en el equinoccio.

Sin embargo, la acumulación progresiva de fotodaño, a una tasa un orden de magnitud más lenta que la recuperación, se produce no sólo durante los eventos de estrés térmico sino desde la primavera, y se reflejó en los organismos en una significativa pérdida de pigmentación. Esto ocurrió desde que la temperatura del agua supera el óptimo fisiológico que en esta región de 28°C.

Una respuesta estacional común entre las cuatro especies se observó por tanto en Fv/Fm y también en la pigmentación del holobionte, (Figura 8) la absorptancia (Figura 14) pero no en los cambios en el número de simbiontes del tejido (Figura 5) los cuales parecen tener un componente específico en cada especie. Para entender los cambios en la pigmentación del holobionte y en su respuesta aclimatativa a alta luz y a la acumulación de fotodaño, es necesario analizar los cambios en la pigmentación de *Symbiodinium*:

- **Variabilidad estacional del contenido de pigmentos de *Symbiodinium* (Ci):**

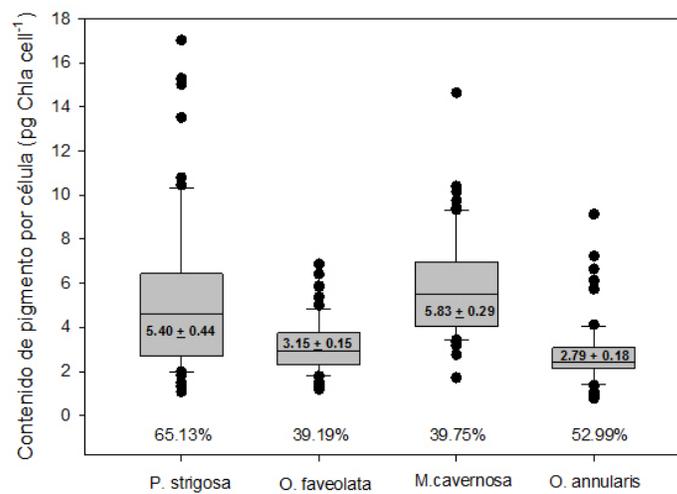


Figura 19. Promedio y coeficiente de variación (unidades porcentuales) del contenido de Chl a por célula en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

La variación estacional del contenido de pigmento por célula (Ci) de *Symbiodinium* presentó grandes diferencias entre las cuatro especies (Figuras 19 y 20). Las dos *Orbicellas* presentaron un valor bajo del contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* a lo largo del año, mientras que *P. strigosa* y *M. cavernosa* mostraron valores elevados de Ci y mayor variabilidad de este parámetro entre el 25% y el 75% del intervalo de confianza. *P. strigosa* fue la especie que presentó la mayor variabilidad estacional (65%; figura 19) y *O. faveolata* la menor (39.2%). Similar a los cambios en el número de simbiositos, no se observó un patrón claro de variación estacional en el Ci de *Symbiodinium* (Figura 20). Por el contrario, se observaron grandes diferencias entre las cuatro especies analizadas en estos cambios estacionales (Figura 20). *P. strigosa* mantuvo valores bajos en gran parte del verano, a excepción del mes de agosto, en el cual la concentración aumentó significativamente. En menor grado, esta variación también se observó en las otras tres especies (Figura 20).

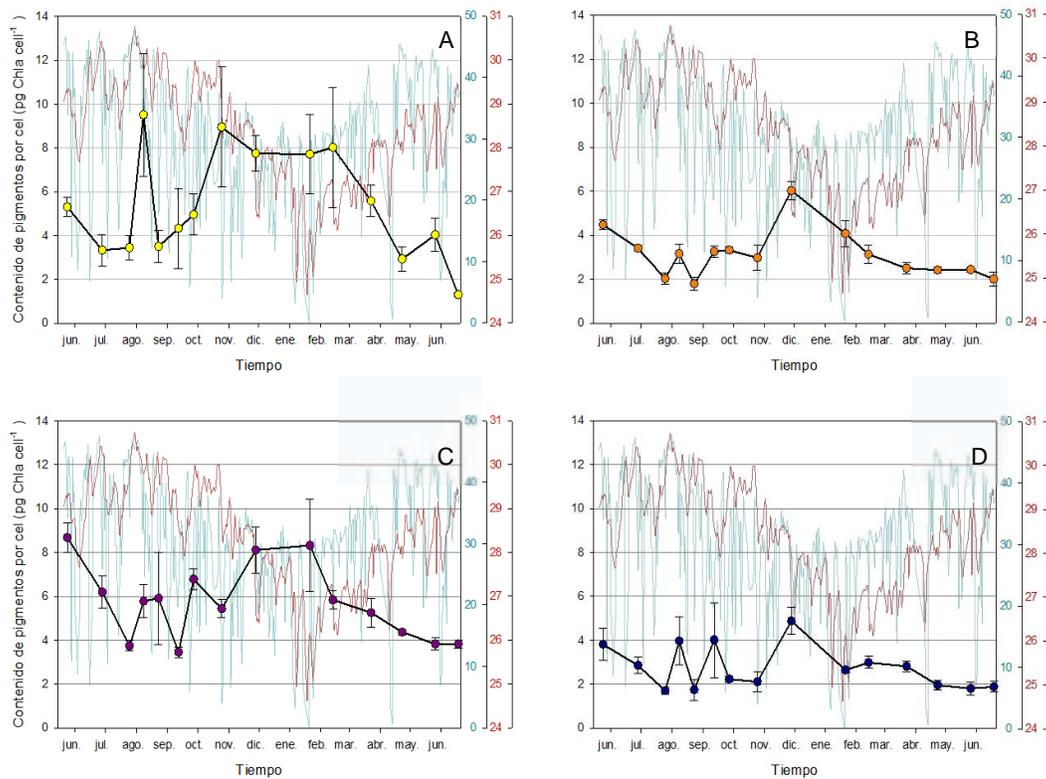


Figura 20. Variación estacional en el contenido de pigmento por célula de *Symbiodinium* in hospite, en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

El pico de pigmentación de *Symbiodinium* observado en el mes de Agosto del 2013, coincidió con el segundo evento de estrés térmico y las mayores pérdidas de simbiontes detectadas en las cuatro especies en el verano. Esto indica que este cambio no puede interpretarse como una respuesta fotoaclimatativa de *Symbiodinium* al estrés térmico y lumínico, pues sería una respuesta contraproducente, sino que estos cambios son consecuencia del tipo de simbiontes que se seleccionaron (no se perdieron) durante el evento de estrés térmico: simbiontes mucho más pigmentados. La mayor pigmentación de estas células la podría explicar quizás el ser simbiontes más resistentes al estrés lumínico y térmico, o bien por tener una fisiología más robusta y/o estar situados en áreas menos iluminadas y, por lo tanto, protegidas del exceso de luz (i.e., refugios).

Valores similares en la pigmentación de *Symbiodinium* se determinaron en el mes de Noviembre para *P. strigosa* que se mantuvieron hasta marzo del 2014 (inicio de la primavera), para después descender en la primavera e inicios del verano (Figura 20 A). Valores mucho mayores al máximo encontrado en agosto se observaron en las otras tres especies hasta el invierno (Figura 20 B,C,D). Este contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* en el invierno fue muy similar al observado al inicio del ciclo anual, en Junio de 2013. Sin embargo, en el mes de Abril para *P. strigosa*, y en Febrero para las dos *Orbicellas* y *M. cavernosa*, se observó en las cuatro especies una progresiva pérdida de pigmentación en *Symbiodinium* que coincide con la pérdida de pigmentación y aclimatación a alta luz encontrada en el holobionte de las cuatro especies. Según estos resultados, la aclimatación a alta luz y la pérdida de pigmentación del holobionte es fruto principalmente de la aclimatación de *Symbiodinium* al ascenso primero de la radiación solar y posteriormente de la temperatura de la primavera del 2014. Estas condiciones, especialmente “más calientes” durante el año estudiado, indujeron una respuesta a alta luz en *Symbiodinium*, expresada en una significativa reducción del contenido celular de pigmentos de todos los dinoflagelados simbiontes in hospite en las cuatro especies, pero no se produjo una pérdida de

simbiontes pues las tres especies recuperaron en la primavera su población inicial (Figura 5).

O. faveolata mostró los valores más elevados de la concentración de pigmentos por célula de *Symbiodinium* durante el mes de noviembre. Sin embargo, a medida que progresa el invierno se observó una tendencia a disminuir y mantenerse en valores bajos hasta los inicios del siguiente verano. Por otra parte, *M. cavernosa* presenta sus valores más altos de contenido de pigmento por célula durante el mes de mayo de 2013, y los más bajos en los meses de julio y septiembre. Una vez pasando el verano y llegando al invierno, el contenido de pigmento por célula incrementa y va disminuyendo conforme inicia la primavera y avanza hacia el verano. De manera similar a *O. faveolata*, *O. annularis*, presenta sus valores más bajos de concentración de pigmento por célula en los meses de julio y la segunda mitad de agosto. Durante los otros meses no se observa diferencia alguna en la concentración a excepción del mes de noviembre que alcanza sus valores más altos.

La pérdida de pigmentación que se observa en las cuatro especies, tanto en *Symbiodinium* como en el holobionte resultó en una fuerte disminución de la pigmentación en todos los organismos experimentales en comparación con los valores determinados al inicio del ciclo anual en Mayo del 2013 para la misma población de organismos. Esto puede deberse a la aclimatación de los organismos no sólo a las condiciones del SPA sino a su nueva condición de “nubbins” (sin apoyo del resto de la colonia) así como su nueva orientación horizontal en la colonia, y, por tanto, de mayor exposición lumínica. Estas nuevas condiciones de mayor iluminación y menores recursos disponibles para la colonia son las que podrían explicar que se haya producido una respuesta a alta luz en primavera en las cuatro especies, reflejada en una significativa reducción de la pigmentación de *Symbiodinium* y del holobionte.

Estos cambios no obedecen, por tanto, a una situación subóptima fisiológica de la simbiosis o a mayor estrés lumínico pues los valores de Fv/Fm son similares en Junio del 2014 a los de 2013, y el contenido de simbiosis es también similar al del 2013 (Figura 5), sino a una nueva condición/solución fotoaclimatativa de la relación simbiótica.

Los cambios en la pigmentación de *Symbiodinium* (Ci) no siguen un patrón común entre las cuatro especies, ni tampoco similar al daño acumulado por luz en *Symbiodinium*. Se esperaría en los simbiosis una reducción del contenido de pigmentos al incrementarse el daño por luz (aclimatación a alta luz), lo que permitiría neutralizar la acumulación de daño (caída de Fv/Fm). Esto sí se observa (caída progresiva del Ci) desde Febrero en *M. cavernosa* y *P. strigosa*, pero en las dos *Orbicellas* se observa desde Noviembre. Las dos anomalías térmicas del verano del 2013 coinciden con dos mínimos de Fv/Fm en todas las especies y dos mínimos desfasados del Ci de *Symbiodinium*, quizás expresando la respuesta de *Symbiodinium* a la pérdida de simbiosis y al incremento del ambiente lumínico dentro del tejido.

Al comparar la variación estacional de estos dos parámetros (Ci y número de células simbiosis) (Figura 21), podemos observar que la fuerte pérdida de simbiosis que ocurrió en el segundo evento de estrés térmico prolongado (12 días) coincide con el pico del Ci en el verano. En el otoño se recuperan los dos parámetros coincidente con la relajación del estrés lumínico y térmico. El máximo de la recuperación del número de células que se determinó en el mes de Noviembre coincide también en las dos *Orbicellas* con el máximo invernal del Ci.

En la siguiente determinación realizada en el mes de Enero del 2014, se observó en las dos especies una disminución significativa tanto en el número de células simbiosis como en el Ci. El contenido de pigmentos de *Symbiodinium* se mantiene bajo hasta el siguiente verano, pero no así el número de células que se recupera en Abril.

En contraste con la respuesta de las dos *Orbicellas*, los simbiosntes de *P. strigosa* y de *M. cavernosa* mantienen alta su pigmentación hasta el inicio del incremento de la luz en primavera, aunque *M. cavernosa* también había sufrido en enero una significativa reducción del número de simbiosntes, y *P. strigosa* no había experimentado la misma recuperación durante el invierno de su población de simbiosntes (Figura 21) Según esto, no sólo la luz ambiental y su efecto sobre *Symbiodinium*, sino también un componente interno del holobionte determinan la respuesta a alta luz de *Symbiodinium* y su reducción de la pigmentación con la consecuente pérdida de capacidad de absorción de luz del holobionte.

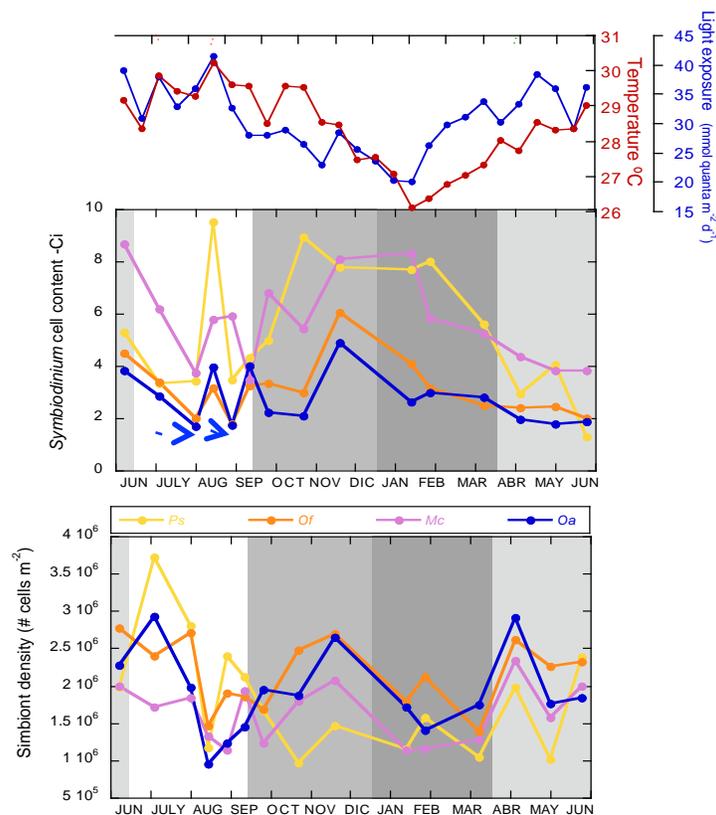


Figura 21. Variaciones por temporada en densidad de simbiosntes y contenido de pigmento por célula (Ci) en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

Sin embargo, ignorando los desfases de la respuesta, se pudo observar en los cambios estacionales en la pigmentación celular de *Symbiodinium*, un patrón similar a los cambios en la pigmentación del holobionte (Figura 22):

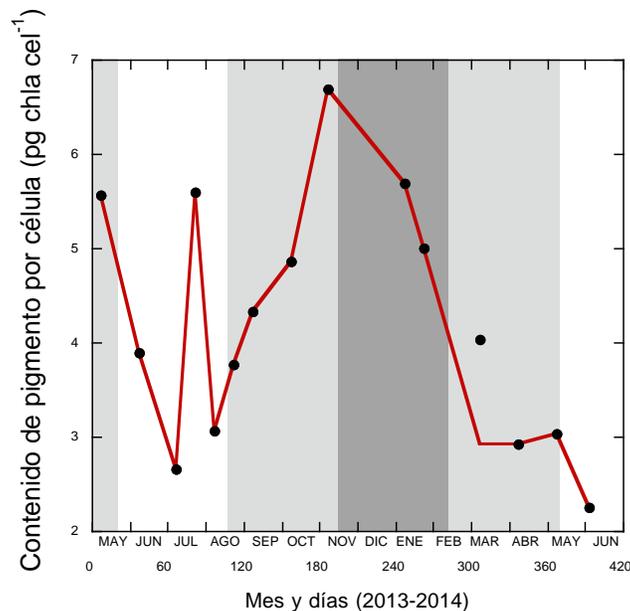


Figura 22. Patrón de variación estacional en el contenido celular de clorofila a de *Symbiodinium*, común para las cuatro especies examinadas, descrito a partir de los valores promedio de las cuatro especies y aplicando un filtro del 23% correspondiente a 3 meses (4 temporadas)

Según estos resultados, los cambios en la pigmentación de *Symbiodinium*, obedecen a un fuerte incremento del estrés lumínico in hospite, que ocurre no sólo en el verano, sino que también se observó en el invierno y durante la primavera del 2014. La respuesta fotoaclimatativa estacional de la simbiosis parece responder principalmente a la forma en la que *Symbiodinium* “siente” el estrés lumínico. Se reduce la pigmentación cuando se incrementa la tasa de acumulación de fotodaño, y se produce la respuesta contraria, incremento de la pigmentación, cuando la tasa de reparación es superior a la del fotodaño. El progresivo descenso de Fv/Fm documentado en primavera en todos los organismos, explica la reducción observada de la pigmentación tanto en *Symbiodinium* como en el holobionte, con el fin de reducir la energía lumínica absorbida en exceso y la magnitud del fotodaño.

El incremento de la pigmentación de *Symbiodinium* en el momento de máximo estrés lumínico y térmico en agosto del 2013, no lo puede explicar la respuesta aclimatativa a alta luz de *Symbiodinium* sino la selección de algas más pigmentadas en el holobionte en el momento de máxima expulsión o pérdida de simbioses.

Para entender las diferencias observadas entre especies en la pigmentación y en la variación estacional de la absorptancia, es necesario comparar los cambios en la pigmentación celular y en la población de *Symbiodinium*: La disminución de la pigmentación del holobionte no sólo la explica la aclimatación de *Symbiodinium* a alta luz. En el verano, como consecuencia del efecto combinado de estrés térmico y lumínico, pero también antes de la primavera, en el invierno, como consecuencia de la limitación de la fotosíntesis a baja temperatura, se observó una fuerte disminución en el número de simbioses (Figura 5). La pérdida de simbioses en el verano, como consecuencia de anomalías térmicas por encima del máximo de temperatura local (MMM) es un fenómeno bien conocido y suficientemente documentado, responsable de causar blanqueamiento y gran mortalidad en la comunidad coralina dependiendo de su severidad.

Durante el año en que se realizó este estudio, no se observó un grado severo de estrés térmico, ya que no se produjo un incremento de la temperatura por encima de +1°C en ningún periodo, e incluso no hubo registro en la NOAA de valores positivos para su índice DHW (Liu *et al.* 2013), considerando que su valor de MMM= 29°C. Sin embargo, el segundo evento de estrés térmico registrado en Agosto del 2013 (SST > 30°C < 31°C) que tuvo una duración de 12 días, fue capaz de inducir una pérdida significativa de simbioses y de la pigmentación de los organismos. Por otro lado la disminución de la población de simbioses en el invierno no ha sido documentada todavía.

En este estudio se observó esta disminución en la densidad de simbioses, que coincide con el final del proceso de recuperación de Fv/Fm, (Figura 17) y del

esperado incremento en invierno en el contenido de pigmentos (Figura 8). La baja temperatura del agua del invierno puede también explicar un incremento del fotodaño como consecuencia de la disminución de la cinética enzimática de la fotosíntesis, especialmente de la enzima más lenta, RUBISCO. Por lo tanto, la pérdida de simbiontes observada en el invierno podría deberse al mismo mecanismo que explica en verano la pérdida de simbiontes en condiciones de elevada temperatura: el incremento del fotodaño. Este mecanismo podría estar también involucrado en explicar el límite de la distribución latitudinal de los corales escleractíneos.

De acuerdo a estos resultados, los cambios en el número de simbiontes no obedecen a los mismos factores que regulan los cambios en el Ci de *Symbiodinium*, aunque los dos parecen una respuesta de la simbiosis al incremento del fotodaño. *Symbiodinium* en las cuatro especies “siente” los cambios estacionales en la presión lumínica de una forma similar (Figura 17) y responde consistentemente reduciendo su pigmentación (Figura 20) lo que resulta en una disminución de la pigmentación del holobionte (Figura 8) y su capacidad de absorción de luz (Figura 14). Por otro lado, los cambios en el número de células simbiontes parecen ser más específicos de cada especie (Figura 5) aunque también responden al incremento del estrés lumínico bajo condiciones de elevada o baja temperatura. En este estudio pudimos confirmar que eventos moderados de estrés térmico en el verano causan pérdidas significativas de simbiontes. También pudimos observar pérdidas significativas durante el invierno, por lo que se abre la posibilidad de que quizás este mismo fenómeno ocurra durante el invierno cuando la temperatura del agua desciende por debajo del óptimo fisiológico.

Fitt *et al.* (2003) documentaron una covariación no lineal y negativa para la especie *O. annularis* en la pigmentación celular de *Symbiodinium* y en el número de simbiontes presentan (Figura 23-A). En este estudio no se observó esta colinearidad en *O. annularis* ni tampoco como tendencia general de variación en

las cuatro especies examinadas. Sin embargo si se observó en *P. strigosa* (Figura 23-B).

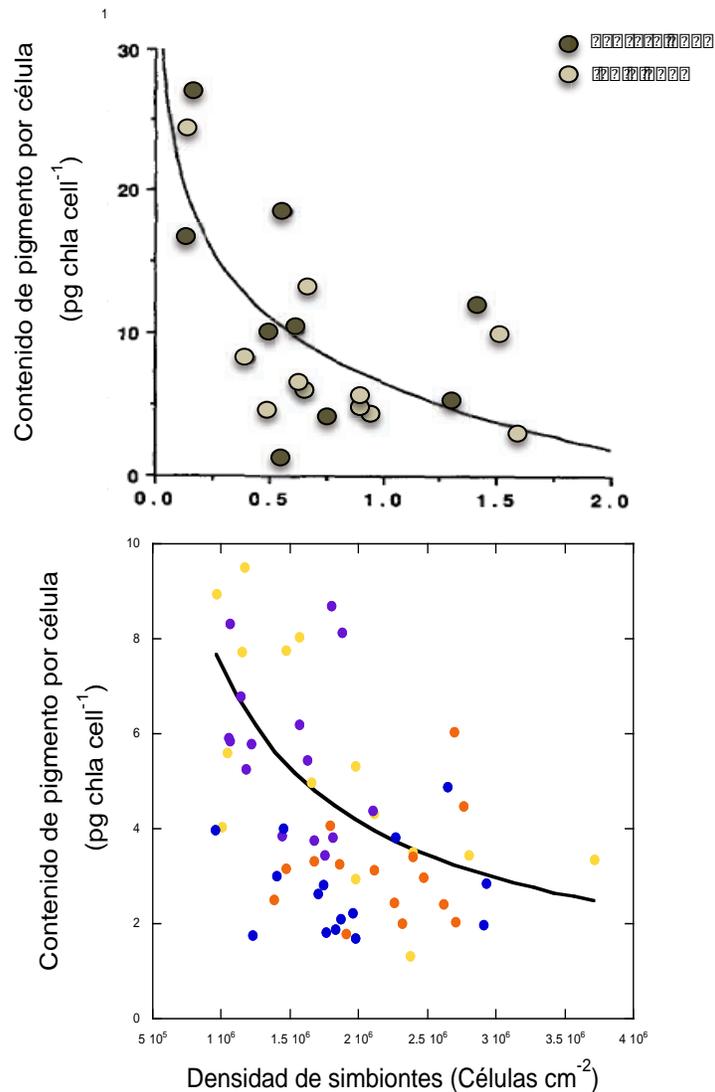


Figura 23. Relación entre el número de simbioses y el Ci descrita por Fitt *et al.* para *O. annularis* en 1993 ($R^2=0.84$) y la observada en este estudio para *P. strigosa* (amarillo) ($R^2= 0.44209$).

P. strigosa fue la especie que mostró la mayor variabilidad en los dos descriptores, mucho mayor en el número de simbioses que la variabilidad documentada por Fitt *et al.* 1993 (2 veces), pero tres veces menor en el contenido de pigmentos de *Symbiodinium* (Figura 23).

A lo largo del año no se observó esta colinearidad, pero sí se pudo apreciar que para determinados periodos covarían la variación del número de células y la pigmentación de *Symbiodinium*. Se identificaron momentos como el verano (con la excepción del pico del Ci) y también en invierno en los que se reducen los dos descriptores, y otros momentos en los que se recuperan los dos (final del verano y otoño). Además, también se identificaron momentos (primavera cuando la temperatura del agua sube del óptimo fisiológico de 28 °C) en los que la covariación es negativa ya que el número de simbiontes se recupera pero el Ci se va reduciendo paulatinamente al irse aclimatando *Symbiodinium* a alta luz.

En el verano del 2013, durante el primer evento de alta temperatura del agua por encima del MMM local de 30°C, que duró 7 días, no se indujo pérdida de simbiontes en los organismos experimentales sino aclimatación de *Symbiodinium* a alta luz, lo que se reflejó en una caída significativa del Ci. Esta respuesta parece seguir la misma tendencia observada en la primavera del 2014. En dos especies *P. strigosa* y *O. annularis* incluso se pudo observar una tendencia a incrementar el número de células en este primer evento breve de MMM>30°C (Figura 21). Sin embargo, en el segundo evento, esta pérdida de simbiontes fue muy dramática en las cuatro especies, y sólo dos de ellas se recuperaron rápidamente (*P. strigosa* y *O. faveolata*). Las otras dos mostraron una respuesta mucho más lenta en su capacidad de recuperar su población de simbiontes (*O. annularis* y *M. cavernosa*).

A finales de Noviembre la población de *Symbiodinium* se recuperó completamente en las dos *Orbicellas* y en *M. cavernosa* al igual que el contenido de pigmentos de los simbiontes. Sin embargo, en el invierno, cuando la temperatura del agua desciende significativamente por debajo de 28°C, el número de células desciende en tres especies, *M. cavernosa* y las dos *Orbicellas*. Este descenso en las dos *Orbicellas* que mantuvieron los valores mayores de la población de simbiontes en el invierno, se observa junto con el Ci. Sin embargo, en *M. cavernosa*, caracterizada por tener una población mucho menor de *Symbiodinium* durante

todo el año, el contenido de pigmentos de los simbiontes se mantuvo alto, sin cambios hasta la primavera.

Por otro lado, la población de simbiontes de *P. strigosa* que alcanzaron también contenidos celulares de pigmentos muy altos en invierno (Figura 21), no llegaron nunca a tener la abundancia que se determinó al inicio del verano del 2013. Esta especie mantuvo todo el invierno valores muy bajos de su población de simbiontes (tres veces menores a los determinados en el verano). Más aún, el número de simbiontes se fue reduciendo después de la rápida recuperación del segundo evento de calentamiento (MMM>30°C) y se mantuvo en valores bajos el resto del año, a pesar de la gran oscilación que se observó en esta especie en el número de simbiontes en la primavera e inicios del verano del 2014 (Figura 21).

Este trabajo no pretende buscar una explicación a toda la complejidad de la variabilidad estacional encontrada. Algunos de los parámetros analizados varían de forma similar en las cuatro especies analizadas como la pigmentación del holobionte, Fv/Fm, la absorptancia, pero otros parámetros presentaron desfases en esta similaridad como la pigmentación de *Symbiodinium* o grandes diferencias entre especies como la variación del número de simbiontes. Sin embargo, y a pesar de estas diferencias se pudieron reconocer dos tendencias en los cambios estacionales del holobionte de las cuatro especies de corales escleractíneos analizadas, que reflejan el ajuste fotoaclimatativo de cada especie.

Una de ellas, representada por las dos *Orbicellas*, se caracteriza por presentar mayor plasticidad en la mayor variación de la población de simbiontes, mientras que el contenido de pigmentos de *Symbiodinium* se mantiene bajo y menos variable (Figura 24, color amarillo). Según esta respuesta, la variación de la pigmentación del holobionte en las dos *Orbicellas* depende más de los cambios en la población de *Symbiodinium* que de la respuesta fotoaclimatativa de *Symbiodinium* (pérdida o ganancia de pigmentos). Por otro lado, la otra tendencia estaría representada por *M. cavernosa*, una especie que contiene una población

menor de células simbiotas pero muy pigmentadas (alto Ci) por lo que en este estudio se mostró como una de las especies más pigmentadas (Figura 8, Figura 24 color azul). En esta especie, los cambios en la respuesta fotoaclimatativa de *Symbiodinium* son fundamentales para determinar los cambios en la pigmentación del holobionte. Los organismos experimentales de *P. strigosa* no se limitaron a seguir una única de las dos tendencias sino que fueron capaces de variar por igual los dos descriptores (Figura 24).

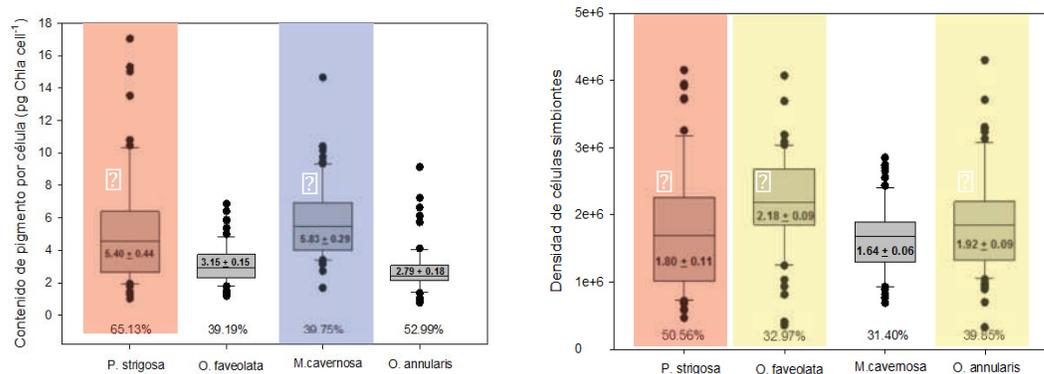


Figura 24. Patrones de adaptación fotoaclimatativos en las especies estudiadas. Azul: mayor variación en Ci, Amarillo: Mayor variación en la densidad de simbiotas, Rojo: Variación en ambos parámetros

Esta plasticidad le permitió además mantener más estable la pigmentación del holobionte (menor variación, ver Figura 6) al mostrar una colinearidad negativa entre la población de simbiotas y la pigmentación de *Symbiodinium* (Figura 23), y valores más altos sobre todo durante los eventos de MMM > 30°C en el verano del 2013 (Figura 8). Estas diferencias entre especies en la respuesta aclimatativa del holobionte se observaron en las diferentes estaciones de este estudio. Por ejemplo, en la etapa de transición 1 y en respuesta a la disminución en la exposición lumínica y la temperatura, los valores de Chla aumentan en todas las especies, incrementándose simultáneamente ambos descriptores. Sin embargo, se observan cambios muy importantes. Las dos *Orbicellas* incrementan más fuertemente su población de simbiotas que el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium*, mientras que *M. cavernosa* no aumenta mucho su población de simbiotas pero sí la pigmentación de *Symbiodinium*. *P. strigosa*, aunque

inicialmente partió de una población de simbiosntes en su tejido alta, en su ajuste ambiental durante el año 2013-2014, respondió reduciendo esta población e incrementando fuertemente el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium*. Las diferencias observadas entre especies en la variación de la pigmentación del holobionte tiene importantes implicaciones funcionales sobre la variación del coeficiente específico de absorción (Figuras 25 y 26).

-Variabilidad estacional del Coeficiente específico de absorción de luz (a*)

En general la variabilidad estacional que se encontró en este estudio para este parámetro fue alta. Se observaron diferencias significativas entre las cuatro especies (Figura 25):

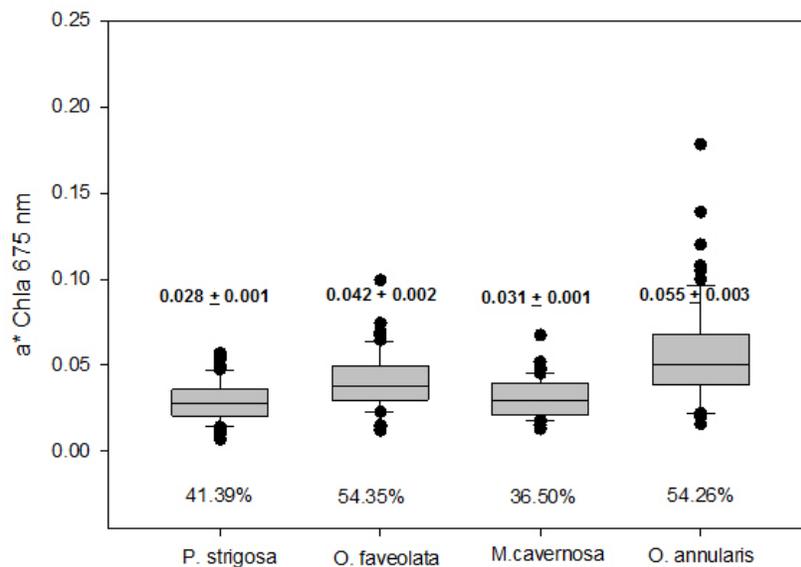


Figura 25. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) en a^* 675nm para *P. strigosa*, *O. faveolata*, *M. cavernosa* y *O. annularis*.

Se observó que el valor promedio más alto lo mostró *O. annularis* ($0.055 \text{ m}^2 \text{ chl a}^{-1}$), seguido de *O. faveolata*; y el valor promedio más bajo, se determinó para la especie *P. strigosa* ($0.028 \text{ m}^2 \text{ chl a}^{-1}$), con un valor promedio similar al de *M. cavernosa*. Así mismo, las especies con mayor coeficiente de variación fueron *O. faveolata* y *O. annularis* (54.35 y 54.26% respectivamente).

Se puede observar en la figura 26 un patrón de variación estacional común en las 4 especies, ya que el valor de a^* incrementa conforme disminuye el número de simbiontes así como la pigmentación de *Symbiodinium*, y vuelve a disminuir al recuperarse la pigmentación en el otoño (Figura 26). Por lo tanto, los cambios en la pigmentación del holobionte y en la pigmentación de *Symbiodinium*, son los que regulan la variación estacional de a^* .

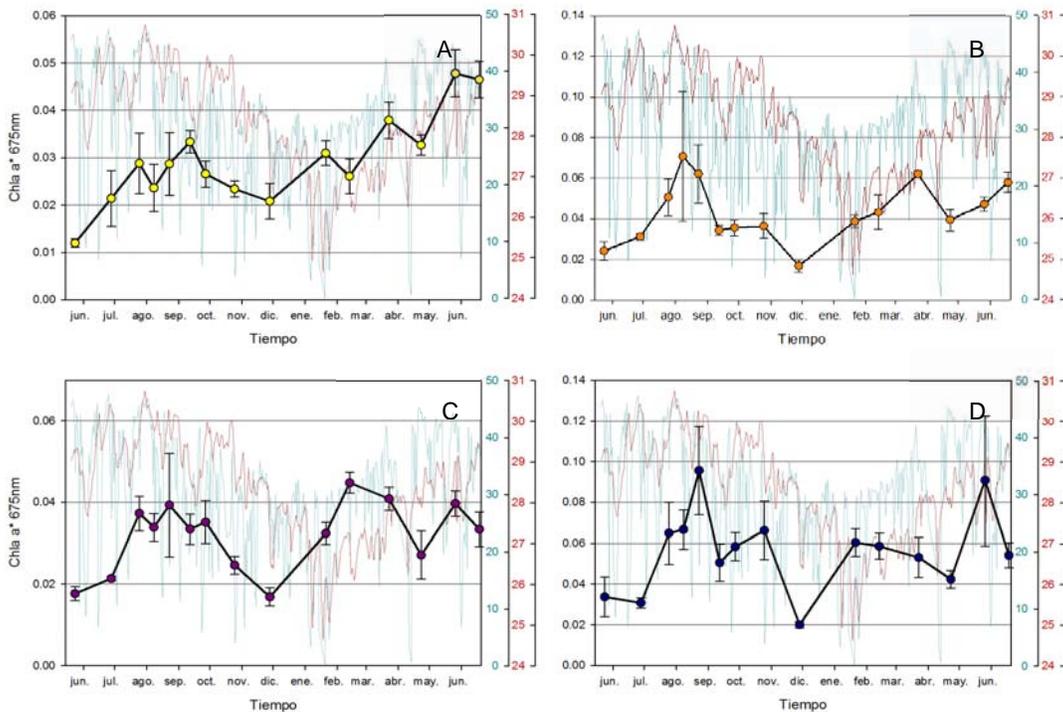


Figura 26. Variaciones estacionales en a^* 675 nm en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

A inicios del verano cuando la pigmentación de los organismos era suficientemente alta (Figura 8), a^* mostró los valores menores. Sin embargo, después del segundo evento de elevada temperatura en el mes de agosto, cuando

se produjo una fuerte pérdida de algas simbiotes, estos valores se incrementaron fuertemente en todas las especies (Figura 26), pero de manera más pronunciada en las dos *Orbicellas* y en particular en la especie *O. annularis*. La fuerte pérdida de simbiotes en el verano produjo un extraordinario incremento de a^* y, esto implica un fuerte incremento también del estrés lumínico para los simbiotes que permanecen funcionales *in hospite*.

Precisamente, este incremento en los valores de a^* conforme va transcurriendo el verano, es fundamental para explicar la mayor tasa de acumulación de fotodaño en el aparato fotosintético de *Symbiodinium* que se observa en el verano y especialmente en los eventos de elevada temperatura ($MMM > 30^\circ\text{C}$). Este incremento del fotodaño se refleja en los valores tan bajos que se registran en F_v/F_m en el verano, y explican la aclimatación de *Symbiodinium* a alta luz.

Una vez que la radiación solar y posteriormente la temperatura disminuyen progresivamente en el otoño, la pigmentación del holobionte se recupera y los valores de a^* vuelven a ser tan bajos como los iniciales al incrementarse el número de células y el C_i de los simbiotes (Figura 26). Las dos especies que muestran una mayor relación entre la disminución de a^* y de la exposición lumínica son *O. annularis* y *O. faveolata*.

Posteriormente, en invierno, con la nueva disminución del número de simbiotes, los valores de a^* se incrementaron de nuevo (Figura 26). Sin embargo en Abril con el incremento de la temperatura y del número de simbiotes, a^* muestra un nuevo mínimo en todas las especies (Figura 26). Este mínimo no se mantuvo mucho tiempo pues con la pérdida progresiva de pigmentos de *Symbiodinium* que se observó en la primavera se produjo una nueva tendencia a incrementarse a^* en todas las especies hacia el verano (Figura 26).

Esta variabilidad estacional en a^* parece tener relación con los cambios en la exposición y la temperatura pero también, con el efecto diferencial que estos

cambios causan sobre la pigmentación de *Symbiodinium* y la población de simbios (Figura 26). Por ejemplo, *P. strigosa* caracterizada por tener una menor pigmentación y absorptancia, fue la especie que tuvo la capacidad de mantener los valores del coeficiente específico de absorción más bajos (Figura 27):

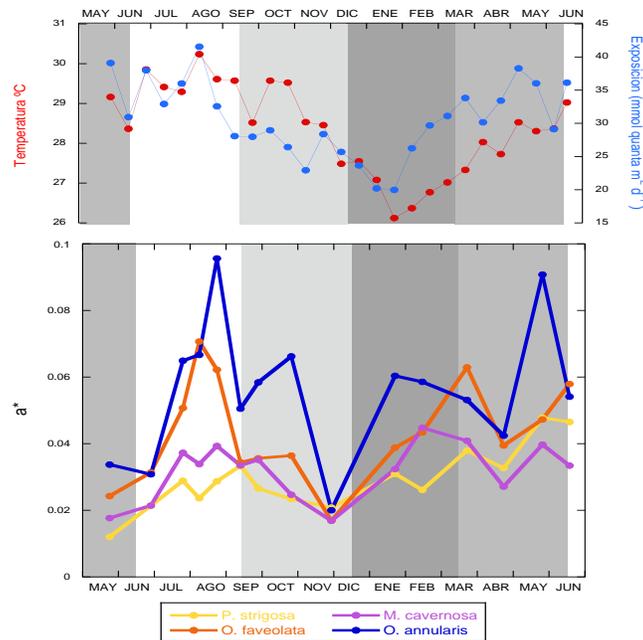


Figura 27. Variación estacional de *a** en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

M. cavernosa mostró también durante el año analizado valores bajos de *a** mientras que las dos *Orbicellas* fueron las especies que presentaron los valores más altos de la eficiencia de absorción de luz por unidad de pigmento (*a**), en particular *O. annularis* (Figura 27).

Las implicaciones de mantener una alta pigmentación ya sea manteniendo alto el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* o evitando la pérdida de células simbios le permite al coral mantener valores bajos de *a**, evitando así fuertes incrementos en la población de simbios de fotodaño. En este estudio se encontraron dos asociaciones de variación no lineares de *a** tanto con la

pigmentación del holobionte (densidad de clorofila a; Figura 28-A) como la de *Symbiodinium* (concentración celular, Ci, Figura 28-B) se puede describir de la forma siguiente:

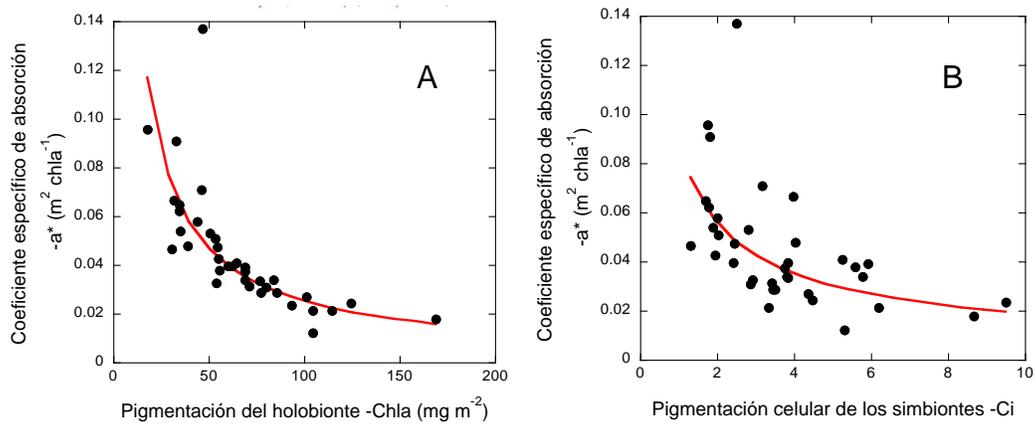


Figura 28. Asociaciones no lineares (potencia) entre a^* y la pigmentación del coral (mg Chla m⁻²) Figura A ($R^2 = 0.52076$), y el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* -Ci. Figura B ($R^2 = 0.30659$). [?]

La variación de la pigmentación del coral ya sea debido a cambios en el número de células simbiotas o en la pigmentación de *Symbiodinium* (Ci) es el descriptor que mejor explica la variación de a^* . En este estudio, la variación de la pigmentación del holobionte explica el 52% de la variación de a^* , pero sólo la variación el contenido de pigmentos de *Symbiodinium* (Ci) fue capaz de explicar el 31% de ella (Figura 28).

En este estudio se observó una fuerte pérdida de color en todos los organismos durante el verano del 2013, especialmente en *O. annularis*, que condujo a una reducción significativa de los valores de Absorptancia (Figura 14). Sin embargo, los cambios en la densidad de clorofila sólo explicaron una pequeña parte de la variación de la absorptancia (Figura 11)

La variabilidad del efecto de la pigmentación sobre la absorptancia obedece probablemente al efecto diferencial de los cambios en el número de células y del Ci sobre la capacidad de absorción de los corales (Figura 11). Estos cambios

deben también tener importantes implicaciones sobre la variación estacional en la fisiología de los organismos como se tratará a continuación:

-Variación estacional de la tasa máxima de fotosíntesis (P_{max}):

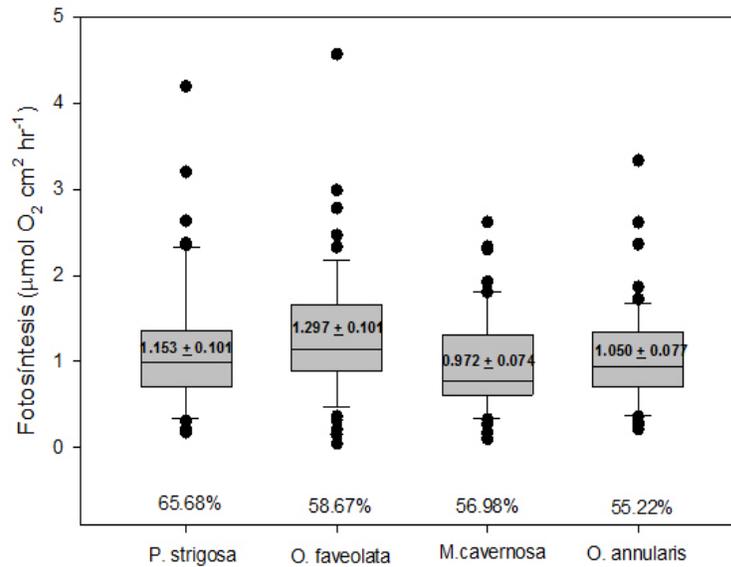


Figura 29. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) de la tasa fotosintética en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

No se encontraron diferencias significativas entre las cuatro especies en su capacidad fotosintética máxima (Figura 29). Sin embargo, si se encontraron diferencias en la variabilidad. *O. faveolata* es la especie que presentó la mayor tasa fotosintética, mientras que *M. cavernosa* fue la que mostró los valores más bajos y *P. strigosa* la mayor variabilidad (65%).

El patrón de variación estacional muestra una tendencia en las cuatro especies a ir disminuyendo la capacidad fotosintética máxima conforme va pasando el verano, pero se siguió observando una pérdida de capacidad fotosintética durante el invierno y en la siguiente primavera (Figura 30). Esta pérdida de actividad fotosintética coincide con la disminución de la pigmentación del verano, pero no así con la recuperación de la pigmentación en invierno, que no se reflejó en una

recuperación de P_{max} (Figura 30). La actividad fotosintética de los organismos experimentales siguió disminuyendo durante la siguiente primavera y el inicio del verano del 2014 a la vez que lo hizo la pigmentación (Figuras 8 y 9).

El mínimo anual de P_{max} se observó en todas las especies al inicio de la primavera y coincidió con la disminución de F_v/F_m (Figuras 17 y 30). Después de este mínimo anual, todas las especies recuperan significativamente su P_{max} pero no llegan a alcanzar los valores que se determinaron al inicio del estudio (Figura 30).

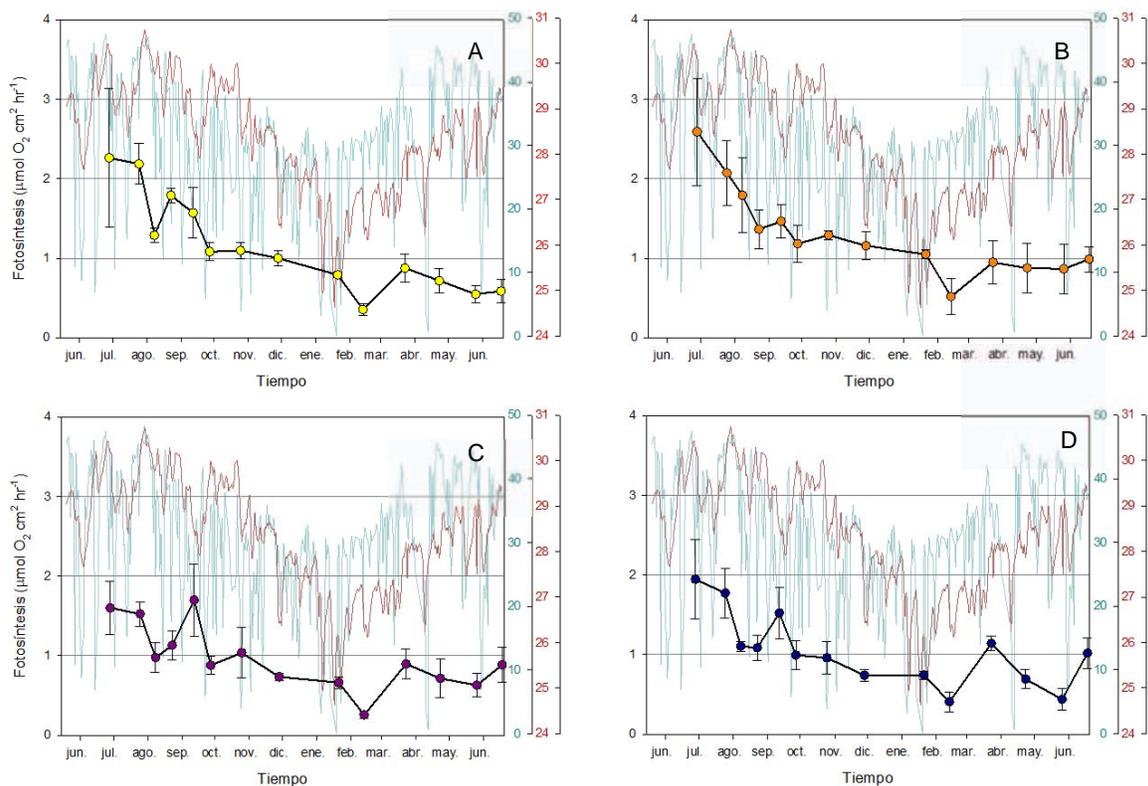


Figura 30. Variación estacional de la tasa fotosintética máxima. en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

Se observa, en primer lugar, que los cambios estacionales en la tasa fotosintética del holobionte siguieron una tendencia a disminuir conforme va transcurriendo el verano (Figura 30) hasta alcanzar valores mínimos que se observan después de

los dos pequeños eventos de anomalías térmicas. Una vez que estos eventos terminan, como consecuencia de las tormentas y la disminución progresiva de la luz y de la temperatura del agua en otoño, las tasas fotosintéticas presentan una ligera recuperación en cada una de las cuatro especies (Figura 30).

Estos resultados indican que el incremento en el fotodaño observado en la variación estacional de F_v/F_m es capaz de explicar la pérdida de actividad fotosintética de los corales escleractíneos, tanto en el verano, coincidiendo con eventos de elevada temperatura ($MMM > 30^\circ\text{C}$), como en primavera, coincidiendo con el incremento de la luz (Figura 11).

Sin embargo, la disminución de F_v/F_m observada en el primer evento de $MMM > 30^\circ\text{C}$ del verano no resultó en una pérdida de actividad fotosintética en *P. strigosa*, *M. cavernosa* y *O. annularis* (Figuras 11 y 30). Analizando la variabilidad estacional de a^* , los valores de este descriptor eran todavía bajos durante este primer evento, mientras que se incrementaron significativamente durante el segundo debido a la pérdida de células simbiotas (Figura 27). También al final del invierno y como consecuencia de la disminución del número de simbiotas, se observó un nuevo incremento de a^* , lo que explicaría el incremento en la sensibilidad al estrés lumínico que también se observó al inicio de la primavera.

Por lo tanto, estos resultados indican que no sólo la magnitud del estrés térmico (severidad y duración de los eventos de estrés térmico) sino los valores de a^* de los organismos que sufren el estrés explicarían la severidad del estrés lumínico que sufre *Symbiodinium* in hospite, y la pérdida de actividad fotosintética por la acumulación de fotodaño:

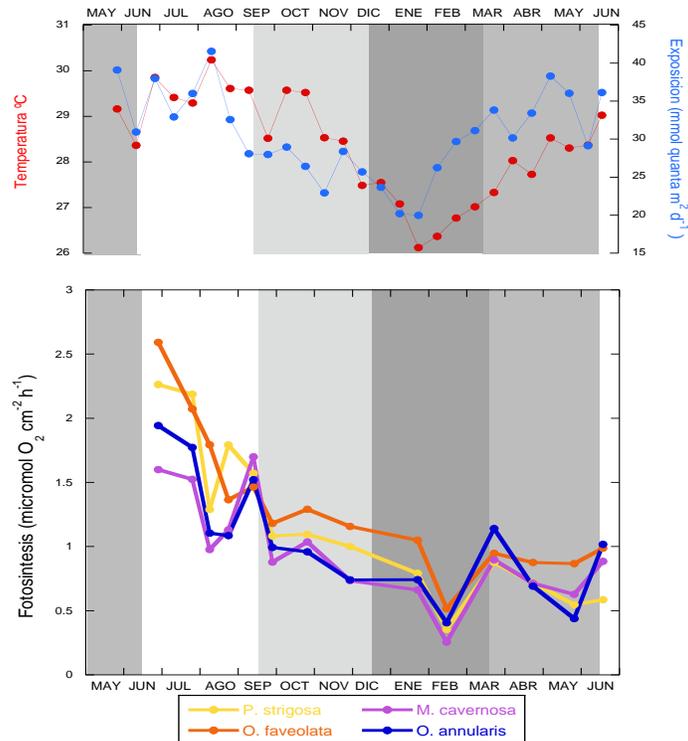


Figura 31. Variaciones estacionales por temporada de las tasas fotosintéticas en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

La especie que mantuvo durante todo el año las mayores tasas fotosintéticas fue *O. faveolata* (Figura 31). Por el contrario, la que presentó los valores menores fue *M. cavernosa*. *P. strigosa* también presentó alta actividad fotosintética pero fue también la especie que sufrió la mayor reducción en su capacidad fotosintética al final del año (Junio del 2014). *O. annularis* se caracterizó por presentar la menor pigmentación a lo largo del año (Figura 8), pero también del contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* (Figura 21). Por ello fue la especie que presentó los valores mayores de a^* (Figura 27) y también una de las especies más sensibles al fotodaño. También presentó junto con *M. cavernosa*, la menor tasa fotosintética máxima, P_{max} (Figura 31), pero también mostró una gran capacidad de recuperación, especialmente en primavera (Figura 31).

Comparando los cambios en la actividad fotosintética con los de la pigmentación de los organismos experimentales (Figura 32), se pudo reconocer una correlación positiva entre ellos capaz de explicar el 24% de la variación en la capacidad fotosintética de todas las especies. Esta correlación refleja que la aclimatación a alta luz y la pérdida la pigmentación que sufrieron los organismos experimentales a lo largo del año (condiciones como “nubbins) tuvo un impacto significativo sobre su capacidad fotosintética. Dos especies experimentaron las mayores pérdidas: *O. faveolata* y *P. strigosa*, las dos que se habían identificado como más robustas a acumular daño por luz (más insensibles al fotodaño, Figura 17).

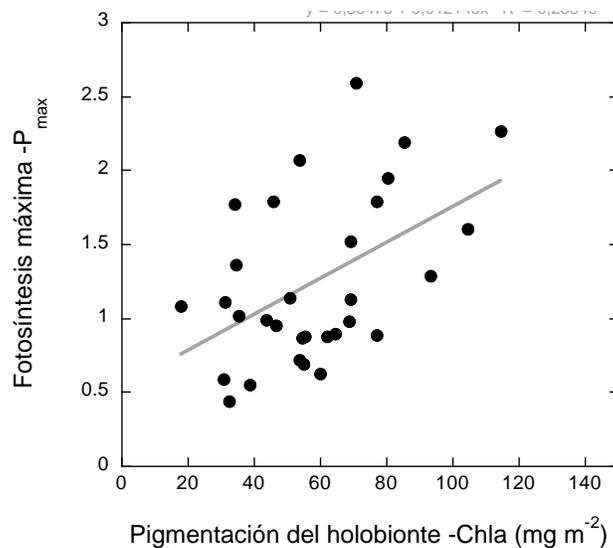


Figura 32. Relación (regresión lineal) entre Pmax y la pigmentación del holobionte. R²=0.23849

-Variación estacional de la Respiración (R)

Las tasas respiratorias de las cuatro especies estudiadas no presentaron grandes diferencias entre ellas, siendo *O. faveolata*, la especie que presentó los valores más altos y *M. cavernosa*, los más bajos (Figura 33).

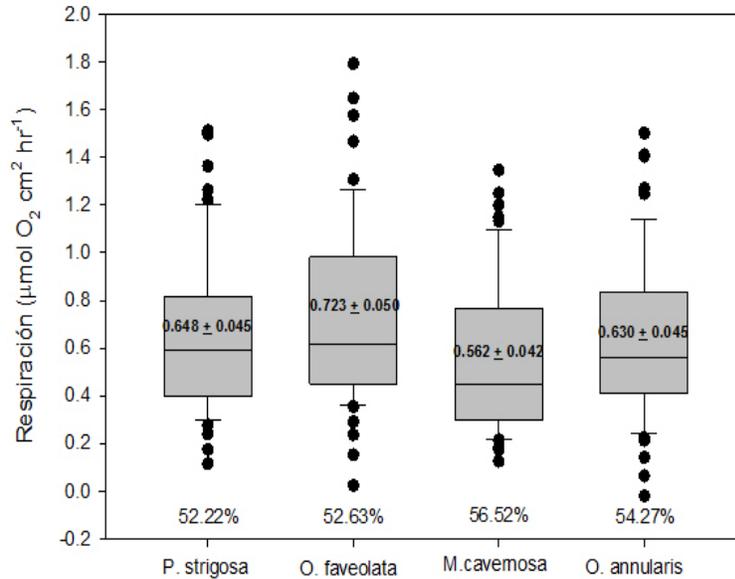


Figura 33. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) de la tasa respiratoria post-iluminación en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

El análisis de los coeficientes de variación evidenciaron una gran variabilidad estacional en la respiración de todos los organismos. *P. strigosa* fue la especie que presentó la menor variabilidad en este parámetro (Figura 33).

Por otra parte, se observaron grandes diferencias entre especies en el patrón de variación de la tasa de respiración (Figura 34). *O. annularis* y *P. strigosa* mostraron una progresiva disminución en el verano y una tendencia a disminuir la respiración que continuó hasta el mes de febrero de 2014 (Figura 34). *O. faveolata* y *M. cavernosa* mostraron incrementos y caídas significativas de la respiración durante el verano, que reflejaron patrones de variación inversos (Figura 35). A pesar de estas diferencias entre especies, también se observaron coincidencias ya que todos los organismos mostraron un patrón similar de variación al inicio de la primavera y el verano del 2014. Coincidiendo con el incremento de la temperatura del agua, todas las especies mostraron un fuerte incremento de la respiración en Marzo del 2014, al que siguió un significativo descenso en todas ellas (Figuras 34 y 35).

Después de este descenso se produjo en todas ellas un aumento progresivo de la respiración hacia el verano del 2014, para después volver a descender siguiendo la tendencia progresiva de descenso que se había visto en tres especies, *P. strigosa*, *M. cavernosa* y *O. annularis*, en el verano del 2013 hasta el segundo evento moderado de calentamiento del agua por encima de 30°C (Figuras 34 y 35). Dos especies, *P. strigosa* y *M. cavernosa* mostraron una cierta recuperación de la respiración después de este evento, pero las dos *Orbicellas* presentaron un comportamiento muy diferente: *O. faveolata* ya había dado muestras de esta recuperación desde el inicio del verano y *O. annularis* no lo pudo hacer hasta que se relajó el estrés lumínico y térmico en Octubre del 2013 (Figura 34).

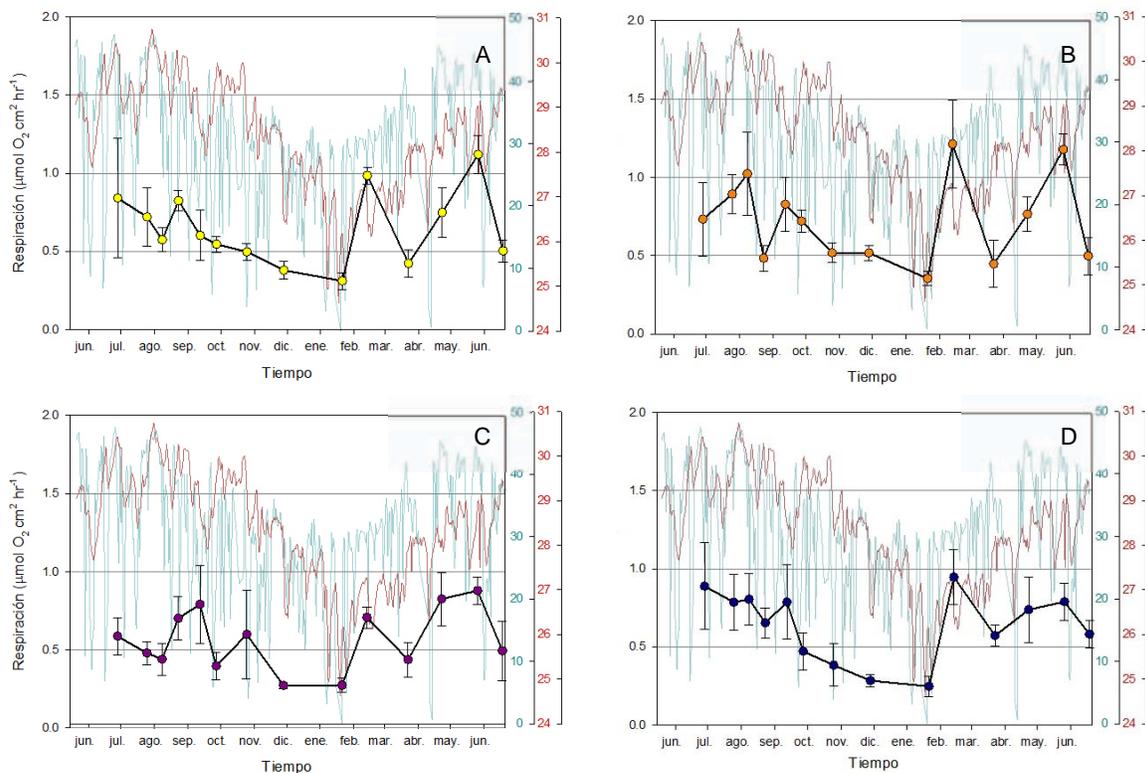


Figura 34. Variación estacional de la tasa respiratoria. en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

Para la actividad respiratoria de *P. strigosa* y *O. faveolata*, sus valores más altos se presentaron en el mes de febrero y mayo, sin embargo, en *M. cavernosa*

también se observaron al inicio del otoño del 2013, y en al inicio del verano del 2013 (Figura 34).

La comparación de los patrones de variación estacional de cada especie (Figura 32), permitió identificar mejor las diferencias y similitudes entre las cuatro especies en la variación de su tasa de respiración (Figura 35). En el verano se observaron las mayores diferencias, mientras que la variación de la tasa de respiración del holobionte fue muy similar entre especies en invierno y en primavera (Figura 35).

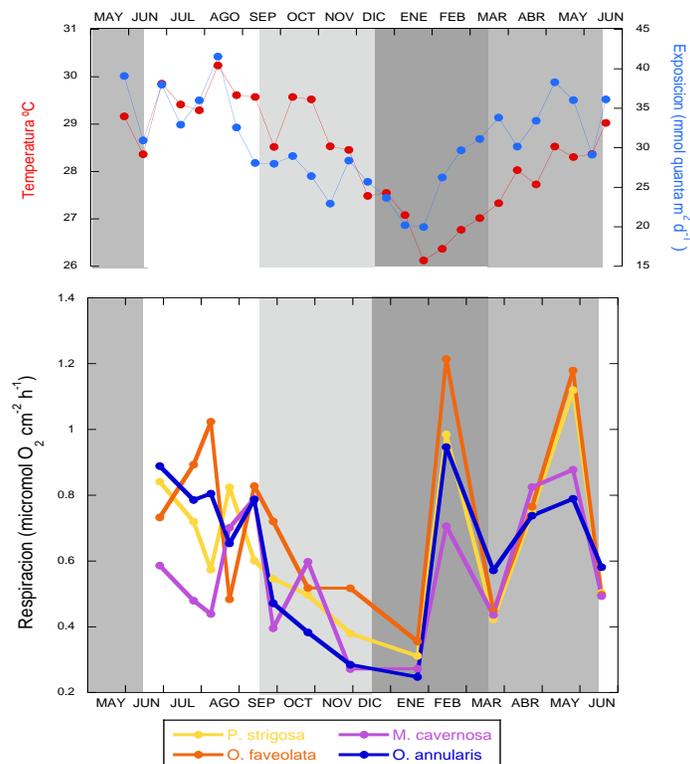


Figura 35. Comparación entre especies de la variación estacional de las tasas de respiración en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

Todas las especies mostraron una disminución significativa de la tasa de respiración hacia el final del invierno (Enero-Febrero) y un fuerte incremento al inicio de la primavera que coincide con el incremento de la luz y de la temperatura

del agua, pero también del fuerte incremento del fotodaño registrado en *Symbiodinium* en ese mes de febrero del 2014 (caída de Fv/Fm, Figura 17). La respiración volvió a disminuir en Marzo para incrementarse nuevamente y progresivamente durante la primavera, especialmente en *O. faveolata* y *P. strigosa* junto con el incremento de la luz y la temperatura (Figura 35), pero también asociado al desarrollo de la respuesta a alta luz de *Symbiodinium* y del coral (Figura 9) y a la progresiva acumulación de daño de primavera (Figura 17).

Todas las especies volvieron a mostrar una nueva disminución de la respiración en el mes de Junio del 2014, que como se indicó anteriormente, se había observado durante el verano del 2013 en todas las especies excepto en *O. faveolata* (Figura 35). En las otras tres especies, *O. annularis*, *P. strigosa* y *M. cavernosa*, se observó esta tendencia hasta que se produjo el segundo evento de calentamiento, a partir del cual se observaron las grandes diferencias entre especies en el ajuste ambiental de la respiración. Dos especies, *P. strigosa* y *M. cavernosa*, respondieron con un significativo incremento de la respiración después del evento que causó importantes pérdidas de simbiontes (41.88% y 71.63% respectivamente). Sin embargo las dos *Orbicellas* mostraron la respuesta contraria, un significativo descenso de la tasa de respiración justo después de haber perdido el 54.46% para *O. faveolata* y 48.46% para *O. annularis* de simbiontes. *O. faveolata* además, había mostrado en el verano un patrón de cambio muy diferente, pues fue la única especie que incrementó su tasa de respiración en el verano, previo a la pérdida importante de simbiontes que se produjo durante el segundo evento moderado de calentamiento (Figura 32).

Durante el otoño e invierno, al contrario del patrón de variación de la pigmentación que se observa se recupera hasta niveles similares a los iniciales del verano 2013, las tasas de respiración siguen descendiendo progresivamente excepto en *M. cavernosa* que mostró una cierta oscilación en el otoño (caída al final del mes de Septiembre y recuperación al final del mes de Octubre para volver a caer en Noviembre, Figura 35), sólo explicable quizás por la acumulación de fotodaño que

se observó en el mes de Septiembre y que explicaría tanto la primera caída como la respuesta post-stress de incremento similar a la que se observó en el verano, lo que habría interferido en la expresión de una respuesta progresiva al descenso de la temperatura y de la luz en el otoño.

La variabilidad estacional encontrada para la respiración de los organismos puso de manifiesto el importante componente asociado a la especie que tiene este descriptor metabólico. También se observó una particular respuesta al estrés lumínico/térmico de cada especie, o la existencia de un desfase entre especies en la recuperación de la respiración después del estrés. Por último, se observó un ajuste aclimatativo en primavera similar en las cuatro especies (Figura 35).

Al comparar la variación estacional de la tasa de fotosíntesis con la de la tasa de respiración se identificaron diferencias relevantes entre las cuatro especies examinadas en el impacto de estos cambios sobre el cociente fotosíntesis:respiración del holobionte.

-Variación estacional del cociente fotosíntesis:respiración (P:R)

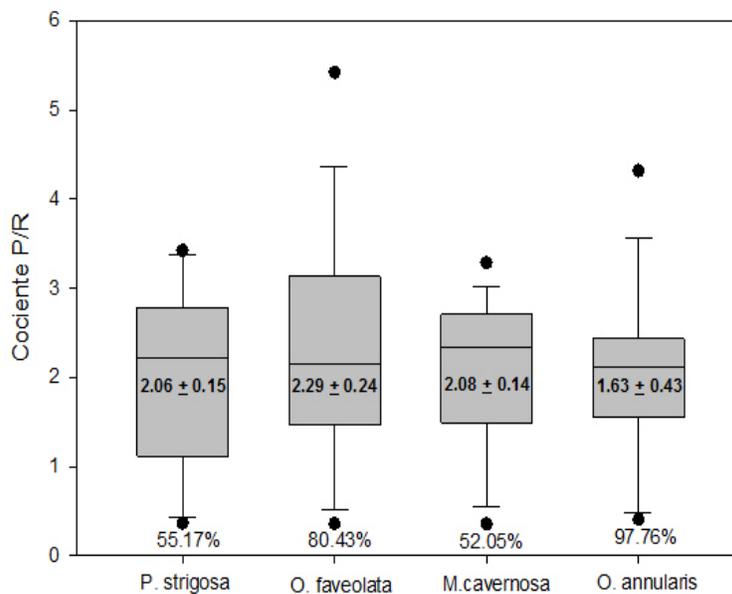


Figura 36. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) del cociente P/R en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

Este parámetro no sólo es un indicador del grado de fototrofia del organismo, sino también de posibles problemas fisiológicos relacionados con periodos de hipoxia más prolongados en el tejido del coral. Se pudo observar en las 4 especies que el segundo evento de calentamiento del agua $>30^{\circ}\text{C}$ que ocurrió en el agosto del 2013 indujo un mínimo del cociente P:R en todos los organismos (Figura 37). Sin embargo, el evento que produjo el mínimo anual no se observó en el verano sino al inicio de la primavera y asociado al mínimo de F_v/F_m (Figura 17).

Las cuatro especies mostraron valores muy inferiores a 1 de este cociente debido al pequeño daño acumulado de la fotosíntesis, pero, sobre todo, al fuerte incremento de la respiración (Figura 36). Al inicio del año (junio 2013) y al final del invierno (febrero 2014) se observaron en las cuatro especies los valores mayores del cociente P:R (Figura 37). Sin embargo, todas las especies, aunque se recuperaron significativamente del descenso drástico de este cociente en Marzo, experimentaron un progresivo descenso en primavera de este cociente P:R hasta valores muy inferiores a los determinados en el verano del 2013 (Figura 37).

La fuerte pérdida de actividad respiratoria que se determinó en Junio del 2014 permitió una significativa recuperación de este cociente en todas las especies. Según estos resultados, los cambios que se observan en la respiración pueden ser debidos no solo a respuestas al y post-estrés sino también deben obedecer a ajustes metabólicos del holobionte en condiciones de pérdida de fotosíntesis para mantener el cociente P:R por encima de 1.

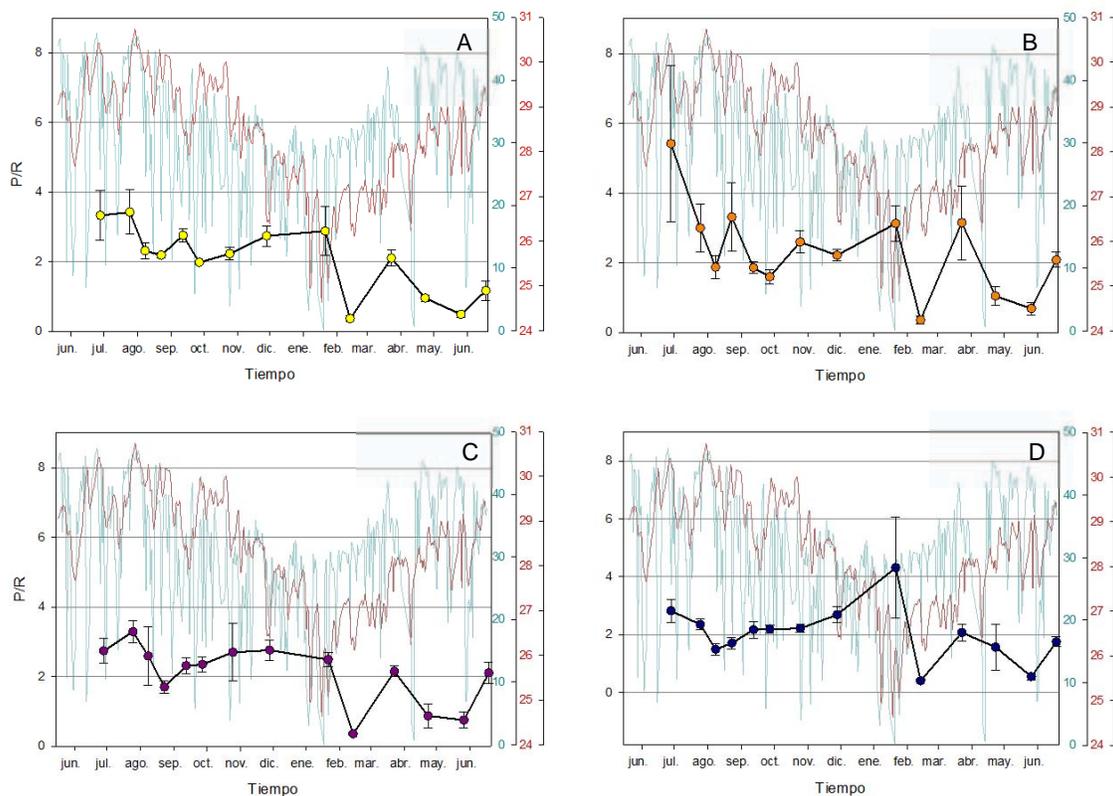


Figura 37. Variación estacional del cociente fotosíntesis: respiración (P/R) en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

Por ejemplo, al inicio de la primavera y con el incremento de la temperatura del agua se observó en todas las especies una subida drástica de la respiración, una pérdida de fotosíntesis (acumulación de fotodaño y pérdida de Ci) y un fuerte desbalance en el cociente P/R. Este desbalance se solucionó reduciendo la respiración e incrementando el número de simbiositos.

Por otro lado, en el verano, la pérdida de células simbiositos y de actividad fotosintética requieren también de una pérdida de actividad respiratoria como respuesta fotoaclimatativa del holobionte para evitar la caída del cociente fotosíntesis:respiración < 1 . En el invierno, todos los organismos examinados mostraron una pérdida de actividad metabólica, tanto de fotosíntesis como de respiración, pero fue mayor la pérdida de actividad respiratoria lo que se reflejó en

un ligero incremento del cociente fotosíntesis: respiración al final del invierno (Figura 36), especialmente en *O. annularis*.

-Variación estacional de la Calcificación (G_{max})

Por otra parte, el análisis de la variación estacional de la tasa de calcificación, permitió observar que de las cuatro especies estudiadas, *M. cavernosa* es la que presentó los valores promedios anuales más bajos, mientras que *O. annularis*, es la que calcificó más durante todo el año del experimento (Figura 38). Asimismo, encontramos que *M. cavernosa* fue también la especie que presentó una mayor variabilidad estacional en la tasa de calcificación, y *P. strigosa* la que varió menos en este descriptor fisiológico (Figura 37).

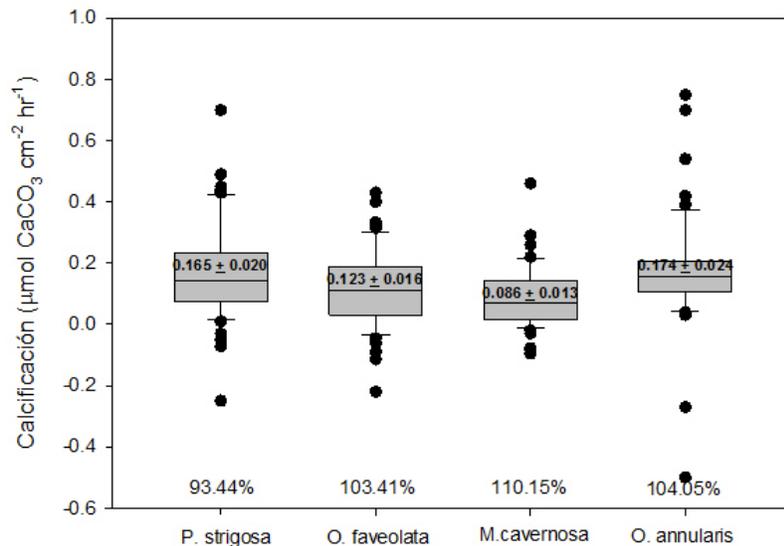


Figura 38. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) en las tasas de calcificación en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

Los valores más altos de la tasa de calcificación de *P. strigosa* correspondieron a la segunda mitad del mes de agosto, justo después del segundo evento de calentamiento del agua > 30°C (Figura 39), para luego descender y no variar

significativamente el resto del año, excepto al inicio de la primavera en el que descendieron ligeramente en tres especies *P. strigosa*, *M. cavernosa* y *O. annularis* pero indujeron un incremento de la calcificación *O. faveolata* (Figura 39).

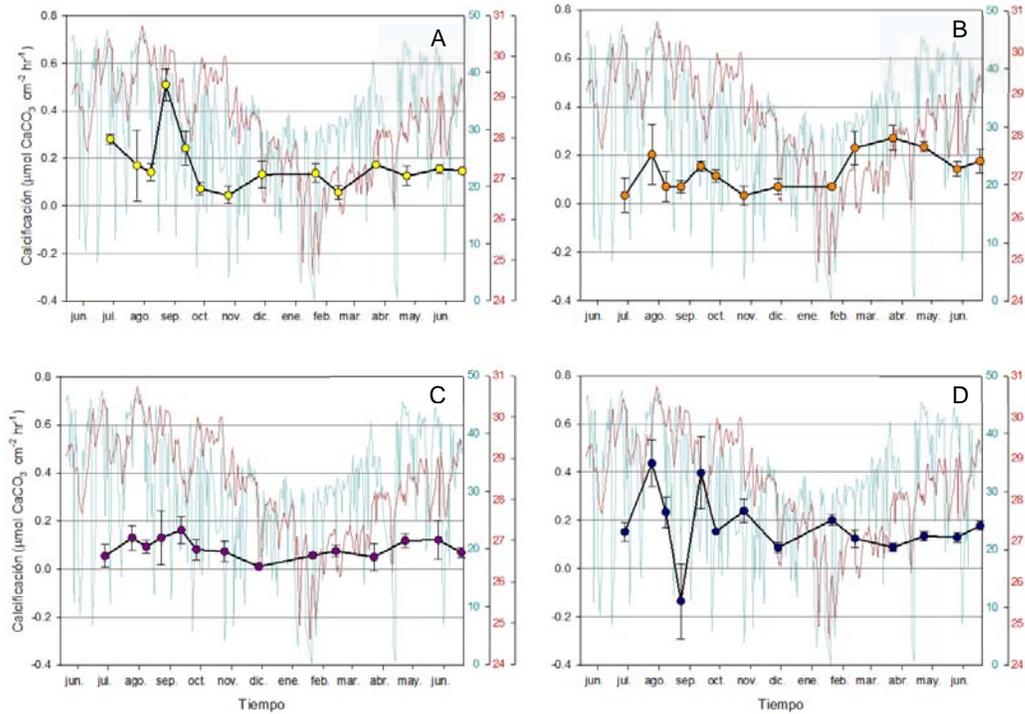


Figura 39. Variación estacional en la tasa de calcificación. en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el periodo Mayo 2013-Junio 2014.

En esta especie, *O. faveolata*, se observaron dos picos de calcificación en el verano de 2013 o un valle entre ellos, que coincidió con el segundo evento de calentamiento del agua (Figura 39). Este descenso de la calcificación del verano y asociado a este evento se observó en las cuatro especies (Figura 40), pero la respuesta posterior de la calcificación fue muy diferente. *O. annularis* siguió disminuyendo su tasa de calcificación hasta incluso presentar actividad de descalcificación 20 días después de este evento, (Figura 40). *O. faveolata*, siguió manteniendo similares tasas de calcificación, bajas, y no mostró una mejoría hasta 38 días después, pero *P. strigosa* mostró un incremento de 3.5 veces su tasa de calcificación justo después de haber experimentado el segundo evento de estrés

térmico (Figura 40). *M. cavernosa* fue la especie que mostró la menor variabilidad y menor tasa de calcificación a lo largo del año (Figura 40).

En el invierno, especialmente en diciembre, se observaron como era esperable bajas tasas de calcificación, especialmente en *M. cavernosa* y *O. annularis*. Esta disminución en invierno de la actividad de calcificación era esperable por la presencia de bandas estacionales de alta y baja densidad de CaCO_3 en el esqueleto de los corales escleractíneos asociadas respectivamente al verano y al invierno. *O. faveolata* fue la especie que incrementó más eficientemente su tasa de calcificación en primavera, justo en simultáneo con la caída del cociente P:R observada en Marzo. Al final del mes de mayo de 2014 se observa de nuevo un descenso de la tasa de calcificación (Figura 40).

Es importante señalar a partir del análisis de estos resultados, que sólo se pudo confirmar la existencia de un patrón estacional de variación de la tasa de calcificación en *P. strigosa*, *O. annularis*, y en *M. cavernosa*. *O. faveolata* mostró mayor tasa de calcificación en primavera que en verano (Figuras 39 y 40). Por tanto, el patrón de mayor producción de carbonato documentado para el verano (banda de mayor densidad) y menor en invierno (banda de menor densidad), no se observa tan claramente durante el año analizado en esta especie.

Se observó también que todos los organismos experimentales sufrieron pérdidas significativas de producción de carbonato en verano y a pesar de que sólo sufrieron un evento moderado de calentamiento del agua por encima del valor local de MMM= 30°C. No se llegaron a registrar anomalías térmicas $\geq +1^\circ\text{C}$, ni siquiera periodos mayores a 15 días de calentamiento. Durante el verano del 2013, no se registraron valores positivos del índice DHW de la NOAA (Figura 3) teniendo en cuenta además que este índice considera el MMM local como 29°C. Según estos resultados, la pérdida de actividad de calcificación no sólo está ligada a eventos severos de estrés térmico y/o al blanqueamiento, sino también a eventos moderados de calentamiento del agua en el verano.

El caso de *O. annularis* es especial, ya que la pérdida de actividad calcificadora inducida por el segundo evento de calentamiento $>30^{\circ}\text{C}$ siguió en descenso durante el mes de agosto hasta incluso a presentar valores negativos (actividad de descalcificación, Figura 40). Esta especie, sin embargo, recuperó completamente al final del verano (septiembre) la actividad de calcificación inicial, una de las más altas registradas durante este estudio, para luego descender en el invierno y en la primavera (Figura 40).

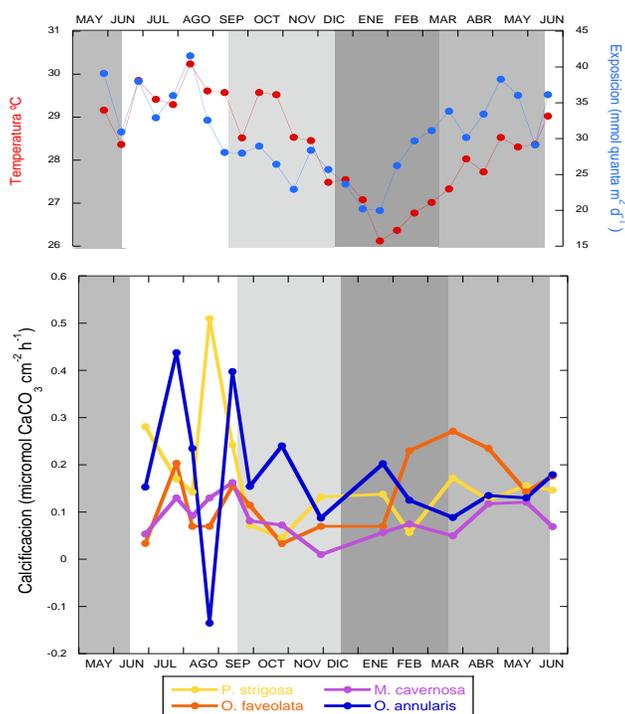


Figura 40. Variación estacional de la tasa de calcificación en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), y en relación a la variación de la irradiancia y la temperatura del agua (promedios mensuales) para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio).

Estos resultados también reflejan la presencia de un componente específico de la simbiosis que afecta a la actividad de calcificación pues las especies que mayor variabilidad genética contiene en la población de *Symbiodinium*, *O. faveolata*, fue también la que presentó el patrón estacional más contrastante, con un claro incremento de la calcificación en primavera (Figura 40). Recientemente, se acaba

de documentar para esta especie, que el incremento en la dominancia de *Symbiodinium trenchii* (Pettay *et al.* 2015) en el holobionte, conduce a una menor tasa de calcificación del coral que si dominan otros filotipos como A3, B17 o C7. Esta nueva especie, conocida también como filotipo D1a, tiene un carácter invasivo en el Caribe pues procede del Indo-Pacífico, y había sido reportada con anterioridad como estrés-tolerante ya que su abundancia y prevalencia se incrementan en presencia de eventos de estrés térmico (Baker *et al.* 2004; Berkelmans & van Oppen 2006; LaJeunesse *et al.* 2009). La variabilidad a lo largo del año del filotipo dominante, pero también como respuesta en los organismos experimentales al nuevo campo lumínico, y como parte de la aclimatación a alta luz, podría explicar la mayor calcificación encontrada en primavera en *O. faveolata*, pues también se ha reportado que el incremento de la prevalencia y abundancia de *S. trenchii* desciende después de la perturbación que lo seleccionó, y pasa a ser sustituido por los filotipos dominantes anteriores, una vez se recupera la pigmentación y la fisiología de los organismos (Kemp *et al.* 2014). En este estudio no se pudo analizar los cambios en el filotipo dominante de *Symbiodinium*, pero no se debe descartar esta fuente de variación para explicar sobre todo la variabilidad estacional encontrada en *O. faveolata*.

Es conocido que ante cualquier tipo de estrés, el proceso de calcificación en los corales es de los primeros que se interrumpen, ya que el “excedente” de energía traslocada por el simbiote, producto de la fotosíntesis, es empleado para promover y mantener el proceso de calcificación. Sin embargo, cuando el estrés lumínico afecta adversamente a la tasa de fotosíntesis del coral, la traslocación de fotosintatos se reduce y, por tanto también se puede ver afectada la calcificación. El simbiote necesita recursos extras reparar su aparato fotosintético y evitar así la pérdida dramática de actividad fotosintética (fotoinhibición).

Diferencias entre los filotipos dominantes de *Symbiodinium* en su capacidad de fotoprotección y fotoreparación podrían también explicar una parte de las diferencias encontradas entre las cuatro especies en su “sensibilidad” a acumular

fotodaño (Figura 17). La reducción del mantenimiento de la capacidad de calcificación con el fin de utilizar los recursos disponibles para reparar el fotodaño y evitar graves pérdidas de células simbiotes y de pigmentación del coral, podría ser también considerado como una forma de responder con mayor “robustez” al estrés térmico y lumínico.

En este estudio, los simbiotes más sensibles a acumular fotodaño fueron los de *M. cavernosa* (Figura 17). Esta especie fue también la que presentó las menores tasas fotosintéticas (Figura 31) y de calcificación (Figura 40) a pesar de que fue la especie que presentó la mayor capacidad de absorber energía lumínica (Figura 14) y mayor contenido de pigmentos (Figura 8). Sin embargo, esta especie no presentó un alto contenido de simbiotes, sino valores bajos pero de células muy pigmentadas (Figura 21). Por el contrario, las dos *Orbicellas* que presentaron un contenido muy alto de simbiotes con baja pigmentación intracelular (Figura 21), mostraron gran capacidad de recuperación del fotodaño y tasas similares de acumulación de fotodaño en primavera y en verano (Figura 17), pero contrastantes tasas de fotosíntesis (Figura 31). *O. faveolata* presentó las tasas de fotosíntesis mayores de las registradas en este estudio, pero *O. annularis* mostró valores tan bajos como los de *M. cavernosa* (Figura 31). *O. annularis* presentó también una mayor tasa de calcificación que *O. faveolata*, y la mayor sensibilidad de esta tasa metabólica a episodios de estrés térmico y lumínico (Figura 40). Las dos *Orbicellas* presentaron también los valores más altos del coeficiente específico de absorción (a^*), especialmente *O. annularis* (Figura 27) que fue también la especie que mostró la menor pigmentación a lo largo de todo el año (Figura 8) debido a sus simbiotes también presentaron los valores menores del contenido de pigmentos por célula de *Symbiodinium* (Figura 21).

Esta variación de la pigmentación celular de *Symbiodinium* es la que explicó mejor la variabilidad encontrada entre especies en su coeficiente específico de absorción de luz (a^* , Figura 27). Los valores menores de las dos *Orbicellas* están asociados a incrementos mayores en a^* , especialmente *O. annularis*, porque no se asociaron

a incrementos del número de simbioses para compensar la pérdida de pigmentación como se observó en otra de las especies que se encontraron más robustas al estrés térmico y lumínico como *P. strigosa* (Figura 23). En el caso de las dos *Orbicellas*, la pérdida simultánea de pigmentación de *Symbiodinium* y de células simbioses, conduce a un incremento mayor de a^* , y por tanto a mayores niveles de fotodaño (Figura 41).

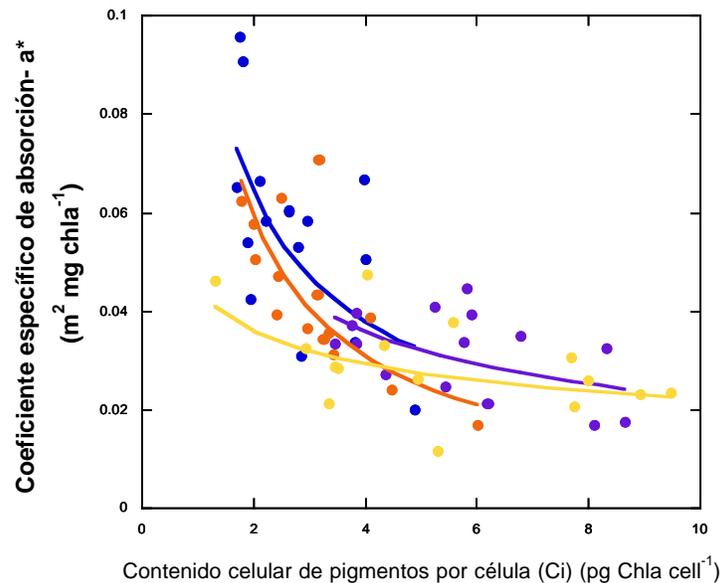


Figura 41. Relación entre el contenido en celular de pigmentos (Ci) de *Symbiodinium* y el cociente específico de absorción de la clorofila (a^*) utilizando una ajuste a función de poder. *P. strigosa* (amarillo) $R^2= 0.29741$, *O. faveolata* (naranja) $R^2= 0.51254$, *M. cavernosa* (morado) $R^2= 0.19146$, *O. annularis* (azul) $R^2= 0.40282$.

Por el contrario, las dos especies que se identificaron como menos eficientes para absorber la luz, *M. cavernosa* y *P. strigosa* (Figura 27). Esta menor eficiencia la explica en el caso de *M. cavernosa* al mayor contenido intracelular de pigmentos intracelular de sus simbioses (Ci, Figura 24 A y anterior), pero en el caso de *P. strigosa*, esta especie presentó mucha mayor variabilidad en el Ci de sus simbioses. En particular, los contenidos celulares de pigmentos fueron muy bajos al final del año, junio del 2014, pero esta especie consiguió mantener su pigmentación incrementando fuertemente su población de simbioses cuando

Symbiodinium perdía pigmentación (Figura 8 y 24-B). Esta habilidad podría explicar también su mayor capacidad de mantener la pigmentación y los valores de a^* bajos (Figura 8) aunque es la especie que tiene la menor capacidad de absorción de luz (A, Figura 14), lo que sugiere que los valores menores de a^* encontrados en esta especie también pueden ser debidos a una menor habilidad para dispersar la luz dentro del esqueleto.

Esta característica también contribuiría a explicar su mayor robustez frente al estrés lumínico y térmico (Figura 17). *P. strigosa* fue también junto con *O. faveolata* la especie que mantuvo a lo largo del año las mayores tasas de fotosíntesis y también los valores altos de producción anual de carbonatos (Figura 39). Sin embargo, al final del estudio, en Junio de 2014, asociado a la disminución de la pigmentación también se observó una pérdida significativa de actividad fotosintética en *P. strigosa* (Figura 31).

-Variación estacional en el contenido de proteínas solubles

Uno de los parámetros que pueden ayudar a entender las consecuencias de los ajustes fotoaclimatativos del holobionte sobre el metabolismo, es el contenido de proteínas solubles del tejido coralino, ya que nos permite entender que es lo que está pasando con los recursos con que cuenta el holobionte durante las distintas temporadas que duró este estudio.

Debido a eventualidades con la preservación de las muestras de algunas fechas de muestreo (descongelamiento de muestras) no fue posible registrar toda la variabilidad estacional en el contenido de proteínas (Figura 42). Con los resultados obtenidos, se puede observar que la especie que presentó un mayor contenido de proteínas solubles y una menor variabilidad con respecto a este parámetro fue *M. cavernosa* (3.73 mg cm^{-2} , C.V= 23.30%) mientras que la que tuvo una menor concentración de estas fue *P. strigosa* (2.02 mg cm^{-2}) (Figura 43)

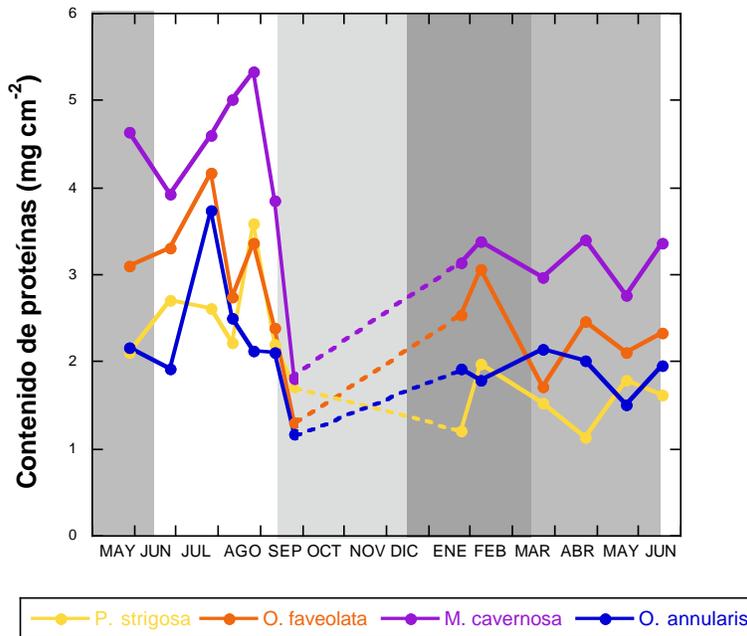


Figura 42. Variación estacional del contenido de proteínas en *P. strigosa* (amarillo), *O. faveolata* (naranja), *M. cavernosa* (morado) y *O. annularis* (azul), para el ciclo de Mayo 2013-Junio 2014. Los periodos están delimitados por: I.- Verano (blanco), II.- Invierno (gris fuerte) y las dos estaciones de transición: III.- Verano a Invierno en (gris claro); y IV.- Invierno a Verano (gris medio). La porción delimitada por líneas discontinuas indican que no se tienen los datos para las fechas correspondientes.

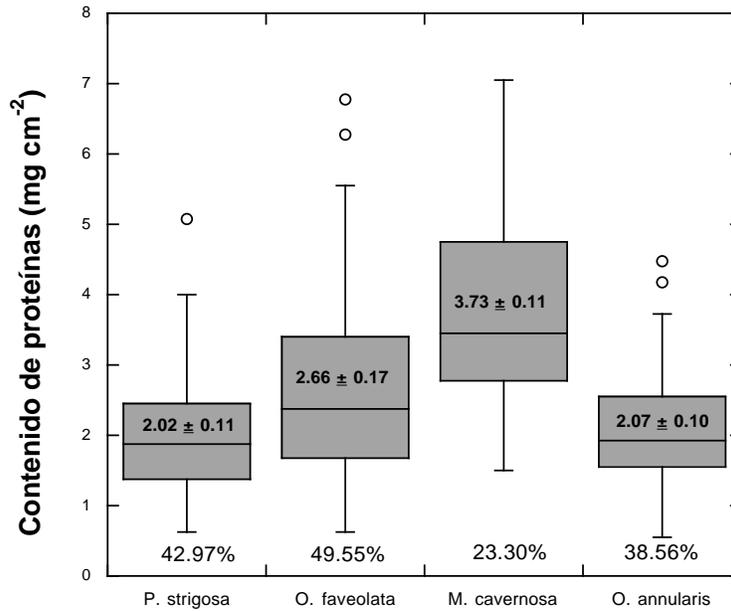


Figura 43. Promedio general y coeficiente de variación (unidades porcentuales) del contenido de proteínas en *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *Montastraea cavernosa* y *Orbicella annularis*.

Sin embargo, se puede apreciar que el patrón general que siguieron las cuatro especies es el de poseer una elevada concentración en su contenido de proteínas durante el verano y, una vez que termina y da inicio la temporada 1 de transición comienza una reducción de los valores de este descriptor (Figura 42). No se pudo registrar la variabilidad en la concentración de proteínas durante parte de la temporada de transición 1 y el invierno, sin embargo, lo que si se observa es una reducción de estos valores, incluso para inicios del siguiente verano, ya que estos valores no se parecen a los del verano de 2013 (Figura 42).

Aún así, este parámetro nos puede servir para entender y apoyar el argumento de la reducción en la pigmentación y tasa fotosintética por parte de las 4 especies, como consecuencia de su nueva condición como nubbins, ya que los corales con estas condiciones (sin apoyo del resto de la colonia y con menor pigmentación debido a su nueva orientación) suelen tener una baja tasa fotosintética así como un contenido bajo de proteínas solubles. Además, se puede observar que hay relación entre el contenido de proteínas y la tasa fotosintética en tres de las cuatro especies. (Figura 44, *P. strigosa*, *O. faveolata* y *M. cavernosa*).

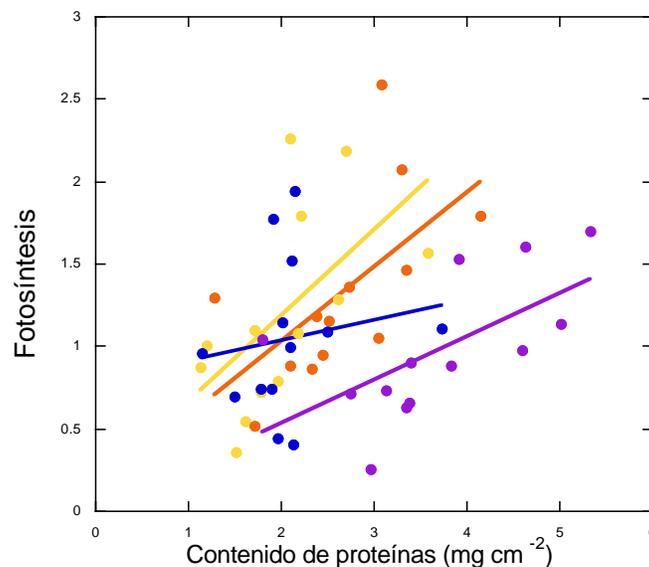


Figura 44. Relación (regresión lineal) entre el contenido de proteínas y la tasa de fotosíntesis para *P. strigosa* (amarillo $R^2= 0.33605$), *O. faveolata* (naranja $R^2= 0.37014$), *M. cavernosa* (morado $R^2= 0.38887$) y *O. annularis* (azul $R^2= 0.02536$).

CONCLUSIONES.

- Todos los descriptores analizados mostraron una variabilidad estacional significativa. Sin embargo, se encontraron grandes diferencias entre algunos descriptores y entre especies.
- El parámetro que mayor variación estacional presentó fue la tasa de calcificación (C.V. promedio de las 4 especies=104%), por otra parte, los que menos variaron fueron la absorptancia (C.V.=6%) y la eficiencia fotoquímica máxima del fotosistema II (Fv/Fm, C.V.= 12%). Esto indica que los cambios fotoaclimatativos que sufren los corales en su ajuste estacional, consiguen minimizar la variación de su capacidad de coleccionar energía lumínica y transformarla en energía química, pero no su capacidad de calcificar, la cual varía estacionalmente más que los cambios en la tasa fotosintética y respiratoria, así como el contenido de pigmentos y células simbiotes del tejido.
- Los cambios estacionales en la respuesta del holobionte coral-alga dependen fundamentalmente de la variación a lo largo del año de la irradiancia y temperatura del agua. Durante el año en que se desarrolló este experimento (Mayo 2013 – Junio 2014), se observaron valores similares de temperatura y luz para el verano y otoño del 2013, en relación con la variación promedio registrada para el periodo 1993-2005. Sin embargo, las condiciones de invierno e inicio de la primavera del 2014 fueron más calientes (en promedio +1.12°C).
- Esta fluctuación estacional de la luz y temperatura puede explicar el patrón de variación similar que se encontró en las cuatro especies analizadas para algunos de los parámetros analizados como la pigmentación del holobionte, Fv/Fm y la absorptancia. Sin embargo, otros descriptores como el número de simbiotes y el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* (Ci) no

siguen un patrón estacional común, sino uno distinto para cada especie, lo que sugiere que la respuesta específica de cada especie a la presión ambiental es lo que ejerce un mayor control sobre estas respuestas de la simbiosis.

- Las cuatro especies analizadas difieren significativamente en su pigmentación. *O. annularis* fue la especie que presentó la menor pigmentación ($52.17 \text{ mg Chla m}^{-2} \pm 3.92$) mientras que *M. cavernosa* fue la más pigmentada ($92.96 \text{ mg Chla m}^{-2} \pm 5.17$). Por otro lado, *Orbicella faveolata* y *Orbicella annularis* presentaron un valor bajo en el contenido celular de pigmentos, Ci, de las algas simbiontes a lo largo del año, mientras que *P. strigosa* y *M. cavernosa* mostraron valores 2 veces mayores al de las *Orbicellas*, así como una mayor variabilidad estacional.
- Las cuatro especies también difirieron en el número de simbiontes y su variabilidad estacional. *Orbicella faveolata* y *Orbicella annularis* mostraron los mayores promedios de células simbiontes mientras que *M. cavernosa* fue la especie que presentó la menor densidad y variación con respecto a este parámetro. Por otro lado, *P. strigosa* fue la especie que presentó la mayor variabilidad en la densidad de simbiontes.
- No se encontraron diferencias significativas entre especies con respecto a la absorptancia, tanto a los valores del pico de la clorofila *a* para los 675 nm, como en el promedio del espectro PAR. Esto era esperable considerando la gran eficiencia de absorción lumínica en los corales escleractíneos, y también a que no hubo un evento fuerte de estrés térmico durante el año de estudio, por lo que no se produjo una disminución severa del contenido de pigmentos en el holobionte. Por lo tanto, los cambios estacionales fotoaclimatativos de los corales escleractíneos en la pigmentación no suelen afectar a su capacidad de coleccionar la luz. Si lo hacen, probablemente indicaría una pérdida severa de pigmentación.

- A pesar de las diferencias entre especies en la pigmentación, su variación estacional mostró un patrón similar en las cuatro especies de coral, lo que indica que estos cambios obedecen a una presión ambiental similar. Esta variación coincidió con una variación similar de la eficiencia fotoquímica máxima (F_v/F_m) lo que indica que las condiciones ambientales que incrementan el fotodaño, inducen una reducción en la pigmentación del holobionte, mientras que cuando se revierte esta situación se incrementa la pigmentación.
- F_v/F_m es un parámetro muy dinámico, que se encuentra estrechamente ligado a los cambios en luz y temperatura del día en que se realizó la medición así como a la variación de luz con respecto al día anterior. A pesar de ello, se observaron los valores menores en el verano (junio a septiembre) coincidiendo con las mayores temperaturas del agua durante los eventos de elevada temperatura; y al inicio de la primavera (marzo) coincidiendo con un aumento progresivo de la luz y baja temperatura del agua.
- *Montastraea cavernosa* fue la especie que presentó los valores más bajos de F_v/F_m y la mayor variación (0.53 y C.V.=15.13%), porque fue también la especie que mostró mayor sensibilidad a acumular fotodaño, mientras que *Pseudodiploria strigosa* presentó el mayor promedio y la menor variación de F_v/F_m (0.58 y C.V.=7.76%) y fue la especie que se mostró más robusta frente al estrés lumínico.
- Aunque el verano del 2013, no fue particularmente estresante térmicamente, se presentaron pequeños periodos de anomalía térmica (6) con valores inferiores a $+1^{\circ}\text{C}$ por encima del máximo promedio regional (MMM= 30°C) y con duración inferior a 15 días. Sin embargo, dos de ellos tuvieron un efecto significativo en la respuesta del holobionte que se

expresó, sobre todo el más largo, en un incremento significativo del fotodaño en *Symbiodinium*. Este evento se caracterizó por durar 5 días más que el primero (12 días en total) y aunque la temperatura del agua se incrementó por encima de MMM de forma similar ($<+1^{\circ}\text{C}$), fue capaz de inducir una pérdida significativa de células simbiotes en todos los organismos.

- El patrón estacional de variación en la pigmentación documentada por otros estudios con mínimos en verano y máximos en invierno, no se pudo confirmar en este estudio, pero sí se observó un descenso muy significativo en la pigmentación en el verano asociado a los periodos de mayor temperatura de agua, y una clara recuperación posterior pero sólo hasta el inicio del invierno. Cuando la temperatura del agua descendió por debajo del promedio anual y el óptimo fisiológico local (28°C), se observó una progresiva pérdida de pigmentos hasta alcanzar valores similares a los registrados en el anterior verano.
- La pérdida de pigmentación que se observó en las cuatro especies desde el inicio del invierno y hasta el inicio del siguiente verano, puede deberse a las condiciones “calientes” que se presentaron en el invierno y primavera del 2014, pero también a la aclimatación de los organismos a su nueva condición de “nubbins” (sin apoyo del resto de la colonia), así como a su nueva orientación horizontal en la colonia, lo que dió como resultado que se expresara una respuesta a alta luz del holobionte durante la primavera.
- El patrón anual de la densidad de simbiotes de este estudio, difiere con los descritos por estudios previos en los cuales se reporta un máximo anual en invierno y un mínimo en el verano. Para el presente trabajo, se observaron dos mínimos anuales. Uno en verano y otro a inicios de la primavera (denominada en este estudio la etapa de transición 2).

- Los valores máximos del contenido de células simbiotes se registraron al final del otoño (la primera etapa de transición en noviembre 2013) pero también a inicios del verano del 2013, mientras que los contenidos mínimos de *Symbiodinium* coincidieron en las cuatro especies con el máximo de temperatura del agua, registrado en agosto de 2013, durante el segundo evento de elevada temperatura del agua (>MMM).
- El estrés lumínico (reducción de Fv/Fm) que se observó durante el segundo evento de temperatura elevada del agua durante el verano del 2013, afectó negativamente la población de simbiotes. En este estudio se observó que quizás el descenso de la temperatura en invierno, especialmente cuando lo hace por debajo del óptimo fisiológico (28°C) local, puede afectar negativamente el contenido de células simbiotes.
- Se identificaron dos tendencias en el ajuste fotoaclimatativo del holobionte. Una de ellas se caracteriza por presentar mayor plasticidad en la variación de número de células simbiotes, mientras que el contenido celular de pigmentos de *Symbiodinium* (Ci) se mantiene bajo y menos variable; ésta es representada por las dos *Orbicellas*; La otra estrategia representada por la especie *M. cavernosa* consiste en una mayor plasticidad en la variación del contenido celular de pigmentos del simbiote y menor en la variación del número de simbiotes. En este estudio, *P. strigosa* fue capaz de emplear ambas estrategias, ya que varió por igual en los dos descriptores.
- Los cambios en la pigmentación del holobionte y de *Symbiodinium* son los que regulan la variación estacional del coeficiente específico de absorción de luz -a*. La pérdida de pigmentos y de simbiotes en verano, induce los valores más altos de a* mientras que en invierno se reducen. En este estudio, la pérdida de pigmentación que se observó al final del invierno y hasta el inicio del siguiente verano, también resultó en un incremento significativo de a* antes del siguiente verano (2014).

- Con respecto a las tasas metabólicas, se observó una disminución progresiva de la fotosíntesis durante el año de estudio. La disminución de la actividad fotosintética en verano la puede explicar el impacto del estrés térmico y lumínico que se observó, especialmente en el segundo evento de temperatura elevada (>MMM). Sin embargo, la falta de recuperación hacia el invierno o verano, no puede considerarse un patrón estacional de variación general a pesar de que se observó el mismo cambio en las cuatro especies. La inducción observada de una respuesta fotoaclimatativa a alta luz en los organismos experimentales durante la primavera y expresada en la pérdida de pigmentación, podría explicar la falta de recuperación de la actividad fotosintética en la primavera y principios del verano. Por lo tanto, la variación en la fotosíntesis y pigmentación de los organismos experimentales, sería la combinación de dos respuestas: la del patrón estacional y de la inducción de una respuesta a alta luz en primavera e inicios del verano. Por otro lado, todas las especies mostraron una disminución de las tasas de respiración hacia el final del invierno, y un fuerte incremento al inicio de la primavera.
- En las cuatro especies, la caída de la fotosíntesis durante el segundo evento de anomalía térmica (agosto de 2013) indujo un mínimo en el cociente P:R de todos los organismos; mientras que un severo incremento de la respiración al inicio de la primavera indujo también otro mínimo anual en este descriptor.
- El patrón de variación estacional documentado para la calcificación de corales escleractíneos no se observó claramente en este estudio. Sí se observaron valores mayores en verano (mayor actividad) aunque los periodos de elevada temperatura (especialmente durante el segundo evento) impactaron negativamente la actividad de calcificación,

especialmente en *Orbicella annualis*. Durante el invierno se observó una menor actividad de calcificación en las cuatro especies.

BIBLIOGRAFÍA.

- **Abrego, D., Ulstrup, K., Willis, B., van Oppen, M. 2008. Species-specific interactions between algal endosymbionts and coral hosts define their bleaching response to heat and light stress. Proc. R. Soc B. 275: 2273-2282.**
- **Andres, N. G. y Witman J. D. 1995. Trends in community structure of a Jamaican reef. Marine Ecology Progress Series. 118:305-310.**
- **Anthony, K., Hoegh-Guldberg, O. 2003. Kinetics of photoacclimation in corals. Oecologia 134: 23-21.**
- **Barnes, D. J., Lough, J. M. 1989. The nature of skeletal density banding in scleractinian corals: fine banding and seasonal patterns. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 126: 119-134.**
- **Barnes, D. J., Lough, J. M. 1993. On the nature and causes of the density banding in massive coral skeletons. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 187: 91-108.**
- **Bellantuono, A. J., Hoegh-Guldberg, O., Rodríguez-Lanetti, M. 2011. Resistance to thermal stress in corals without changes in symbiont composition. Proc. R. Soc. B: doi: 10.1098/rspb.2011.1780.**
- **Berkelmans, R., van Oppen, M. 2006. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a “nugget of hope” for coral reefs in an era of climate change. Proc. R. Soc. B. 273: 2305-2312. (Berkelmans y van Oppen, 2006)**

- Brown, B. E. 1997. Coral bleaching: causes and consequences. *Coral Reefs*. 16: 129-138.
- Brown, B., Ambarsari, I., Warner, M., Fitt, W., Dunne, R., Gibb, S., Cummings, D. 1999. Diurnal changes in photochemical efficiency and xanthophyll concentrations in shallow water reef corals: evidence for photoinhibition and photoprotection. *Coral Reefs*. 18: 99-105.
- Carricart-Ganivet, J. P., Beltrán-Torres, A. U., Merino, M., Ruíz-Zárate, M. 2000. Skeletal extension, density and calcification rate of the reef building coral *Montastraea annularis* in the Mexican Caribbean. *Bulletin of Marine Science*. 66(1): 215-224.
- Carricart-Ganivet, J. P., Merino, M. 2001. Growth responses of the reef-building coral *Montastraea annularis* along a gradient of continental influence in the southern Gulf of Mexico. *Bulletin of Marine Science*. 68(1): 133-146.
- Carricart-Ganivet, J. P. 2004. Sea surface temperature and the growth of the West Atlantic reef-building coral *Montastraea annularis*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 302: 249-260.
- Clausen, C. D., Roth, A. A. 1975. Effects of temperature and temperature adaptation on calcification rate in the hermatypic coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*. 33: 93-100.
- Coffroth, M. A., Santos, S. R. 2005. Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. *Protist*. 156: 19-34
- Coles, S., Brown, B. 2003. Coral bleaching- capacity for acclimatization and adaptation. *Advances in Marine Biology*. 46: 184-212.

- Colombo-Pallotta, M. F., Rodríguez-Román, A., Iglesias-Prieto R. 2010. Calcification in bleached and unbleached *Montastraea faveolata*: evaluating the role of oxygen and glicerol. Coral Reefs.
- Cruz-Piñón, G., Carricart-Ganivet, J. P., Espinoza-Ávalos, J. 2003. Monthly skeletal extension rates of the hermatypic coral *Montastraea annularis* and *Montastraea faveolata*: biological and environmental controls. Marine Biology. 143: 491-500.
- De'ath, G., Lough, M. L., Fabricius, K. E. 2009. Declining coral calcification on the Great Barrier Reef. Science. 323:116-119.
- Díaz- Pulido, G. y McCook, L. J. 2002. The fate of bleached corals: patterns and dynamics of algal recruitment. Marine Ecology Progress Series. 232:115-128.
- Dodge, R., Vaisnys, R. 1975. Hermatypic coral growth banding as environmental recorder. Nature. 258: 706-708.
- Dodge, R. E., Brass, G. W. 1984. Skeleton extension density and calcification of the reef coral, *Montastraea annularis*: St. Croix U.S. Virgin Islands. Bulletin of Marine Science. 34(2): 288-307.
- Dodge, R., Jickells, T. D., Knap, A.H., Boyd, S., Bak, R. P. 1984. Reef building coral skeletons as chemical pollution (Phosphorus) indicators. Marine Pollution Bulletin. 15:5 178-187.
- Donner, S. 2011. An evaluation of the effect of recent temperature variability on the prediction of coral bleaching events. Ecological Applications. 21(5); 1718-1730.

- Downs, C., Fauth, J., Halas, J., Dustan, P., Bemiss, J., Woodley, C. 2002. Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free radical Biology and Medicine*. 33(4) 553-543.
- Edmunds, P. J., Putnam, H. M., Gates, R. D. 2012. Photophysiological consequences of vertical stratification of *Symbiodinium* in tissue of the coral *Porites lutea*. *Biol. Bull.* 223: 226-235.
- Enríquez, S., Méndez, E. R., Iglesias-Prieto, R. 2005. Multiple scattering on coral skeletons enhances light absorption by symbiotic algae. *Limnol. Oceanogr.* 50(4) 1025-1032.
- Enríquez, S., Schubert, N. 2014. Direct contribution of the seagrass *Thalassia testudinum* to lime mud production. *Nature communications*. DOI: 10.1038/ncomms4835.
- Fagonee, I., Wilson, H. B., Hassell, M. P. y Turner, J. R. 1999. The dynamics of zooxanthellae populations: A long-term study in the field. *Science* 283, 843
- Fitt, W., Brown, B., Warner, M., Dunne, R. 2001. Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral Reefs*. 20:51-65.
- Fitt, W. K., McFarland, F. K., Warner, M. E., y Chilcoat, G. C. 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnol. Oceanogr.*, 45(3): 677-685.

- Fitt, W. K., Spero, H. J., Halas, H., White, M. W., Porter, J. 1993. Recovery of the coral *Montastraea annularis* in the Florida Keys after the 1987 Caribbean “bleaching event”. *Coral Reefs*. 12:57-64.
- Fitt, W., Warner, M. 1995. Bleaching patterns of four species of Caribbean reef corals. *Biological Bulletin*. 189(3): 298-307.
- Gattuso, J. P., Allemand, D., Frankignoulle, M. 1999. Photosynthesis and calcification at cellular, organismal and community level in coral reefs: A review on interactions and control by carbonate chemistry. *Am Zool*. 39: 160–183.
- Gattuso, J. P., Reynaud-Vaganay, S., Furla, P., Romaine-Lioud, S., Jaubert, J. 2000. Calcification does not stimulate photosynthesis in the zooxanthellae scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnol Oceanogr* 45:246–250.
- Goldenheim, W., Edmunds, P. 2011. Effects of flow and temperature on growth and photophysiology of scleractinian corals in Moorea, French Polynesia. *Biol. Bull*. 221: 270-279.
- Gorbunov, M., Kelber, Z., Lesser, M., Falkowski, P. 2001. Photosynthesis and photoprotection in symbiotic corals. *Limnology and Oceanography*. 46(1): 75-85.
- Goreau, T. 1959. The physiology of skeleton formation in corals. I. A method for measuring the rate of calcium deposition by corals under different conditions. *Biological Bulletin*. 116(1): 59-75.

- Goreau, T., Goreau, N. 1960. The physiology of skeleton formation in corals. III. Calcification rate as a function of colony weight and total nitrogen content in the reef coral *Manicina areolata* (Linnaeus). *Biological Bulletin*. 118(3): 419-429.
- Goreau, T. J., Hayes, R. L. 1994. Coral Bleaching and Ocean “Hot Spots”. *Ambio*. 23: 176-180.
- Guzmán, H. M., Cortés, J. 1989. Growth rates of eight species of scleractinian corals in the Eastern Pacific (Costa Rica). *Bulletin of Marine Science*. 44(3): 1186-1194.
- Hennige, S. J., McGinley, M. P., Grottoli, A. G., Warner, M. E. 2011. Photoinhibition of *Symbiodinium* spp. within the reef corals *Montastraea faveolata* and *Porites astreoides*: implications for coral bleaching.
- Hennige, S. J., Sugget, D. J., Warner, M. E., McDougall, K. E., y Smith, D. J. 2009. Photobiology of *Symbiodinium* revisited: bio-physical and bio-optical signatures. *Coral Reefs*. 28: 179-195.
- Herre, E. A., Knowlton, N., Mueller, U. G., & Rehner, S. A. 1999. The evolution of mutualisms: exploring the paths between conflict and cooperation. *Trends in Ecology and Evolution*, 14, 49-53.
- Highsmith, R. C. 1979. Coral growth rates and environmental control of density banding. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 37: 105-125.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of world’s coral reefs. *Marine Freshwater Research*. 50:839-866.

- Howe, S., Marshall, A. 2002. Temperature effects on calcification rate and skeletal deposition in the temperate coral *Plesiastrea versipora* (Lamarck). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 275: 63-81.
- Hudson, J. H. 1981. Growth rates in *Montastraea annularis*: a record of environmental change in Key Largo coral reef Marine Sanctuary, Florida. *Bulletin of Marine Science*. 31(2): 444-459.
- Hughes, P. T. Rodríguez, J. M. 2007. Phase shifts, herbivory, and the resilience of the coral reefs to climate change. *Current Biology*. 17: 360-365.
- Iglesias-Prieto, R., Trench, R. 1994. Acclimation and adaptation to irradiance in symbiotic dinoflagellates I. Responses of the photosynthetic unit to changes in photon flux density. *Marine Ecology Progress Series*. 113: 163-175.
- Iglesias-Prieto, R., Trench, R. 1996. Spectroscopic properties of chlorophyll a in the water-soluble peridinin-chlorophyll a protein complexes (PCP) from the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum*. *J. Plant Physiol*. 144: 510-526.
- Iglesias-Prieto, R., Trench, R. 1997. Acclimation and adaptation to irradiance in symbiotic dinoflagellates II. Response of chlorophyll-protein complexes to different photon-flux densities. *Marine Biology*. 130: 23-33.
- Iglesias-Prieto, R., Trench, R. 2005. Regulation of photochemical activity in cultured symbiotic dinoflagellates under nitrate limitation and deprivation. *Marine Biology*. 146: 1063-1073.

- Jeffrey, S. W., Humphrey, G. F. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c₁ and c₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen (BPP)* 167:191–194.
- Jokiel, P. L. 2013. Coral reef calcification: carbonates, bicarbonates and proton flux under conditions of increasing ocean acidification. *Proc. R. Soc. B.* 280: 20130031.
- Jones, A., Berkelmans, R., van Oppen, M., Mieog, J., Sinclair, W. 2008. A community change in the algal endosymbionts of a scleractinian coral following a natural bleaching event: field evidence of acclimatization. *Proc. R. Soc.* 275: 1359-1365.
- Kemp, D. W., Hernández-Pech, X., Iglesias-Prieto, R., Fitt, W., Schmidt, G. W., 2014. Community dynamics and physiology of *Symbiodinium* spp. before, during, and after a coral bleaching event. *Limnol. Oceanogr.* 59 (3): 788-797.
- Knutson, D., Buddemeier, R., Smith, S. 1992. Coral chronometers: seasonal growth bands in reef corals. *Science.* 177 (4045): 270-272.
- Koop, K.; Booth, D.; Broadbents, A.; Brodie, J.; Bucher, D.; Capone, D.; Coll, J.; Dennison, W.; Erdman, M.; Harrison, P.; Hoegh-Guldberg, O.; Hutchings, P.; Jones, G.; Larkum, A.; O'Neil, J.; Steven, A.; Tentori, E.; Yellowlees, D. 2001. ENCORE: The Effect of Nutrient Enrichment on Coral Reefs. Synthesis of Results and Conclusions. *Marine Pollution Bulletin* 42:91-120.
- Kuffner, I. B. Y Paul, V. J. 2001. Effects of nitrate, phosphate and iron on the growth of macroalgae and benthic cyanobacteria from Cocos Lagoon, Guam. *Marine Ecology Progress Series.* 222:63-72.

- LaJeunesse, T. C., Loh, W. K., van Hoesik, R., Hoegh-Guldberg, O., Schmidt, G. W., y Fitt, W. K. 2003. Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. *Limnol. Oceanogr.*, 48(5): 2046-2054.
- Lesser, M. P. 1996. Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnol. Oceanogr.* 41 (2): 271-283.
- Lesser, M. P., Fariell, J. H., 2004. Exposure to solar radiation increases damage to both host tissues and algal symbionts of corals during thermal stress. *Coral Reefs.* 23: 367-377.
- Liddell, W. D. 1992. Ten Years of Disturbance and Change on a Jamaican Fringing Reef. *Proceedings of the Seventh International Coral Reef Symposium, Guam.* 1:144-150.
- Liu, G., Rauenzahn, J., Heron, S., Eakin, C., Skirving, W., Christensen, T., Strong, A., Li, J. 2013. NOAA Technical Report NESDIS 143.
- Lough, J. M., Cantin, N. E. 2014. Perspectives on massive coral growth rates in a changing ocean. *Biol. Bull.* 226: 187-202.
- Marubini, F., Davies, P. S. 1996. Nitrate increases zooxanthellar population density and reduces skeletogenesis in corals. *Marine Biology.* 127: 319-328.
- McClanahan, T., Ateweberhan, M., Muhando, C., Maina, J., Mohammed, M. 2007. Effects of climate and seawater temperature variation on coral bleaching and mortality. *Ecological Monographs.* 77(4): 503-525.

- **Mc Cook, J. L. Jompa, J. y Díaz, P. J. 2001. Competition between corals and algae on coral reefs, a review of evidence and mechanism. *Coral Reefs*. 19: 400-417.**
- **Mc Manus, W. J. y Polsenberg, F. J. 2004. Coral-algal phase shifts on coral reefs. Ecological and environmental aspects. *Progress in Oceanography*. 60: 263-279.**
- **Merino, M. 1997. Upwelling on the Yucatan Shelf: hydrographic evidence. *J. Mar.Syst.* 13: 101–121.**
- **Meyer, E., Weis, V. 2012. Study of cnidarian-algal symbiosis in the “omics” age. *Biol. Bull.* 223: 44-65.**
- **Muller-Parker, G. and D’Elia, C.F. 1997. Interactions between corals and their symbiotic algae. In Birkeland, C. (ed), *Life and Death of Coral Reefs*, Chapman and Hall, New York, p. 96-113.**
- **Muscantine, L., Falkowski, P., Dubinsky, Z., Cook, P., McCloskey, L. 1989. The effect of external nutrient resources on the population dynamics of zooxanthellae in a reef coral. *Proc. R. Soc. Lond.* 236: 311-324.**
- **Pearse, V., Muscatine, L. 1971. Role of symbiotic algae (zooxanthellae) in coral calcification. *Biological Bulletin*. 141(2): 350-363.**
- **Perry, C. T., Spencer, T., Kench, P. S. 2008. Carbonate budgets and reef production states: a geomorphic perspective on the ecological phase shift conception. *Coral Reefs*. 27:853-866.**

- Pettay, D., Wham, D., Smith, R., Iglesias-Prieto, R., LaJeunesse, T. 2015. Microbial invasion of the Caribbean by an Indo-Pacific coral zooxanthella. PNAS, Early Edition. pp: 1-6
- Rodríguez-Román, A., Hernández-Pech, X., Thomé, P. E., Enríquez, S., Iglesias-Prieto, R. 2006. Photosynthesis and light utilization in the Caribbean coral *Montastraea faveolata* recovering from a bleaching event. Limnol. Oceanogr., 51 (6) 2702-2710.
- Sampayo, E. M., Ridgway, T., Bongaerts, P., Hoegh-Guldberg, O. 2008. Bleaching susceptibility and mortality of corals are determined by fine-scale differences in symbiont type. Proc. Nat. Ac. S. 105(30): 10444-10449.
- Smith, S. V., Kinsey, D. W. 1978. in Coral Reefs: Research Methods (eds Stoddart D. R., Johannes R. E.) (UNESCO).
- Stat, M., Carter, D. y Hoegh-Guldberg, O. 2006. The evolutionary history of *Symbiodinium* and Scleractinian hosts: Symbiosis, diversity, and the effect of climate change. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics 8, 23-43.
- Suwa, R., Hirose, M. Hidaka, M. 2008. Seasonal fluctuations in the zooxanthellar genotype composition and photophysiology in the corals *Pavona divaricata* and *P. decusata*. Marine Ecology Progress Series. 361: 129-137. (Suwa *et al.* 2008).
- Thornhill, D. J., LaJeunesse, T. C., Kemp, D. W., Fitt, W. K., y Schmidt, G. W. 2006. Multi-year, seasonal genotypic surveys of coral-algal symbioses reveal prevalent stability or post-bleaching reversion. Marine Biology 148: 711-722.

- Toller, W., Rowan, R., Knowlton, N. 2001. Repopulation of zooxanthellae in the Caribbean corals *Montastraea annularis* and *M. faveolata* following experimental disease-associated bleaching. *Biological Bulletin*. 201(3): 360-373.
- Tomascik, T. 1990. Growth rates of two morphotypes of *Montastraea annularis* along an eutrophication gradient, Barbados, W.I. *Marine Pollution Bulletin*. 21:8 376-381.
- Tomascik, T., Sander, F. 1985. Effects of eutrophication on reef-building corals I. Growth rate of the reef-building coral *Montastraea annularis*. *Marine Biology*. 87: 143-155.
- Tunnell, J. W. Jr. 2007. Introduction. En: Tunnell, J. W. Jr. E. A. Chávez (Eds.). *Coral reef of Southern Gulf of Mexico*. Texas A&M University Press. USA. pp. 1-4.
- Walther, G., Post, E., Convey, P., Menzel, A., Parmesan, C., Beebee, T., Fromentin, J., Hoegh-Guldberg, O., Bairlein, F. 2002. Ecological responses to recent climate change. *Nature*: 418.
- Warner, M. E., Chilcoat, G. C., McFarland, F. K. Y Fitt, W. K. 2002. Seasonal fluctuations in the photosynthetic capacity of photosystem II in symbiotic dinoflagellates in the Caribbean reef-building coral *Montastraea*. *Marine Biology* 141: 31-38.
- Weeks, S. J., Anthony, K. R., Bakun, A., Feldman, G. C., Hoegh-Guldberg, O. 2008. Improved predictions of coral bleaching using seasonal baselines and higher spatial resolution. *Limnol. Oceanogr.* 53(4) 1369-1375.

- **Winters, J., Loya, Y., Beer, S. 2006. In situ measured seasonal variations in Fv/Fm on two common Red Sea corals. Coral Reefs. 25: 593:598.**
- **Yamashita, H., Suzuki, G., Hayashibara, T., Koike, K. 2011. Do corals select zooxanthellae by alternative discharge?. Mar. Biol. 158: 87-100.**
- **Yao, W., Byrne, R. H. 1998. Simplified seawater alkalinity analysis: Use of linear array spectrometers. Deep Sea Res. I (45): 1383–1392.**
- **Yellowlees, D., Rees, T. A. V., Leggat, W. 2008. Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. Plant Cell Environ. 31: 679-694.**

ANEXO FOTOGRÁFICO



Fragmentación de colonias coralinas



Corte de fragmentos de coral



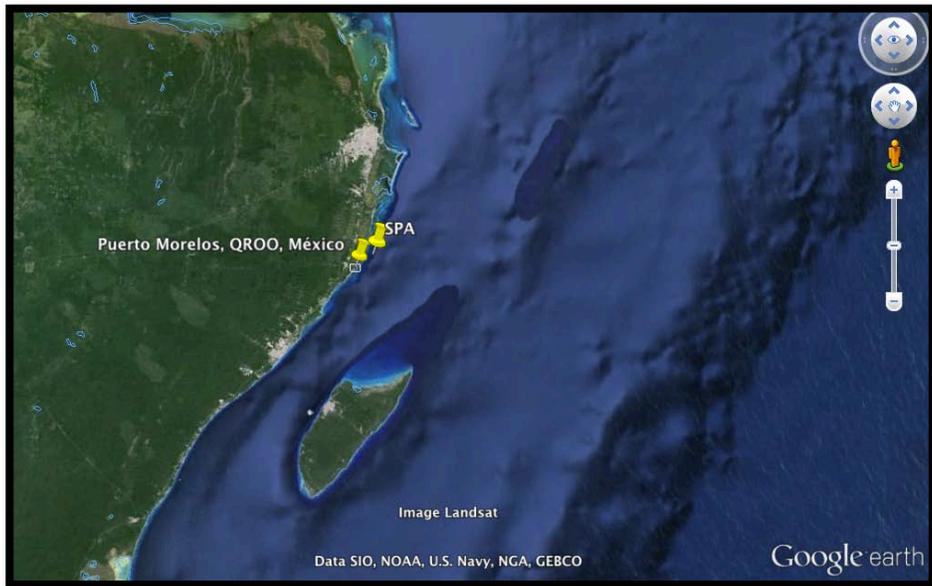
Adhesión de los corales a las placas enumeradas



Fragmentos de coral



SPA



UBICACIÓN DEL SPA



Rieles con corales, en el "SPA"



Fluorómetro Diving-PAM



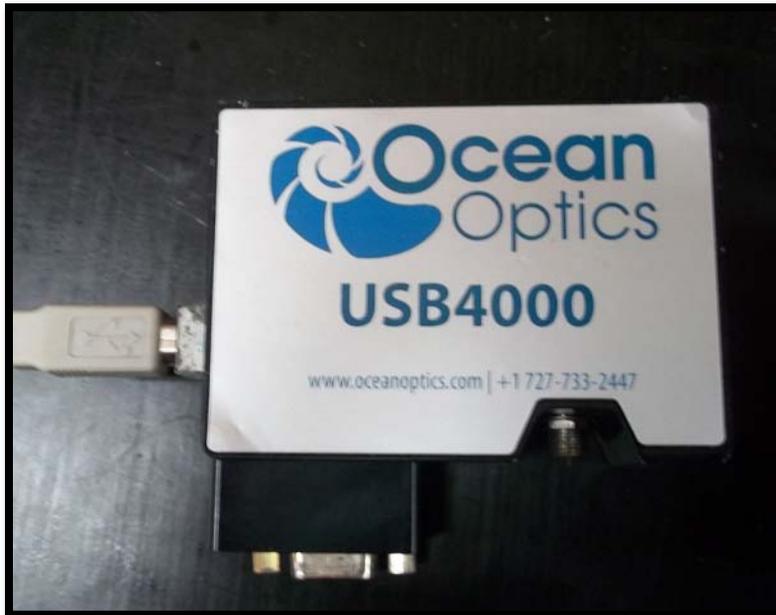
Mediciones con el PAM



Mediciones con el PAM



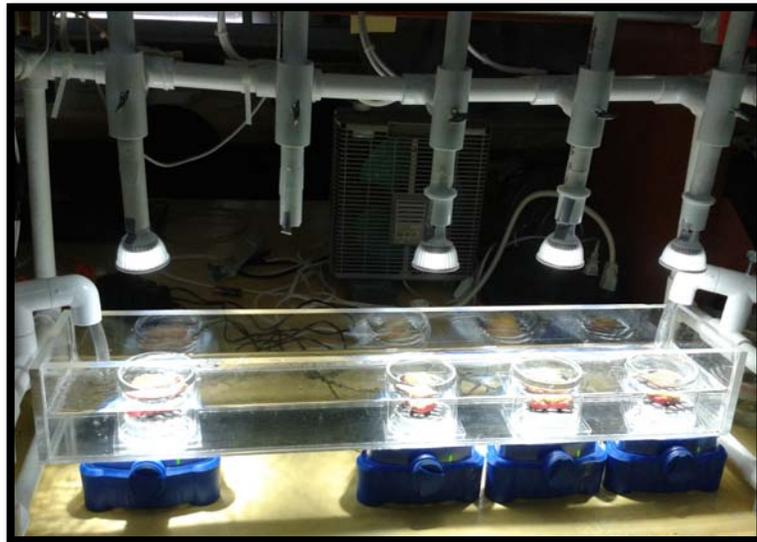
Equipo para mediciones de espectros de reflectancia



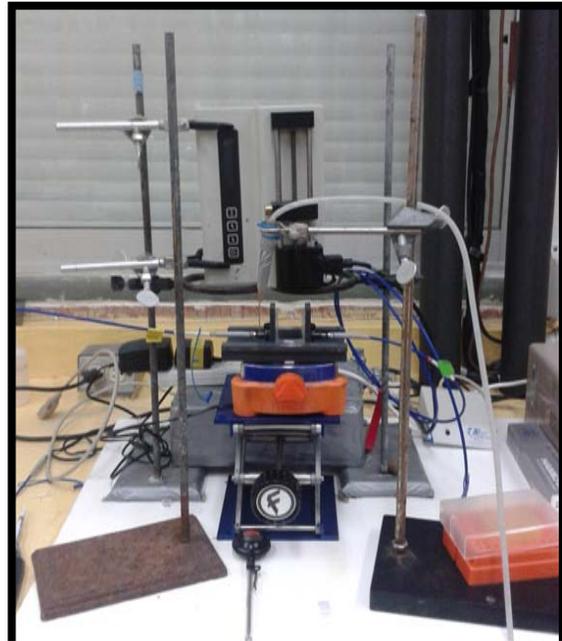
Espectroradiómetro Ocean Optics.



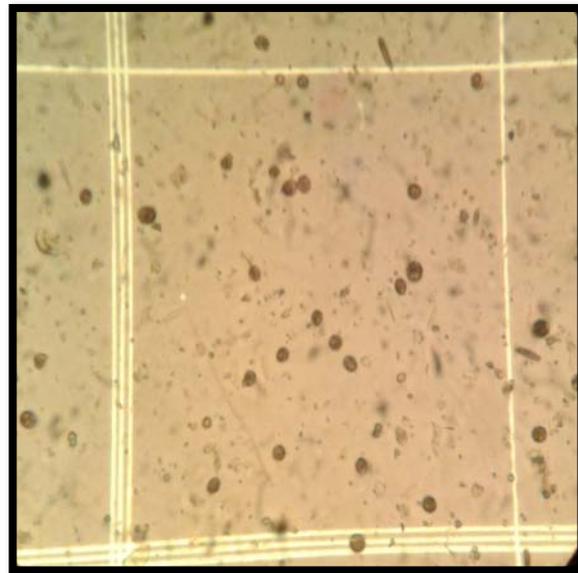
Mediciones de Fotosíntesis/Respiración



Incubaciones de corales para mediciones de las tasas de calcificación



Mediciones de anomalía de alcalinidad



Conteo en hemacitómetro de células simbiotas