



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

**“PROPIEDADES ÓPTICAS EN DOS ETAPAS DE DESARROLLO
DEL CORAL *Favia fragum*”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA:
SANDRA MENDOZA QUIROZ

TUTOR PRINCIPAL
DRA. ANASTAZIA TERESA BANASZAK
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, PUERTO MORELOS

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR
DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO
DR. JUAN PABLO CARRICART GANIVET
INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, PUERTO MORELOS

DR. EUGENIO CARPIZO ITUARTE
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOGRÁFICAS, ENSENADA
DR. HÉCTOR REYES BONILLA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA SUR, BCS.
DR. PEDRO MEDINA ROSAS
CENTRO UNIVERSITARIO DE LA COSTA, PUERTO VALLARTA.

CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO, 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**“PROPIEDADES ÓPTICAS EN DOS ETAPAS DE DESARROLLO
DEL CORAL *Favia fragum*”.**

T E S I S

que para obtener el grado académico de:

Maestro en Ciencias
(Biología Marina)

P r e s e n t a:

SANDRA MENDOZA QUIROZ

Director de Tesis:
DRA. ANASTAZIA TERESA BANASZAK

Comité Tutorial:
DR. ROBERTO IGLESIAS PRIETO
DR. JUAN PABLO CARRICART GANIVET
DR. EUGENIO CARPIZO ITUARTE
DR. HÉCTOR REYES BONILLA
DR. PEDRO MEDINA ROSAS

Ciudad de México, Junio 2016.

Dedicatoria

A mi familia: Luis, Dany, mamá y papá, por impulsarme siempre a seguir adelante para superar todas mis metas. Los llevo siempre en mi corazón.

A Gandhi, porque siempre has estado ahí para levantarme cada que me siento vencida y para festejar conmigo cada vez que hemos triunfado, tu amor me fortalece día a día.

Agradecimientos

Al posgrado de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM y CONACYT por la beca y el apoyo económico otorgado durante mis estudios de posgrado. Así también al financiamiento Núm. 153260 de CONACYT, al proyecto PROCER 2014 bajo el concepto de apoyo 9.2 y al proyecto de CONABIO JA009 para la culminación de esta tesis.

A mi directora de tesis, la Dra. Anastazia Banaszak por todo el apoyo brindado y por creer en mí todo este tiempo. Por todo el afecto y las enseñanzas que tú y tu familia me han brindado. Por enseñarme que hay que tener un plan A, B, C, D, E,... para todo. ☺ ¡Mil gracias!

Al Dr. Roberto Iglesias Prieto; por todas las enseñanzas, comentarios, consejos y críticas constrictivas sobre este trabajo; que sin ellos este tesis no hubiera sido posible. Por el préstamo de material y equipo para realizar el experimento.

A los miembros de mi comité tutorial: Dr. Juan Pablo Carricart Ganivet, Dr. Eugenio Carpizo Ituarte, Dr. Pedro Medina Rosas y Dr. Héctor Reyes Bonilla. Por su valioso tiempo invertido en este proyecto, y sus comentarios para nutrir este trabajo.

Dra. Susana Enríquez Domínguez, por el apoyo que me brindó para aclarar dudas sobre mi tema de tesis, además por préstamo de material y equipo para analizar muestras.

Al Servicio de Hidrografía y Meteorología de la UASA, ICMYL-UNAM, por proporcionar datos de irradiancia y temperatura. Así como al M. en C. Edgar Escalante Mancera, por su apoyo para el procesamiento de datos.

A Nancy Escandón y Ricardo Cruz, porque nunca dudaron en ayudarme durante este proyecto. Gracias por su valiosa amistad que me ha acompañado estos años, por soportarme y convivir en todo momento, compartiendo alegrías, tristezas, aventuras y más.

A los compañeros del grupo de fotobiología: Nancy, Ricardo, Tati, Tim, Román, Nadine, Luisito. Y al Dream team: Aurora, Miriam, Sergio, Kelly, Eduardo, Víctor, Felipe... por el apoyo moral, terapia psicológica y su compañía durante este tiempo. Principalmente a Aurora por sus consejos tan acertados, a Miriam por apoyarme en los ensayos de mediciones y a Sergio por sus comentarios aportados a este trabajo.

A la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales de Puerto Morelos por brindarme el apoyo para vivir un tiempo en la unidad habitacional y a todo el personal que han hecho amena mi estancia en este lugar.

A mi familia que siempre me ha apoyado, a pesar de la distancia. Por sus pláticas y mensajes que siempre iluminaban mi día. Esta es una estrellita más para todos, gracias por soportar mi ausencia, yo también los extraño.

A Gandhi por compartir este sueño, vivirlo juntos y apoyarme siempre. Porque en mis momentos de desesperación siempre encuentras las palabras adecuadas para darme calma y me haces ver al mundo de una manera diferente. Gracias por tu compañía, el cariño y las experiencias de tantos años.

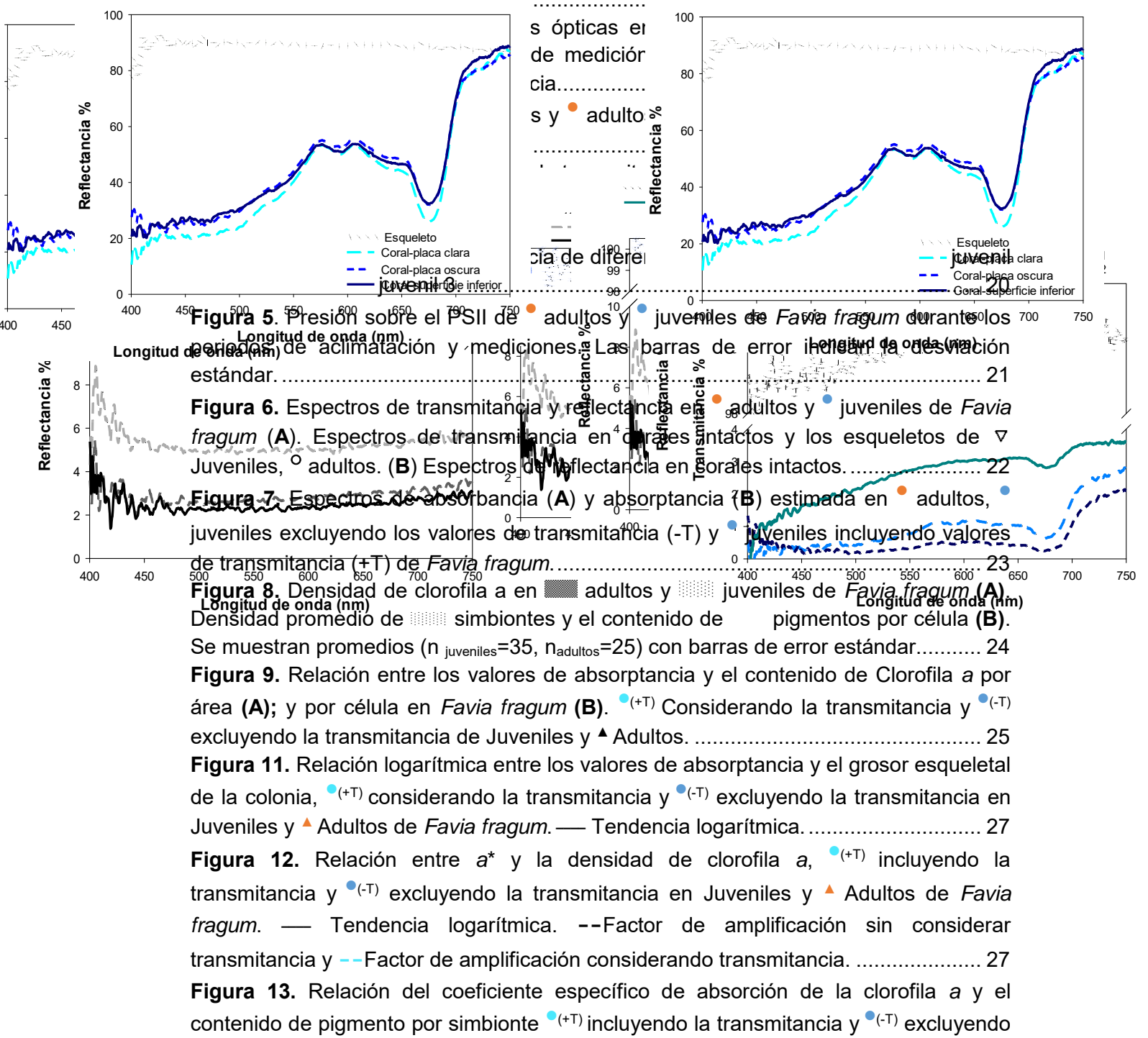
Finalmente a todas las personas que directa e indirectamente hicieron posible este trabajo.

Contenido

I. Resumen	7
II. Introducción	8
III. Hipótesis	9
IV. Objetivos	10
General	10
Específicos.....	10
V. Material y método	11
Recolecta y cultivo de corales.	11
Ensayos de mediciones de fluorescencia	12
Ensayos de mediciones de propiedades ópticas	12
Medición de las propiedades ópticas	14
Análisis de muestras	15
Extracción de simbiontes	15
Determinación de clorofila <i>a</i>	16
Densidad de células simbiontes	17
Análisis de datos	18
VI. Resultados	18
Ensayos de medición de fluorescencia y propiedades ópticas	18
Fluorescencia	18
Transmitancia	19
Reflectancia.....	19
Experimento fluorescencia y propiedades ópticas	21
Propiedades ópticas	21
Densidad de pigmentos y células simbiontes	24
Descriptores de absorción de luz.....	25
VII. Discusión	31
VIII. Conclusiones	36
IX. Referencias	37

Índice de figuras

Figura 1. Mapa del área de recolecta de *Favia fragum*. **A.** México, estado de Quintana Roo. **B.** Quintana Roo, Puerto Morelos (cuadro rojo). **C.** Puerto Morelos, sitio de recolecta.



la transmitancia en Juveniles y ▲ adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica.
 28

Figura 14. Relación del coeficiente específico de absorción de la clorofila *a* y la densidad de simbioses ●^(+T) incluyendo la transmitancia y ●^(-T) excluyendo la transmitancia en Juveniles y ▲ adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica.... 29

Figura 15. Relación entre el coeficiente *a** con el grosor y la transmitancia esqueletal. **(A)** Coeficiente *a** y grosor esqueletal entre juveniles y adultos. **(B)** *a** y transmitancia % en juveniles ●^(+T) incluyendo la transmitancia y ●^(-T). excluyendo la transmitancia en Juveniles y ▲ adultos de *Favia fragum*. — Línea de tendencia potencial **(A)** y logarítmica **(B)**..... 30

I. Resumen

El conjunto de elementos que integran un coral (esqueleto, hospedero, simbioses, etc.), y la relación que tienen estos elementos para su funcionamiento, le brindan cualidades como la capacidad de regular la cantidad de luz que reciben, absorbiendo una fracción variable de esta irradiancia y transmitiendo, reflejando o dispersando el resto de la luz. El objetivo del presente estudio fue describir las propiedades ópticas en el coral *Favia fragum* a dos fases de desarrollo con diferentes grosores esqueléticos, el juvenil y el adulto. Se utilizaron 35 juveniles (grosor menor a 0.5 cm) y 25 colonias adultas (grosor mayor a 1 cm) para obtener espectros de transmitancia y reflectancia. A partir de los espectros se estimó la absorbancia y absorptancia. Además, se analizó el contenido de simbioses y clorofila a, para estimar el coeficiente específico de absorción. El valor de transmitancia en los esqueletos de juveniles fue cercano al 3%. La reflectancia observada a 675 nm fue de 12% en adultos y 37% en reclutas, resultando en valores de absorptancia de 62% y 88% respectivamente. Se encontró una menor densidad de simbioses en juveniles que en adultos, con mayor contenido de pigmentos por simbiote en los juveniles. El coeficiente específico de absorción, indicó que los adultos son hasta 1.8 veces más eficientes absorbiendo luz que los juveniles. Se reconoció que con el incremento del grosor esquelético se reduce la pérdida de luz por transmitancia, que a su vez está relacionado con el incremento en la eficiencia de absorción lumínica del coral. Además se recalcó que hay una modulación inversa entre los pigmentos y las células simbióticas en corales con esqueleto grueso y delgado, que influye en la eficiencia de absorción de luz. El componente esquelético manifiesta el incremento de la complejidad tanto morfológica como intracelular durante el crecimiento del coral.

II. Introducción

Los corales del orden Scleractinia son invertebrados marinos que pertenecen al Filo Cnidaria y a la Clase Anthozoa (Goreau *et al.* 1976). Se encuentran formados por unidades modulares funcionales llamados pólipos (Jordán Dahlgren 1993) y mantienen una importante asociación simbiótica con dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium* (Muscatine 1967; Smith *et al.* 2005).

En esta asociación el coral hospedero recibe productos fotosintéticos por parte del dinoflagelado simbiote, principalmente glicerol, cubriendo el 95% de sus necesidades metabólicas (Muscatine 1990; Trench 1987, 1993), lo que contribuye considerablemente a la formación del esqueleto y al crecimiento del coral (Goreau 1959; Muscatine 1990; Colombo-Pallota *et al.* 2010). Así mismo, los dinoflagelados que habitan en el endodermo del hospedero aprovechan los nutrientes inorgánicos y CO₂ provenientes del metabolismo del coral y el ambiente lumínico apropiado para la fijación fotosintética de carbono orgánico (Muscatine 1967, 1990; Harland *et al.* 1992; Enríquez *et al.* 2005).

Esta simbiosis permite que la luz se vuelva un factor determinante en la prevalencia de los corales con dinoflagelados fotosintéticos, regulando elementos de su productividad, fisiología y ecología (Roth 2014). Debido a que los corales absorben una fracción variable de la irradiancia que reciben, el resto de la luz puede ser transmitida a través del esqueleto del coral, reflejada o dispersada (Enríquez *et al.* 2005). De ahí que los corales escleractinios presentan adaptaciones morfológicas para maximizar la captación de luz y la adquisición de energía. En este sentido, el esqueleto coralino funciona como una trampa de fotones al facilitar el esparcimiento múltiple de la luz (Enríquez *et al.* 2005). El campo de luz difuso que se produce dentro del esqueleto del coral debido al esparcimiento múltiple de la luz permite reducir el autosombreado de los pigmentos, incrementando la probabilidad y eficiencia de absorción de un fotón incidente por los pigmentos de los dinoflagelados (Enríquez *et al.* 2005).

También, los corales son capaces de adaptarse al ambiente lumínico en el que se encuentran, modificando la densidad de células simbiotes dentro del tejido y/o de la cantidad de clorofila *a* dentro del simbiote, entre otras (Lesser *et al.* 2000; Stimson *et al.* 2002; Enríquez *et al.* 2005).

Un indicador que ha permitido ponderar la eficiencia con que los dinoflagelados simbiotes captan la luz, es el coeficiente específico de absorción de la clorofila *a*

(a^*_{chla}), que se formuló inicialmente en estudios de dinoflagelados de vida libre o simbioses recién aislados del coral (Morel y Bricaud 1981; Kiefer y Mitchell 1983; Dubinsky *et al.* 1984; Lesser *et al.* 2000; Stambler y Dubinsky 2005). Enríquez y colaboradores (2005) fueron los primeros en utilizar el coeficiente a^*_{chla} para estimar la eficiencia de absorción de luz en corales adultos intactos en función de la densidad de sus pigmentos y considerando las propiedades ópticas del esqueleto (Enríquez *et al.* 2005, Rodríguez-Román *et al.* 2006), resaltando que dichas propiedades son muy importantes en la estimación de esta eficiencia.

Anteriormente, se ha reconocido que durante el desarrollo y crecimiento de los corales, hay un cambio muy evidente en la conformación del esqueleto que marca una relación entre el número de pólipos, el diámetro de la colonia y la altura de la misma (Chadwick-Furman *et al.* 2000; Bramanti *et al.* 2005; Hatta y Ichikawa 2012). Por lo que, en este estudio se planteó describir las propiedades ópticas de corales juveniles de *Favia fragum* con esqueleto delgado (menor a 0.5 cm) y adultos de con esqueleto grueso (mayor a 1 cm), y la implicación de estas propiedades en la eficiencia de absorción lumínica.

III. Hipótesis

El incremento en el grosor del esqueleto coralino modificará el campo lumínico, por lo que se reducirá la pérdida de luz incidente por procesos de transmitancia en el esqueleto grueso de corales adultos (mayor a 1 cm), incrementando la eficiencia de absorción de luz de estos organismos. En cambio en corales con un esqueleto delgado como los juveniles (menor a 0.5 cm), la pérdida de luz por transmitancia a través del esqueleto podría ser mayor por lo que afectará su eficiencia en la absorción de la luz.

IV. Objetivos

General

Determinar si existe una diferencia funcional en la absorción de luz en corales con diferente grosor esquelético, empleando como ejemplo juveniles y adultos del coral *Favia fragum*.

Específicos

Obtener juveniles de *Favia fragum* a partir del cultivo de larvas y reclutas en acuarios y, su mantenimiento hasta la etapa juvenil (un año de edad).

Estimar el coeficiente específico de absorción (a^*_{Chla}), a partir de la obtención de espectros de reflectancia y el contenido de clorofila *a* en juveniles y adultos.

Determinar la pérdida de luz por transmitancia en los esqueletos de los juveniles.

Determinar las estrategias de captación de luz a partir del coeficiente específico de absorción, los componentes del tejido y el esqueleto en juveniles y adultos.

V. Material y método

Recolecta y cultivo de corales.

Durante el periodo de planulación de la especie *Favia fragum* en marzo del 2013 (siete días después de luna nueva), se obtuvieron larvas de 17 colonias adultas (diámetro mayor a 3 cm). Las colonias adultas utilizadas para las mediciones posteriores, fueron recolectadas en la laguna arrecifal (20° 52' 4.9"N, 86° 52' 0.4"O) del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, Quintana Roo (Fig. 1).

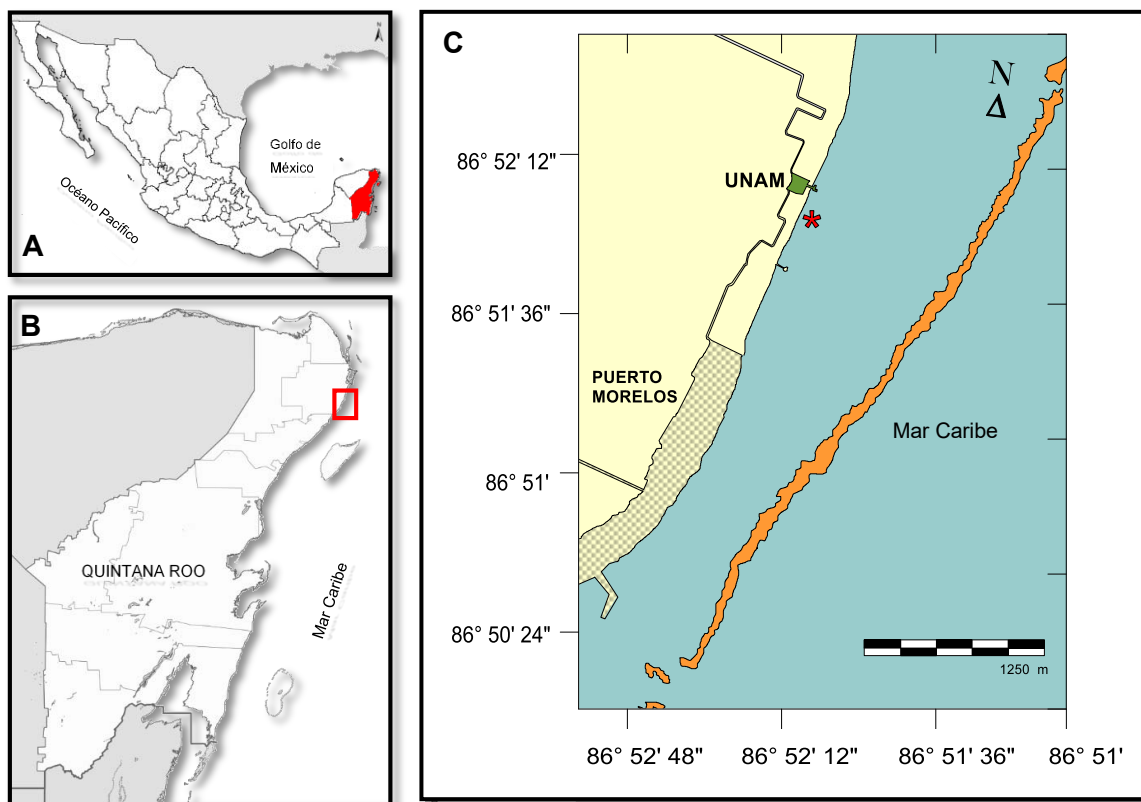


Figura 1. Mapa del área de recolecta de *Favia fragum*. **A.** México, estado de Quintana Roo. **B.** Quintana Roo, Puerto Morelos (cuadro rojo). **C.** Puerto Morelos, sitio de recolecta (estrella).

Los reclutas, originados a partir de las larvas de *Favia fragum*, fueron cultivados hasta la etapa juvenil (un año) en los sistemas de acuarios de la Unidad Académica de Sistemas Arrecifales de la UNAM, en Puerto Morelos, con flujo abierto (capacidad:

1100 litros), salinidad del agua entre 35 y 36 UPS, con un intervalo de temperatura de 27° C a 32° C. La irradiancia incidente fue regulada por mallas hasta atenuar un 40%.

Una vez que los juveniles lograron un área mayor a 0.2 cm², un diámetro de al menos 0.5 cm y un grosor esquelético entre 0.1 cm y 0.5 cm se iniciaron ensayos de las mediciones de fluorescencia y propiedades ópticas en juveniles y adultos.

Ensayos de mediciones de fluorescencia

Con el fin de monitorear la aclimatación de los organismos se realizaron mediciones de fluorescencia de la clorofila *a* del simbiote, utilizando un fluorómetro de pulso de amplitud modulada sumergible (Diving-PAM, WALZ, Alemania), registrando la reducción máxima del rendimiento cuántico efectivo (*quantum yield*) del fotosistema II (PSII, por sus siglas en inglés) a medio día solar ($\Delta F/F_m'$), con respecto a su rendimiento máximo en la oscuridad (F_v/F_m) minutos después del atardecer (Iglesias-Prieto *et al.* 2004).

Durante estas pruebas se utilizaron 20 juveniles a los que se les realizaron mediciones diurnas cada hora durante 6 días, para determinar los ajustes adecuados del fluorómetro probando diferentes intensidades y amplitudes de saturación así como modificando la ganancia de la señal electrónica. Para evitar detectar la fluorescencia de algas adyacentes en cada medición se emplearon cubiertas de goma EVA (etilvinilacetato) negra, que solo dejaban al descubierto el área del juvenil a medir.

Ensayos de mediciones de propiedades ópticas

Considerando que la reflectancia (R) es la fracción de luz reflejada del total de luz incidente; y la transmitancia (T) la fracción de luz transmitida del total de la luz incidente (Enríquez *et al.* 2005), se realizaron ensayos en los corales juveniles intactos y sus esqueletos con el fin de lograr mayor precisión de estos valores.

Las mediciones de reflectancia (R) se realizaron en un arreglo óptico compuesto por una fuente de luz, la muestra (colonia de coral) y una fibra óptica conectada a un espectrómetro (Fig. 2A). Tanto la fuente de luz como el sensor se colocaron a 45° con respecto al plano horizontal de la muestra. Para las mediciones las colonias se mantuvieron dentro de un recipiente de color negro opaco sumergidas en agua de mar (filtrada a 1 μm) hasta 2 cm de profundidad. La distancia entre la muestra

y la fibra óptica fue menor a 1 cm (Fig. 2B). Se emplearon cubiertas de goma EVA negra, que solo dejaban al descubierto el área del juvenil a medir. Este arreglo óptico se mantuvo durante todas las mediciones de acuerdo con lo establecido por Enríquez *et al.* (2005).

Con base en la obtención de espectros de reflectancia de materiales de color negro incluyendo: papel, mica, goma EVA y plastilina; se seleccionó al material más opaco (plastilina: reflectancia del 2% a 675 nm) para ser empleado como cubierta para evitar la reflectancia de algas adyacentes al coral, permitiendo dejar expuesta solo el área del juvenil a medir.

Las mediciones de transmitancia (T) se obtuvieron en un arreglo vertical integrado por una fuente de luz (Fig. 2C) colocada a una distancia de 15 cm sobre la muestra. La muestra se mantuvo dentro de un recipiente de acrílico transparente con agua de mar (filtrada a 1 μm). Por debajo, a una distancia mínima, se colocó la fibra óptica, esta a su vez conectada a un espectrómetro (Enríquez *et al.* 2005).

Tanto para las mediciones de reflectancia como de transmitancia se utilizó un espectrómetro (USB2000 Ocean Optics) conectado a una fibra óptica (400 μm de diámetro) y se recurrió al software Spectra Suite para obtener espectros con intervalos de 400 nm a 750 nm.

Así mismo, los esqueletos de los juveniles se emplearon como referencia del 100% de reflectancia, con respecto a los corales intactos. En cada caso, la medición se realizó por triplicado girando la muestra en sentido de las manecillas del reloj para obtener un valor promedio de cada parámetro.

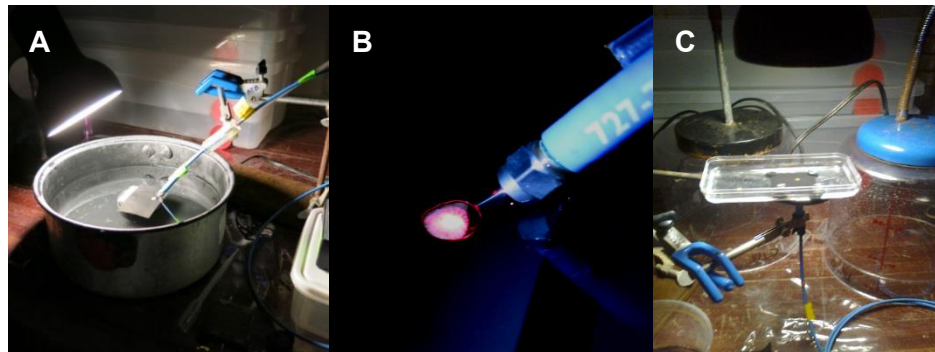


Figura 2. Medición de propiedades ópticas en juveniles. **A.** Arreglo óptico para la medición de reflectancia. **B.** Área de medición del haz de luz reflejado. **C.** Arreglo vertical para medición de transmitancia.

Medición de las propiedades ópticas

Para comparar las propiedades ópticas entre juveniles y adultos de *Favia fragum*, en el mes de febrero del 2014 se recolectaron 25 colonias adultas de *F. fragum* en la laguna arrecifal de Puerto Morelos (Fig. 1C) con un diámetro mayor a 3 cm (de acuerdo con observaciones personales, ya que es posible observar la planulación en colonias de esta talla). Así mismo, se utilizaron 35 colonias juveniles de las cultivadas previamente en acuarios (con un área mayor a 0.2 cm², un diámetro de al menos 0.5 cm y un grosor esquelético entre 0.1 cm y 0.5 cm).

La aclimatación de las colonias en ambas etapas de desarrollo se llevó a cabo durante 20 días en un acuario con condiciones de flujo abierto (capacidad: 150 litros) con un recambio total del agua cada 1.5 h. Las colonias se mantuvieron en condiciones de luz natural a una irradiancia del 40% del total de la luz incidente con un intervalo de temperatura de 27° C a 31° C.

En juveniles y adultos se monitoreó la fluorescencia de la clorofila *a* del simbionte utilizando un Fluorómetro de Pulso de Amplitud Modulada sumergible (Diving-PAM, WALZ, Alemania) para medir la reducción máxima del rendimiento cuántico efectivo (*Quantum yield*) del PSII (a medio día solar $\Delta F/F_m'$), con respecto a su rendimiento máximo en la oscuridad (F_v/F_m) minutos después del atardecer (Iglesias-Prieto *et al.* 2004) con el fin de obtener la presión máxima de excitación sobre el PSII (Q_m) durante la aclimatación y la fase experimental. Puesto que Q_m es un descriptor del desempeño fisiológico (Iglesias-Prieto *et al.* 2004) y un indicador de estrés en el simbionte (Roth *et al.* 2012).

A partir de los registros diarios de fluorescencia de la clorofila *a* del simbionte respectivos a la eficiencia cuántica del PSII, se calculó la presión máxima de excitación del PSII (Q_m) (Iglesias-Prieto *et al.* 2004) con la fórmula:

$$Q_m = 1 - [(\Delta F/F_m') / (F_v/F_m)]$$

Donde $\Delta F/F_m'$ es la reducción máxima del rendimiento cuántico efectivo del fotosistema II al medio día solar y F_v/F_m en la oscuridad minutos después del atardecer.

Durante los cinco días de mediciones se obtuvieron espectros de reflectancia y transmitancia de 7 juveniles y 5 colonias adultas, empleando los arreglos descritos en la sección de ensayos, y se registró el grosor del esqueleto para cada muestra.

Finalmente, los organismos se preservaron a -70° C para análisis posteriores de la densidad de células simbiotes y la concentración de clorofila *a*.

La eficiencia en absorción de luz se estimó con el coeficiente específico de absorción de la clorofila *a* (a^*_{Chla}) a partir de su cálculo con la siguiente ecuación (Enríquez *et al.* 2005):

$$a^*_{Chla} = (D^*_{675} / \rho) \ln 10$$

Donde ρ es la densidad de clorofila *a* por unidad de área proyectada (sección transversal en mg/m^2) y D^*_{675} es el valor de la absorbancia a 675 nm ya que a esa longitud de onda se presenta uno de los picos máximos de absorción de este pigmento. Este mismo parámetro se calculó para la densidad de Clorofila *a* tomando como referencia los espectros de reflectancia (R) de los juveniles a 675 nm con la ecuación propuesta por Enríquez *et al.* (2005):

$$D^*_{675} = \text{Log}_{10} (1/R) = - \text{Log}_{10} (1-A)$$

La absorptancia (A), es la capacidad de absorción de luz y fue calculada a partir de los valores de reflectancia (R) y transmitancia (T) (Shibata 1969). Considerando que la transmitancia de luz es mínima en corales juveniles (con esqueleto delgado) puede haber una pérdida de luz⁽¹⁾ y en corales adultos es nula debido al grosor de esqueleto⁽²⁾, por lo que para identificar la posible variación en el coeficiente a^*_{Chla} en juveniles se considerando ambas situaciones para el cálculo de absorptancia; excluyendo e incluyendo los valores de transmitancia.

(1) Si se considera $T \neq 0$, entonces: $A = 1 - R - T$,

(2) Si se considera $T = 0$, entonces: $A = 1 - R$

Análisis de muestras

Extracción de simbiotes

Para la extracción de simbiotes se empleó la técnica descrita por Tytler y Spencer (1983) y por Baird *et al.* (2006) para las muestras de corales adultos. El tejido de las colonias adultas se desprendió del esqueleto con un aerógrafo (Paasche Millenium) utilizando agua de mar filtrada hasta $50 \mu\text{m}$ (AMF) y aire a presión. El tejido obtenido se procesó con un homogeneizador de vidrio-teflón y se centrifugó a 9 g durante 5 min.

El pellet resultante se resuspendió y en caso necesario se homogeneizó nuevamente y se disolvió en 5 ml AMF. Por último, cada muestra se dividió en cuatro submuestras de 1 ml, tres fueron destinadas para el análisis de clorofila *a*, y la otra para el conteo celular. A ésta última se agregaron 100 µl de Lugol al 4% para la preservación de las células y posterior conteo. Las submuestras para la determinación de clorofila *a* se mantuvieron en refrigeración para su procesamiento posterior. Todo el proceso de extracción de simbiontes se realizó sobre hielo para evitar la descomposición de la muestra.

Posteriormente, las técnicas fueron modificadas para las muestras de juveniles de acuerdo a los requerimientos y al tamaño de muestra de los mismos. Las muestras de juveniles fueron fragmentadas y unificadas (esqueleto y tejido) con un homogeneizador de vidrio-teflón, utilizando 1 ml de AMF. Las muestras se procesaron hasta ver el esqueleto triturado y sin tejido (1-3 min) manteniendo el homogeneizador sobre una cama de hielo. La solución de tejido obtenida se centrifugó a 9 g durante 5 min. El pellet resultante se resuspendió en AMF, usando un vortex y posteriormente se dividió en 3 subreplicas de 0.5 ml cada una, dos para la determinación de clorofila *a*, y una para el conteo celular. A ésta última se agregaron 50 µl de Lugol al 4%. Las submuestras para la determinación de clorofila, se conservaron en refrigeración (2 h) para su procesamiento posterior.

Determinación de clorofila *a*

Se empleó la técnica de Iglesias-Prieto *et al.* (1992), tanto en adultos como en juveniles, haciendo los ajustes necesarios de acuerdo al volumen de cada muestra.

Las submuestras de 1 ml derivadas de las colonias adultas se centrifugaron a 9 g durante un minuto. El sobrenadante se desechó y el pellet resultante se enjuagó con 1 ml de agua dulce y se centrifugó nuevamente. El sobrenadante obtenido se desechó y el material sedimentado fue secado cuidadosamente. En condiciones de oscuridad a cada muestra se agregaron 50 µl de dimetil-sulfóxido (DMSO) y se agitó hasta disolver la muestra. Posteriormente se añadieron 950 µl de acetona fría (-20° C) al 100% y se homogeneizó con un vortex. Los tubos se cubrieron con papel aluminio y se almacenaron a 4° C durante 12 h.

En las muestras de juveniles, se realizó el mismo procedimiento, agregando los reactivos en la misma proporción, ajustados a un volumen de 0.5 ml en cada caso. Finalmente, todas las muestras se centrifugaron a 1606 g durante 5 min y se determinó la absorción (630, 664, 750 nm), con un espectrómetro Ocean Optics, conectado a una lámpara de luz halógena DT-MINI-2-GS Ocean Optics y dos fibras ópticas (400 µm de diámetro). Se emplearon dos cubetas de cuarzo de 1 ml y la referencia de solvente fue una solución de acetona:DMSO (95:5).

El cálculo de la concentración de clorofila se realizó por medio de las ecuaciones propuestas por Jeffrey y Humphrey (1975) para dinoflagelados y algas cafés:

$$[\text{Chl } a \text{ (mg} \cdot \text{m}^{-2})] = (11.43 \cdot (D_{664} - D_{750})) - (0.64 \cdot (D_{630} - D_{750}))$$

Donde D_{664} y D_{630} es la absorbancia medida a 664 nm y 630 nm respectivamente. Dichas absorbancias fueron normalizadas sustrayendo a la absorbancia medida, la absorbancia a 750 nm (D_{750}).

Densidad de células simbiotes

Para el conteo de células se empleó el método de Guillard (1973). La alícuota se resuspendió con un vortex y se realizaron conteos dobles utilizando un hematocitómetro (Enríquez *et al.* 2005).

La concentración celular (Cél ml^{-1}) se calculó de la siguiente manera:

$$\text{Cél ml}^{-1} = \text{TC} \times \text{FD} \times 10^4$$

Donde, TC es el promedio de células en 1 mm^2 (0.1 µl) de la cámara de conteo, FD es el factor de dilución, es decir, el número que indica la proporción de la dilución de la muestra (según fue el caso) y 10^4 es el factor de conversión de 0.1 µl a 1 ml.

El número de células y la concentración de clorofila *a*, se estandarizaron en función del área de cada muestra. El área en los juveniles se determinó con del software ImageJ 1.46r a partir de fotografías digitales. Para las colonias adultas se determinó el área por medio de la técnica del papel aluminio (Marsh 1970).

Análisis de datos

Una vez comprobados los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianza de los datos, se realizaron análisis de *t*-Student de los diferentes descriptores (densidad de simbiontes, contenido de pigmentos por célula, absorptancia y coeficiente específico de absorción de la clorofila *a*) con el fin de determinar si existían diferencias entre adultos y juveniles.

Posteriormente, se realizaron análisis de correlación entre los diferentes descriptores para determinar el grado de asociación de los mismos. Las pruebas estadísticas fueron calculadas con un nivel de confianza del 95% utilizando el software Statistica 7.1 y Sigma Plot 12.0 para la elaboración de gráficas.

VI. Resultados

Ensayos de medición de fluorescencia y propiedades ópticas

Fluorescencia

A partir del monitoreo del rendimiento cuántico efectivo del PS II (*quantum yield*) en los ciclos diurnos, se determinaron los ajustes adecuados del fluorómetro. Así mismo, se registraron diferencias en la variación diurna del rendimiento entre juveniles y colonias adultas. (Fig. 3). Se observaron valores mayores en juveniles en comparación a los adultos. El patrón diurno mostró una reducción máxima reversible correspondiente al punto máximo de irradiancia durante el medio día solar, evidenciando que al final del día los adultos no lograron recuperarse totalmente. En contraste los juveniles que lograron una recuperación similar a la del inicio del día.

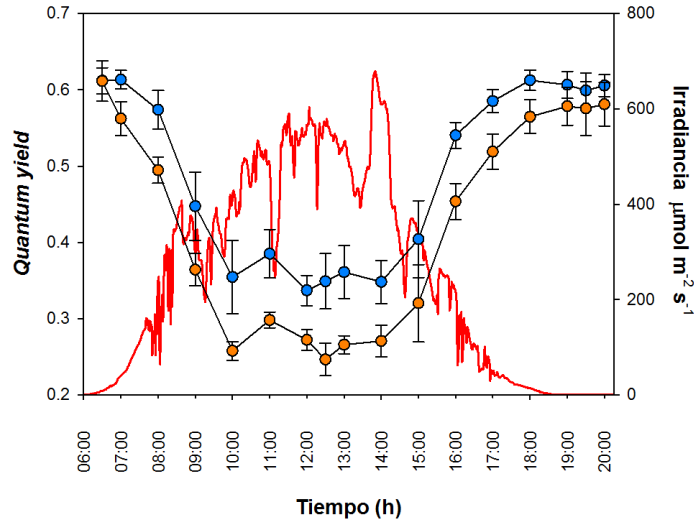


Figura 3. Ciclo diario de juveniles, adultos de *Favia fragum* y Irradiancia de PAR.

Transmitancia

Los valores de transmitancia a 675 nm de juveniles intactos así como del esqueleto de *Favia fragum* fueron 0.7% y 3.0% respectivamente, a los 7 meses de edad (Fig. 4A). En esta misma longitud de onda se observó un pequeño valle que indicó la absorción de pigmentos residuales subestimando las lecturas de esta propiedad.

Reflectancia

Se identificó como el material más opaco a la plastilina negra con valor de reflectancia de 2% a 675 nm (Fig. 4B), y fue utilizada como cubierta para evitar lecturas de las algas adyacentes a la zona del coral durante la medición.

Los valores de reflectancia, tanto de los esqueletos como de diferentes juveniles intactos, no mostraron diferencias (Fig. 4C). En ambos casos se presentó la forma típica de los espectros de reflectancia de acuerdo a Enríquez *et al.* (2005) con una reducción de la reflectancia en todas las longitudes de onda, siendo más evidente a los 675 nm por la absorción de luz por la clorofila *a* del simbionte. A los 750 nm se observaron valores de reflectancia del 90%.

Experimento fluorescencia y propiedades ópticas

La presión máxima de excitación sobre el PSII (Q_m) de juveniles y adultos inicialmente mostró valores en intervalos muy dispersos (de 0.04 a 0.48) ($n=35$ juveniles, 25 adultos). Los valores fueron regulándose hasta los 20 días cuando los valores oscilaron en un rango menor con un promedio de 0.41 en juveniles y 0.36 en adultos. Durante la fase experimental el valor promedio de Q_m en los juveniles (0.47) se mantuvo por encima del valor promedio en los adultos (0.38) (Fig. 5).

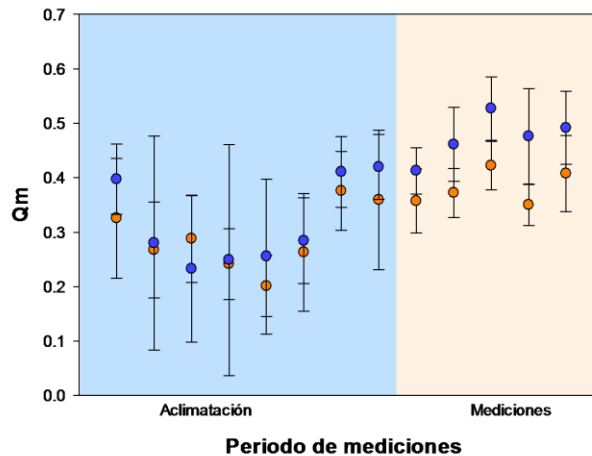
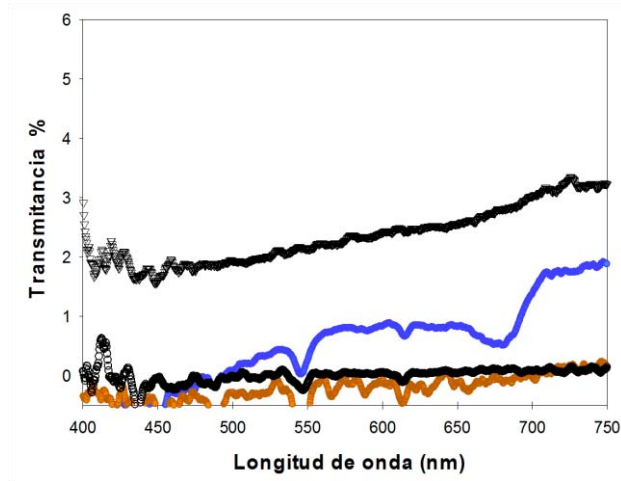


Figura 5. Presión sobre el PSII de ● adultos y ● juveniles de *Favia fragum* durante los periodos de aclimatación y mediciones. Las barras de error indican la desviación estándar.

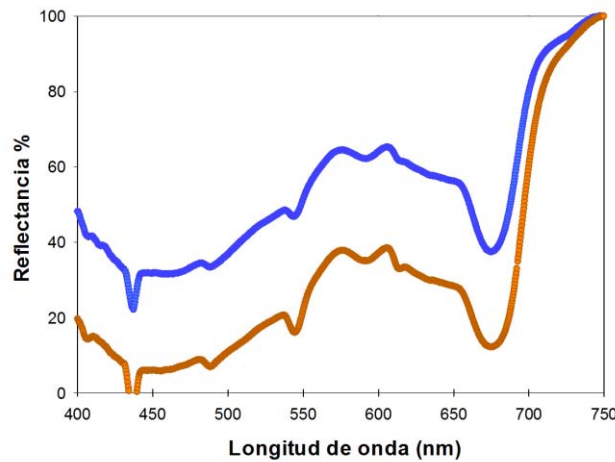
Propiedades ópticas

Los valores de transmitancia a 675 nm, obtenidos en corales adultos intactos y sus esqueletos, fueron cercanos a cero. En los juveniles intactos fue de $0.65\% \pm 0.4$ (DE); y en sus esqueletos de $2.8\% \pm 0.1$ (DE). Al ser valores relativamente bajos ($<3\%$), los cálculos de absorción se realizaron para ambas circunstancias; incluyendo y excluyendo los valores de transmitancia (Fig. 6A).

Los espectros de reflectancia mostraron que los juveniles intactos reflejan un porcentaje de luz mayor que los adultos (Fig. 6B). Los valores de reflectancia encontrados a 675 nm fueron significativamente diferentes entre los juveniles y adultos ($t_c=22.894$, $gl=58$, $P=0.001$) con un promedio de 37% y 12% respectivamente. Los valores coinciden con uno de los picos de máxima absorción de la clorofila a.



A



B

Figura 6. Espectros de transmitancia y reflectancia en ● adultos y ● juveniles de *Favia fragum* (A). Espectros de transmitancia en corales intactos y los esqueletos de ∇ Juveniles, \circ adultos. (B) Espectros de reflectancia en corales intactos.

Los valores de absorbancia y absorptancia estimados indicaron que los corales adultos son capaces de absorber más luz que los juveniles (Fig. 7A). Los valores de absorptancia a los 675 nm fueron de 61-62% para juveniles y 88% para adultos (Fig. 7B). Entre los valores de absorptancia calculados incluyendo (+T) y excluyendo la transmitancia (-T), se encontró una diferencia del 1%, y para la absorbancia fue del 0.01, respectivamente (Fig. 7).

Se determinó que el 31% de la luz incidente (400-750 nm) sobre los corales adultos es reflejada y el 69% es absorbida (Absorptancia), en el caso de los juveniles absorben el 45% de la luz incidente y reflejan un 54%.

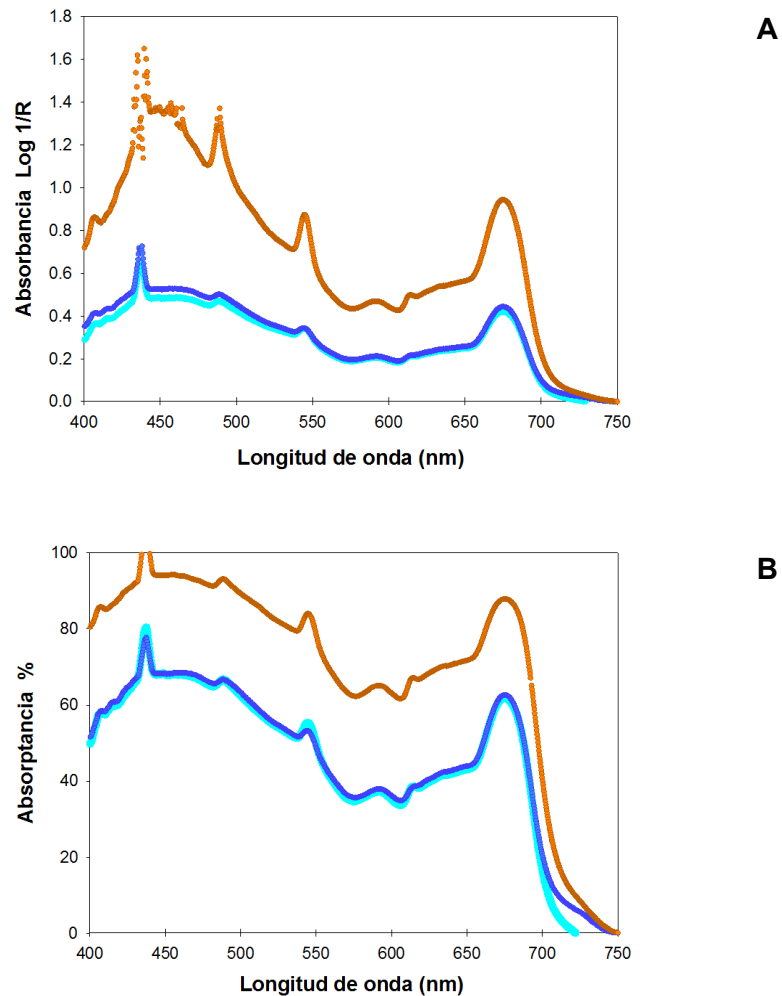


Figura 7. Espectros de absorbancia (A) y absorptancia (B) estimada en ● adultos, ● juveniles excluyendo los valores de transmitancia (-T) y ● juveniles incluyendo valores de transmitancia (+T) de *Favia fragum*.

Densidad de pigmentos y células simbiotas

Se observaron diferencias significativas ($t_c=2.807$, $gl=58$, $P=0.00675$) en el contenido de clorofila a siendo mayor en los adultos ($98.12 \pm 5.6 \text{ mg m}^{-2}$) en comparación con los juveniles ($78.37 \pm 4.3 \text{ mg m}^{-2}$) (Fig. 8A).

La densidad de simbiotas fue significativamente mayor ($t_c=9.567$, $gl=58$, $P=0.000184$) en juveniles que en adultos ($11.17 \times 10^9 \text{ cél m}^{-2}$ y $28.58 \times 10^9 \text{ cél m}^{-2}$ respectivamente). Por ende, el contenido de pigmento por célula fue de $3.5 \pm 0.12 \text{ pg chl a cél}^{-1}$ en adultos y $7.5 \pm 0.4 \text{ pg chl a cél}^{-1}$ en juveniles (Fig. 8B) con diferencias significativas ($t_c=-8.215$, $gl=58$, $P<0.000001$). Estos resultados indican que las colonias adultas poseen un mayor contenido de pigmentos y menor cantidad de células simbiotas que los juveniles.

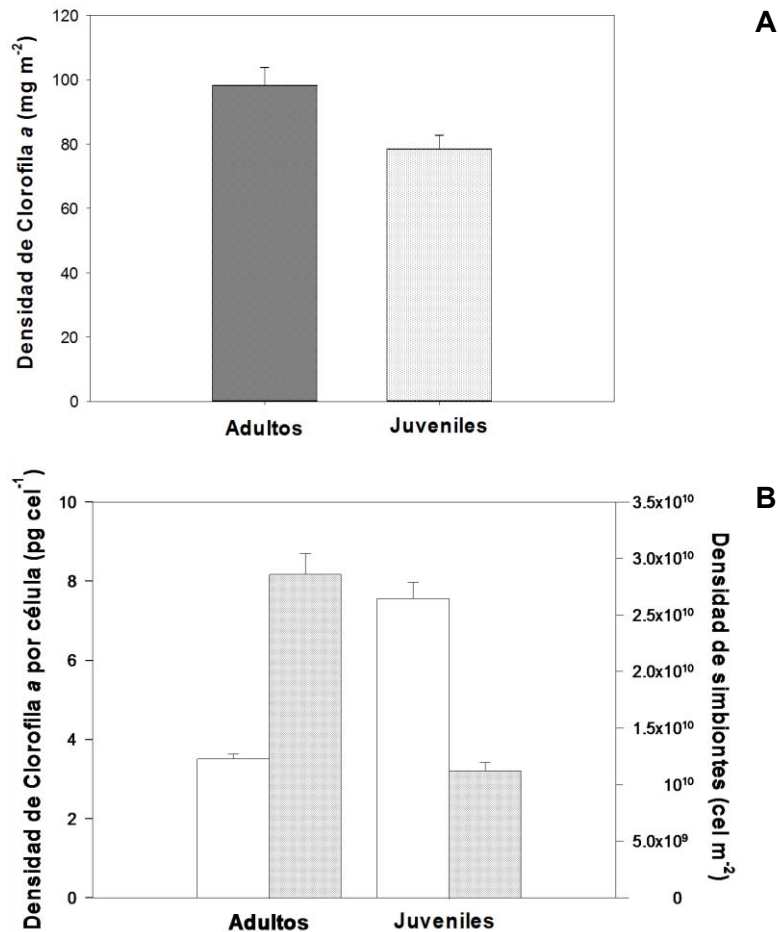






Figura 8. Densidad de clorofila a en  adultos y  juveniles de *Favia fragum* (A). Densidad promedio de  simbiotas y el contenido de  pigmentos por célula (B). Se muestran promedios ($n_{\text{juveniles}}=35$, $n_{\text{adultos}}=25$) con barras de error estándar.

Descriptores de absorción de luz

Absorptancia

Los valores de la densidad de pigmentos por área y pigmentos por célula no permitieron definir una relación significativa con los valores de absorptancia de los organismos (Fig. 9A-B). También se observó que, a densidades de pigmentos similares, los adultos absorben una mayor cantidad de luz que los juveniles. Al mismo tiempo se encontró una dispersión amplia de valores de absorptancia en juveniles, correspondiente a un valor de densidad de pigmentos (por área o por célula), que denotan una pérdida de luz por la variabilidad en la transmitancia, tanto para los valores calculados considerando la transmitancia como para los valores calculados en los que se excluyó esta variable.

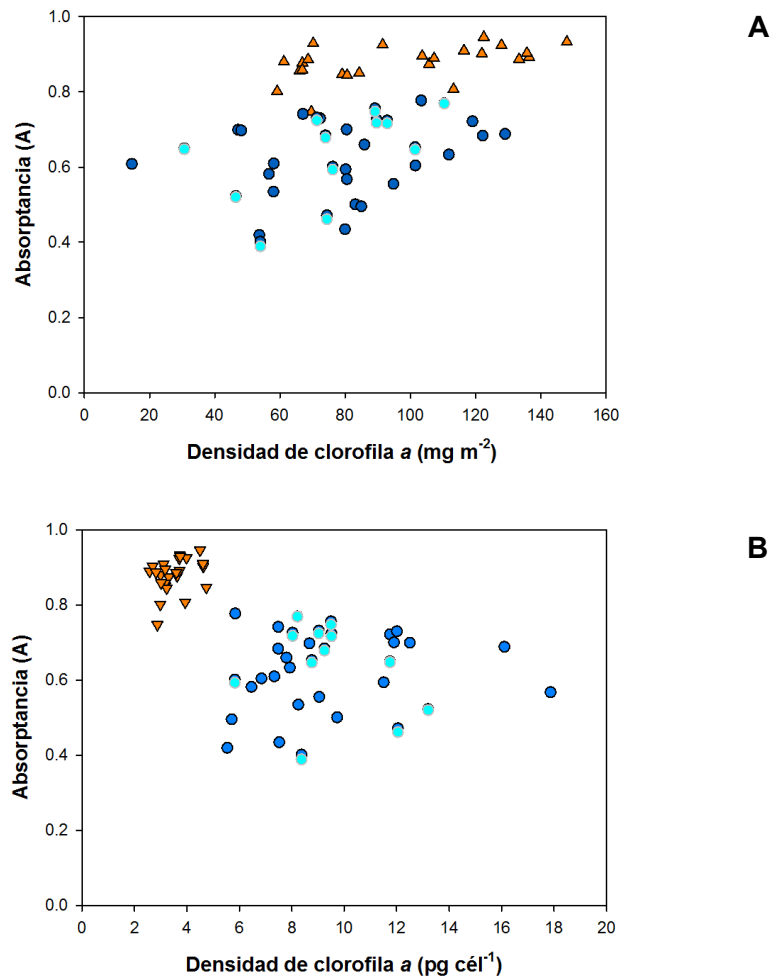


Figura 9. Relación entre los valores de absorptancia y el contenido de Clorofila a por área **(A)**; y por célula en *Favia fragum* **(B)**. $\bullet^{(+T)}$ Considerando la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia de Juveniles y \blacktriangle Adultos.

Referente a la absorptancia y la densidad de simbiontes, se encontró una relación potencial ($R=0.707$, $R^2=0.500$, $P<0.0001$) (Fig. 10). Mostrando que los juveniles presentan un amplio intervalo de absorción de luz a los 675 nm entre 40% y 80%, con valores de simbiontes bajos. Los adultos presentaron un intervalo de absorción entre el 80% y 100%, con densidades superiores de simbiontes.

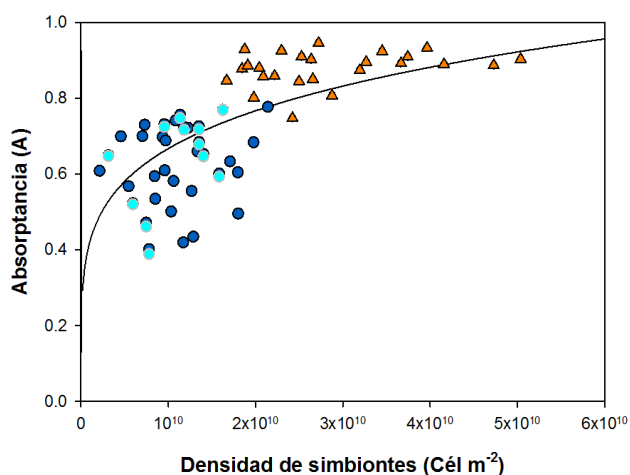


Figura 10. Relación entre los valores de absorptancia y la densidad de células simbiontes, ●(+T) considerando la transmitancia y ●(-T) excluyendo los valores de transmitancia en Juveniles y ▲ Adultos de *Favia fragum*. — Tendencia potencial.

La relación entre la absorción de luz y el grosor de la colonia mostró una tendencia logarítmica ($R=0.830$, $R^2=0.689$, $P<0.0001$) (Fig. 11). Eso sugiere que la capacidad de absorber luz está directamente relacionada con el grosor del esqueleto; mientras más grueso es el esqueleto mayor es la absorción de luz hasta llegar a un punto máximo, donde el incremento en el grosor no cambia la absorción de luz. Cabe resaltar que en la etapa juvenil la absorción es muy variable en pocos milímetros de grosor esquelético y en la etapa adulta se normaliza una vez alcanzado un mayor grosor, logrando al mismo tiempo el nivel máximo de absorción. Los valores de absorptancia calculados en juveniles donde se excluyen e incluyen los valores de transmitancia no presentaron diferencias significativas entre sí.

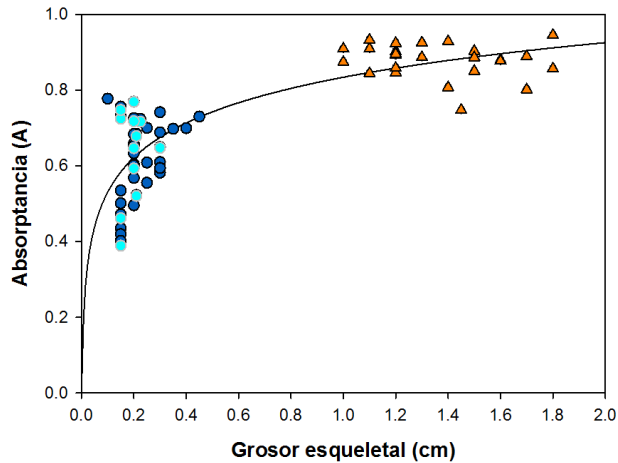


Figura 10. Relación logarítmica entre los valores de absorptancia y el grosor esqueletal de la colonia, $\bullet^{(+T)}$ considerando la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia en Juveniles y \blacktriangle Adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica.

Coefficiente específico de absorción a^*

Se identificó una relación logarítmica entre a^* y la densidad de pigmentos de juveniles ($R=0.554$, $R^2=0.308$, $P=0.0008$) y adultos ($R=0.835$, $R^2=0.642$, $P<0.0001$). Los valores muestran que con las mismas concentraciones de clorofila *a* los adultos son más eficientes absorbiendo luz ya que el factor de amplificación de a^* de los adultos se incrementa 1.7 veces respecto a los juveniles si no se considera la transmitancia y 1.8 veces si este valor es incluido, con una diferencia del 6% (Fig. 12).

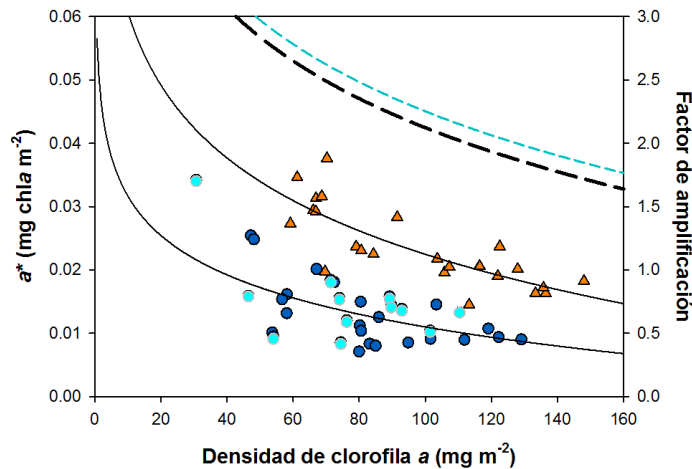


Figura 11. Relación entre a^* y la densidad de clorofila *a*, $\bullet^{(+T)}$ incluyendo la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia en Juveniles y \blacktriangle Adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica. -- Factor de amplificación sin considerar transmitancia y - - Factor de amplificación considerando transmitancia.

La correspondencia entre el coeficiente específico de absorción de la clorofila *a* y el contenido de pigmento por célula exhibieron una relación logarítmica ($R=0.6325$, $R^2=0.4001$, $P<0.0001$) (Fig. 13). Estos datos acentúan que los adultos son más eficientes en absorber la luz con concentraciones de pigmentos menores a las observadas en los corales juveniles.

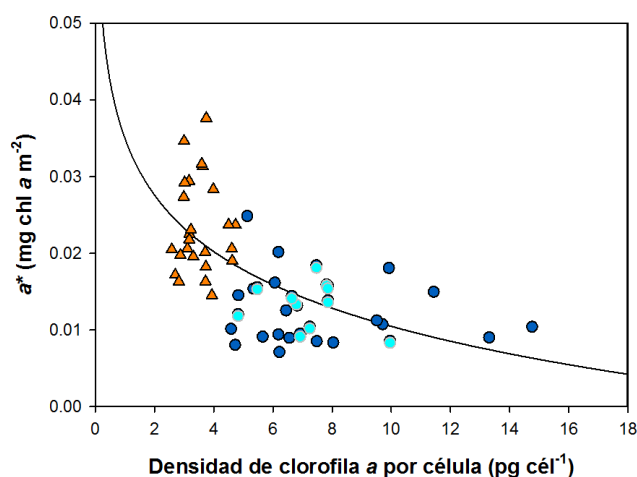


Figura 12. Relación del coeficiente específico de absorción de la clorofila *a* y el contenido de pigmento por simbionte $\bullet^{(+T)}$ incluyendo la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia en Juveniles y \blacktriangle adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica.

Respecto a los simbiontes, la relación logarítmica encontrada evidenció que los adultos ($R=0.762$, $R^2=0.581$, $P<0.0001$) y los juveniles ($R=0.585$, $R^2=0.342$, $P=0.0001$) mantienen tendencias desfasadas donde la eficiencia de absorción de luz aumenta en densidades de simbiontes reducidas y decrece con el incremento de la densidad de simbiontes (Fig. 14). Nuevamente, se resaltó a los adultos como los organismos más eficientes absorbiendo luz con una mayor densidad de simbiontes (Fig. 14) y con un menor contenido de pigmentos por célula que los juveniles (Fig. 13). Los valores de a^* de juveniles calculados excluyendo e incluyendo los valores de transmitancia no presentaron diferencias significativas en ninguna relación.

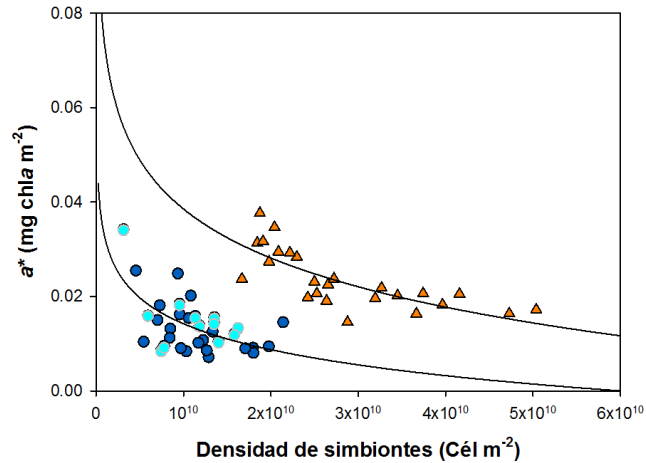
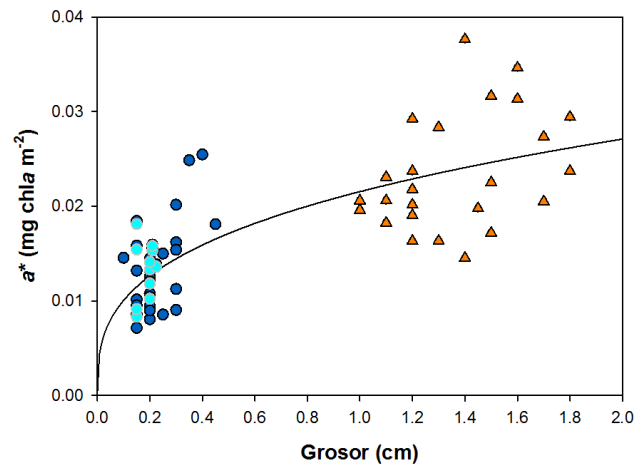


Figura 13. Relación del coeficiente específico de absorción de la clorofila a y la densidad de simbioses $\bullet^{(+T)}$ incluyendo la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia en Juveniles y \blacktriangle adultos de *Favia fragum*. — Tendencia logarítmica.

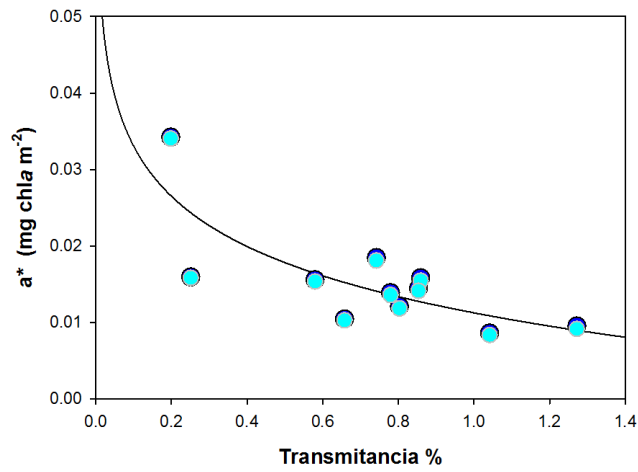
Se observó una relación potencial entre el coeficiente específico de absorción y el grosor esquelético ($R=0.760$, $R^2= 0.579$, $P<0.0001$) (Fig. 15A), donde la dispersión de los datos en los juveniles nuevamente reflejó una variación de los valores de transmitancia, pues se obtuvieron los mismos valores de eficiencia de absorción con respecto a diferentes tamaños de grosor esquelético.

La relación de este mismo coeficiente con la transmitancia de luz en juveniles con diferente grosor esquelético indicó una tendencia logarítmica ($R=0.784$, $R^2= 0.615$, $P<0.001$) (Fig. 15B), mostrando que el incremento en los valores de transmitancia, indican un decremento proporcional en el coeficiente a^* , con una sobre estimación del 4% entre los valores calculados sin transmitancia y los cálculos incluyendo transmitancia.

Lo anterior reveló el incremento de la eficiencia de absorción de luz con el aumento del grosor esquelético y a su vez con la reducción de la pérdida de luz por transmitancia desde los esqueletos delgados en los juveniles hasta las colonias adultas.



A



B

Figura 14. Relación entre el coeficiente a^* con el grosor y la transmitancia esquelética. **(A)** Coeficiente a^* y grosor esquelético entre juveniles y adultos. **(B)** a^* y transmitancia % en juveniles $\bullet^{(+T)}$ incluyendo la transmitancia y $\bullet^{(-T)}$ excluyendo la transmitancia en Juveniles y \blacktriangle adultos de *Favia fragum*. — Línea de tendencia potencial **(A)** y logarítmica **(B)**.

VII. Discusión

El hecho de que *Symbiodinium* cubra hasta el 95% de la demanda energética del coral (Muscatine *et al.* 1981; Edmunds *et al.* 1986), antepone a la luz como un factor muy importante del cual depende la productividad, algunos procesos fisiológicos y ecológicos de corales (Roth 2014). Además, el éxito en la captación de energía lumínica de estos organismos en ambientes someros y oligotróficos también es explicado por el fenómeno de esparcimiento múltiple de la luz dentro del esqueleto. Dicho proceso ha dotado a los corales de una ventaja excepcional al incrementar la eficiencia de absorción de luz (Enríquez *et al.* 2005).

Los datos obtenidos demuestran que la eficiencia de absorción no es la misma durante el desarrollo del esqueleto de los corales; puesto que para las mismas concentraciones de clorofila *a* los adultos de *F. fragum* son hasta 1.8 veces más eficientes (Fig. 12). Estos datos sugieren que el incremento en la captación de luz durante el desarrollo del coral no solo se explica por el contenido de clorofila *a* o de simbiontes, sino también por el engrosamiento del esqueleto (Fig. 14).

Cabe remarcar que en este estudio, en los resultados reportados se consideró las dos situaciones en donde la luz transmitida en el esqueleto ($2.8\% \pm 0.1$ (DE)) y juveniles intactos ($0.65\% \pm 0.4$ (DE)) fue excluida e incluida en los diferentes cálculos, resultando una diferencia entre los valores de absorptancia del 1% de sobreestimación cuando la transmitancia es excluida (Fig. 11), y cuando los valores de transmitancia de los juveniles son incluidos hay un incremento en el factor de amplificación de a^* , equivalente a un 6% (0.1) en la eficiencia de absorción de luz, indicando que los juveniles son 6% menos eficientes en la absorción de luz que los adultos (Fig. 12). Esta diferencia revela que la pérdida de luz por transmitancia, en pocos milímetros de grosor (0.1-0.5 cm) y en un porcentaje relativamente bajo (0.65-2.8 %) tiene repercusiones menores al 3% en la absorción de la luz, como lo describe Enríquez *et al.* (2005), y menores al 6% en la variación del coeficiente específico de a^* . Por lo tanto, puede excluirse el valor de transmitancia para los cálculos de absorción de luz en corales con grosor esquelético menor al 0.5 cm. De cualquier manera, los adultos poseen una mayor eficiencia de absorción de luz a causa del desarrollo de un mayor número de pólipos y el aumento en el grosor del esqueleto además de que el esparcimiento múltiple a 750 nm es muy reducido. Estas características permiten al coral adulto incrementar tanto la

complejidad morfológica de su estructura esquelética como el área expuesta a la luz incidente (Enríquez *et al.* 2005) en comparación con el esqueleto pequeño y delgado del juvenil.

Si bien los corales juveniles son capaces de absorber menos luz que los corales adultos, el coeficiente específico de absorción encontrado en juveniles fue similar a los registrados en estudios de fitoplancton y simbiontes aislados de coral aclimatados a condiciones de baja luz (Dubinsky *et al.* 1984, 1986; Wyman *et al.* 1987; Lesser *et al.* 2000; González-Guerrero 2011). Sin embargo, los juveniles de *F. fragum* alcanzaron estos mismos coeficientes con una densidad de pigmentos hasta cinco veces menor que la densidad de pigmentos reportada en las células libres de los estudios mencionados. Es decir, el proceso se lleva a cabo de manera económica invirtiendo menos recursos para obtener la misma eficiencia. La respuesta a esta funcionalidad radica en la importancia del esparcimiento múltiple de la luz aún en etapas tempranas de desarrollo esquelético. Si bien los simbiontes en los corales juveniles no son tan eficientes como en los adultos, lo son en comparación con los dinoflagelados de vida libre. Los dinoflagelados simbiontes en los corales incrementan su capacidad y eficiencia de absorber la luz disponiendo de una menor densidad de pigmentos gracias a la presencia del esqueleto coralino y el fenómeno del esparcimiento múltiple de la luz dentro del mismo (Enríquez *et al.* 2005).

A pesar de que los adultos y juveniles de *Favia fragum* se aclimataron bajo las mismas condiciones de irradiancia, el contenido de clorofila *a* y la densidad de simbiontes entre las fases de desarrollo fue diferente. Los adultos se distinguieron por poseer una mayor densidad de células simbiontes respecto a la encontrada en juveniles. Así mismo, los juveniles presentaron una mayor densidad de pigmentos por célula que los adultos. Esto sugiere que la funcionalidad del coral durante su crecimiento difiere entre sus componentes como consecuencia al grosor esquelético que hasta ese momento ha desarrollado. Durante la etapa juvenil, el coral posee un esqueleto delgado y de menor tamaño, hay pérdida de luz por transmitancia y por lo tanto los simbiontes en estos corales reciben menos luz, mientras que los adultos desarrollan un esqueleto mucho mayor y más grueso, de tal manera que incrementa el esparcimiento múltiple y se reduce en un 100% la pérdida de luz por transmitancia, en comparación con los juveniles cuya pérdida de luz por esta vía es posible en un porcentaje mínimo (esqueleto 2.8%, coral intacto 0.65%). Lo anterior también indica

que aunque los corales estuvieron bajo las mismas condiciones lumínicas, los simbiontes dentro del tejido de los juveniles se encontraron en condiciones lumínicas diferentes a causa de la pérdida de luz en sus esqueletos delgados.

En los juveniles, el contenido de pigmento por célula fue superior a 4.5 pg chl *a*, lo que reflejó una disminución en la absorptancia, indicando un “efecto paquete”. Esto consiste en el auto-sombreo de los pigmentos fotosintéticos dentro de las células disminuyendo la sección transversal de absorción óptica (Enríquez y Sand-Jensen 2003; Enríquez 2005; Kirk 2010) que en conjunto con el esqueleto delgado y simple de los juveniles provocó una eficiencia de absorción de luz reducida.

Los adultos mostraron un balance en la densidad de simbiontes y el contenido de pigmentos fotosintéticos por célula producido por el esparcimiento múltiple de la luz dentro de sus esqueletos, tal como se ha registrado en otras especies de coral y pastos marinos (Enríquez 2005; Galindo-Martínez 2010; Terán *et al.* 2005), resultando en concentraciones menores a 4.5 pg chl *a*. Esto contrarrestó en gran medida el “efecto paquete” para que finalmente la eficiencia de absorción lumínica en los adultos resultara hasta 1.8 veces mayor que en los juveniles.

Por una parte, el monitoreo diurno del rendimiento cuántico efectivo del PSII, indicó que tanto en los corales adultos como en los juveniles existe un decremento reversible de la eficiencia cuántica efectiva del PSII. Sin embargo, cada fase de desarrollo muestra una respuesta fisiológica diferente ante el mismo estímulo de luz. Los valores registrados para los adultos son más pronunciados que en los juveniles, ya que los adultos al ser más eficientes absorbiendo luz, reciben mayor daño al PSII de sus simbiontes contrario al de los juveniles que absorben menor cantidad de luz. Y por la misma razón, al finalizar el día, los juveniles se recuperan más rápidamente que los adultos.

Por la otra, los valores de Q_m (presión máxima de excitación sobre el PSII) de juveniles y adultos durante la fase de aclimatación mostraron que el intervalo de estos valores fue muy amplio, reduciéndose al final del periodo. Así mismo, durante la fase experimental los valores de Q_m fueron cercanos a 0.5, lo cual de acuerdo con Iglesias-Prieto *et al.* (2004) los corales adultos no presentan foto-inhibición ni foto-limitación, de la misma manera que en los juveniles, éstos no se encuentran foto-limitados a pesar de su capacidad reducida de absorber menor cantidad de luz que los adultos.

Particularmente, para mantener altas tasas de productividad de los corales, el PSII de *Symbiodinium* es capaz de auto-repararse en condiciones normales cuando la tasa de reparación supera la tasa de daño en condiciones de poca luz (durante la noche) (Gorbunov *et al.* 2001). Al mismo tiempo, la alta eficiencia con la cual el coral adulto colecta la radiación solar durante el día puede tener efectos negativos cuando el organismo está expuesto a condiciones estresantes y consecuentemente cuando la tasa de daño excede la tasa de reparación. Esta situación perjudica cierto porcentaje de los centros de reacción del PSII (proteína D1) (Gorbunov *et al.* 2001) llegando a foto-inhibirse y en un caso severo aunado a otras afecciones puede causar la muerte del organismo (Enríquez *et al.* 2005). En este caso, el juvenil que presenta una menor capacidad de absorción de luz no puede sufrir fácilmente un daño en el PSII por exceso de irradiancia solar, pero al percibir menos luz que el adulto, se aclimata de manera semejante a corales adultos en ambientes de baja luz (Fitt *et al.* 2000; Anthony y Hoegh-Guldberg 2003), incrementando la densidad y el contenido de pigmentos por célula para incrementar su eficiencia y evitar la foto-inhibición.

Cabe resaltar que la presente investigación es la primera en tratar de describir las propiedades ópticas de corales juveniles, además que brinda más evidencias de la importancia del esparcimiento múltiple causado por el esqueleto coralino (Kühl *et al.* 1995; Enríquez *et al.* 2005; Marcelino *et al.* 2013; Terán *et al.* 2010). Esto nos permite saber que la eficiencia de absorción de luz en adultos es mayor que en juveniles, como se esperaba por poseer un esqueleto con mayor grosor esquelético, e incluso que los juveniles presentaron una mayor eficiencia de absorción de luz en comparación con otros estudios de fitoplancton o células aisladas (Dubinsky *et al.* 1984, 1986; Wyman *et al.* 1987; Lesser *et al.* 2000; González-Guerrero 2011). Esto remarca la importancia de poseer un esqueleto aunque delgado y pequeño como un elemento importante en el proceso de absorción de luz por los simbiontes en los corales, lo cual representa una ventaja contra los organismos que no poseen un esqueleto. Al mismo tiempo la producción de un campo lumínico mayor dentro del esqueleto modula el contenido de células simbiontes y pigmentos como la clorofila *a*, logrando altos niveles de absorción lumínica con el mínimo de recursos posibles.

Los resultados en esta investigación también sirven de modelo para otras especies de corales escleractinios para describir el comportamiento y las capacidades benéficas y dañinas de absorción de luz durante el desarrollo del esqueleto coralino.

Además, el estudio de estas propiedades es importante para un mejor entendimiento de la fragilidad de estos organismos y el análisis del efecto que produce la modificación de alguno de estos factores sobre corales juveniles y adultos. Como es el caso del síndrome de manchas oscuras (Dark Spot Syndrome), que a pesar de la presencia de tejido vivo de coral, se manifiestan como lesiones de color negro, marrón o púrpura de tamaño variable sobre la superficie del coral (Borger 2005, Renegar *et al.* 2008) produciendo cambios en la colonia que pueden incluir una permanente coloración oscura del esqueleto (Renegar *et al.* 2008). Esta coloración reduce en cierto porcentaje la reflexión de luz dentro del esqueleto y por consecuencia se produce una reducción en la eficiencia de absorción de la luz por el simbiote; lo que se relaciona con la disminución de la calcificación en zonas afectadas (Renegar *et al.* 2008). Y en corales con esqueleto delgado como los juveniles, este efecto podría ser destructivo reduciendo aún más la eficiencia de absorción de luz para sus funciones metabólicas y finalmente causándole la muerte por la inhibición de la fotosíntesis, la falta de calcificación, sobre crecimiento algal y la competencia contra depredadores. Por otra parte, también se sabe que la pérdida total o parcial de simbioses en el tejido de coral, durante un evento de blanqueamiento implica un efecto negativo en la eficiencia de absorción de radiación ultravioleta causando daños al ADN en corales adultos tal como lo indica Guendulain-García (2014), debido a la eficiencia con que se absorbe la luz en todas longitudes de onda, especialmente la radiación ultravioleta. En estas circunstancias los juveniles tendrían un daño al ADN menor que el causado en adultos, debido a su esqueleto delgado. Sin embargo, los juveniles podrían verse más afectados por la reducción de sus simbioses que tendría un efecto negativo en la absorción de luz para sus funciones metabólicas y su supervivencia para llegar a formar parte de la comunidad coralina. Estos efectos nocivos para el coral juvenil son causados principalmente por la inmadurez del esqueleto, cuyas propiedades indican un menor porcentaje de dispersión de la luz dentro del esqueleto en comparación con el esqueleto del adulto.

VIII. Conclusiones

Se determinó una diferencia en la absorptancia y el coeficiente de absorción de la clorofila *a* entre corales juveniles y adultos, siendo mayor los valores encontrados en corales adultos en ambos casos. Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que la eficiencia de absorción se incrementa en corales adultos, llegando hasta 1.8 veces más eficientes que los corales juveniles.

Este incremento en la eficiencia de absorción es explicado por el grosor del esqueleto. Los esqueletos delgados característicos en los corales juveniles, poseen una transmitancia de luz menor al 3%, sin embargo esta pérdida de luz es suficiente para reducir el efecto de la dispersión múltiple y la eficiencia de absorción.

La modificación en las propiedades ópticas de los esqueletos de corales juveniles y adultos, representa una diferencia en el contenido de simbioses y clorofila *a* en ambas etapas; los corales juveniles mantienen una densidad de simbioses alta, con bajo contenido de clorofila *a* por célula; mientras que los corales adultos conservan la densidad de simbioses baja, con alto contenido de clorofila *a* por célula.

IX. Referencias

- Anthony K. R. N. & Hoegh-Guldberg O. (2003) Variation in coral photosynthesis, respiration and growth characteristics in contrasting light microhabitats: an analogue to plants in forest gaps and understoreys?. *Funct. Ecol.*, 17:246–259.
- Baird A. H., Gilmour J. P., Kamiki T. M., Nonaka M., Pratchett M. S., Yamamoto H. & Yamasaki H. (2006). Temperature tolerance of symbiotic and non-symbiotic coral larvae. *Proc. 10th Int. Coral Reef Symp. Okinawa*, 38–42 pp.
- Borger J. L. (2005). Dark spot syndrome: a scleractinian coral disease or a general stress response?. *Coral reefs*. 24(1): 139-144.
- Bramanti L., Magagnini G., De Maio L. & Santangelo G. (2005). Recruitment, early survival and growth of the Mediterranean red coral *Corallium rubrum* (L 1758), a 4-year stud. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 314:69–78.
- Chadwick-Furman N. E., Goffredo S. & Loya Y. (2000). Growth and population dynamic model of the reef coral *Fungia granulosa* Klunzinger, 1879 at Eilat, northern Red Sea. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 249 (2):199-218.
- Colombo-Pallota 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*. 29 (4): 899-907.
- Dubinsky, Z., Falkowski P. G. & Wyman K. (1986): Light harvesting and utilization by phytoplankton. *Plant Cell Physiol.* 27, 1335-1349
- Dubinsky, Z., Falkowski P. G., Porter J.W. & Muscatine I. (1984). Absorption and utilization of radiant energy by light and shade-adapted colonies of the hermatypic coral *Stylophora pistillata*. *Proc. R. Soc. Lond. B* 222: 203–214.
- Edmunds P. J. & Spencer D. P. (1986). An energy budget for *Porites porites* (Scleractinia). *Mar. Biol.* 92, 339–347. doi: 10.1007/BF00392674
- Enríquez S. & K. Sand-Jensen. 2003. Variation in light absorption properties of *Mentha aquatica* L. as a function of leaf form: Implications for plant growth. *Int. J. Plant. Sci.* 164: 125-136

- Enríquez S. (2005). Light absorption efficiency and the package effect in the leaves of the seagrass *Thalassia testudinum*. Mar. Ecol. Prog. Ser. 289: 141–150.
- 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. doi: 10.4319/lo.2005.50.4.1025.
- Fitt W. K., McFarland, F. K., Warner, M. E., & 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, 677–685. doi: 10.4319/lo.2000.45.3.0677.
- Galindo-Martínez, C. T. (2010). El papel del esqueleto de coral en la variación de la capacidad y eficiencia de absorción de la luz de dos especies del género *Montastraea* (Scleractinia: Faviidae). Tesis de Licenciatura. Universidad del Mar Campus Puerto Ángel. Oax. Méx. 49 pp.
- González-Guerrero L. A. (2011). Respuesta de fotoaclimatación de dos especies de dinoflagelados simbioses *Symbiodinium* sp. filotipo A. (53) y *Symbiodinium kawagutii* bajo un evento de estrés térmico. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Ciencias. México. 60 pp.
- Gorbunov, M. Y., Kolber, Z. S., Lesser, M. P. & Falkowski P. G. (2001). Photosynthesis and photoprotection in symbiotic corals. *Limnol.Oceanogr.* 46, 75–85.
- Goreau T. F., N.Y. Goreau & Goreau T. J. (1976). Corals and corals reefs. *Scientific American* 241(2): 110-120.
- Goreau, T. F. (1959). The physiology of skeleton formation in corals. I. A method for measuring the rate of calcium deposition by corals under different conditions. *Biol. Bull.* 116, 59–75. doi: 10.2307/1539156
- Guendulain-García S. D. (2014). Implicaciones del esparcimiento múltiple y la pérdida de simbioses sobre el foto daño inducido por radiación ultravioleta en *Orbicella faveolata*. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. México D. F. 30 pp.

- Harland A. D., Spencer P. D. & Fixter L. M. (1992). Lipid content of some Caribbean corals in relation to depth and light. *Mar. Biol.* 113:357-361.
- Hatta, H. & Ichikawa K. (2012). Polyp skeleton calcification for polyp-algae symbiosis. *Proc. 12th Int. Coral Reef Symp.* Cairns, Queensland, Australia. 4 pp.
- Iglesias-Prieto R., Matta J. L., Robins W. A. & Trench R. K. (1992). Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 89:10302–10305.
- Iglesias-Prieto R., Beltrán V. H., LaJeunesse T. C., Reyes-Bonilla H. & Thomé. P. E. (2004). Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the Eastern Pacific. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 271, 1757-1763.
- Jeffrey S. W. & Humphrey G. F. (1975). New spectrophotometric equations for determining chlorophylls *a*, *b* *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochem. Physiol. Pflanz.* 167: 191-194.
- Jordán Dahlgren E. (1993). Atlas de los arrecifes coralinos del Caribe Mexicano, Parte I. El sistema continental. Centro de Investigaciones de Quintana Roo, Chetumal, México. 110 pp.
- Kiefer, D. & Mitchell B. G. (1983). A simple steady state description of phytoplankton growth based on absorption cross-section and quantum efficiency. *Limnol. Oceanogr.* 28: 770–777.
- Kirk, J. T. O. (2010). *Light and Photosynthesis in Aquatic Ecosystems*. New York: Cambridge University Press. doi: 10.1017/CBO9781139168212.
- Kühl, M., Cohen, Y., Dalsgaard, T., Jorgensen, B. B. & Revsbech, N. P. (1995). Microenvironment and photosynthesis of zooxanthellae in scleractinian corals studied with micro sensors for O₂, Ph and light. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 117, 159–172. doi: 10.3354/meps117159
- Lesser, M. P., Mazel, C., Phinney, D. & Yentsch, C. S. (2000). Light absorption and utilization by colonies of the congeneric hermatypic corals *Montastraea faveolata* and *Montastraea cavernosa*. *Limnol. Oceanogr.* 45(1), 76-86.

- Marcelino, L. A., Westneat, M. W., Stoyneva, V., Henss, J., Rogers, J. D., Radosevich, A. & Backman, V. (2013). Modulation of light-enhancement to symbiotic algae by light-scattering in corals and evolutionary trends in bleaching. PLoS One, 8(4), e61492. doi: 10.1371/journal.pone.0061492.
- Marsh J. A. (1970). Primary productivity of reef building calcareous algae. Ecology 51: 255-263.
- Morel A. & Bricaud A. (1981) Theoretical results concerning light absorption in a discrete medium, and application to specific absorption of phytoplankton. Deep-Sea Res. 28:1375–1393
- Muscatine L. (1967). Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and *tridacna* and its control by the host. Science 156:516-519.
- Muscatine L. (1990). The role of symbiotic algae in carbon and energy flux in reef corals. Ecosystems of the World. Coral Reefs, Elsevier, Amsterdam. Vol. 25 (ed. Z. Dubinsky). pp. 75-87
- Muscatine, L., McCloskey, L. & Marian R. (1981). Estimating the daily contribution of carbon from zooxanthellae to coral animal respiration. Limnol. Oceanogr. 26, 601–611. (doi:10.4319/lo.1981.26.4.0601)
- Renegar, D. E. A., Blackwelder, P., Miller, J. D., Gochfeld, D. J., & Moulding, A. L. (2008). Ultrastructural and histological analysis of Dark Spot Syndrome in *Siderastrea siderea* and *Agaricia agaricites*. Proc 11th Int Coral Reef Symp, 185–189 pp.
- 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. Limnology and Oceanography, 51(6), 2702–2710.
- Roth, M. S. (2014). The engine of the reef: photobiology of the coral–algal symbiosis. Front. Microbiol. 5, 22. doi: 10.3389/fmicb.2014.00422.

- Roth, M. S., Goericke, R., & Deheyn, D. D. (2012). Cold induces acute stress but heat is ultimately more deleterious for the reef-building coral *Acropora yongei*. *Sci. Rep.* 2:240. doi: 10.1038/srep00240
- Smith D. J., D. J. Suggett & N. R. Baker. (2005). Is photoinhibition of zooxanthellae photosynthesis the primary cause of thermal bleaching in corals?. *Global Change Biol.* 11:1–11.
- Stambler, N., & Dubinsky, Z. (2005). Corals as light collectors: an integrating sphere approach. *Coral Reefs*, 24(1), 1-9. doi: 10.1007/s00338-004-0452-4
- Stimson J., Sakai, K. & Sembali H. (2002). Interspecific comparison of the symbiotic relationship in corals with high and low rates of bleaching-induced mortality. *Coral reefs*. 21: 409-421.
- Szmant-Froelich, A., Reutter M. & Riggs L. (1985). Sexual reproduction of *Favia fragum* (Esper): lunar patterns of gametogenesis, embryogenesis and planulation in Puerto Rico. *Bull. Mar. Sci.* 37 (3): 880–892.
- Terán, E., Méndez, E. R., Enríquez, S. & Iglesias-Prieto, R. (2010). Multiple light scattering and absorption in reef-building corals. *Applied Optics*, 49(27), 5032-5042. doi: 10.1364/AO.49.005032
- Trench, R. K. (1987). Dinoflagellates in non-parasitic symbioses. En *The Biology of Dinoflagellates*, F. J. R. Taylor, Cap 12. Ed. Blackwell, Oxford. 530-570.
- Trench, R. K. (1993). Microalgal–invertebrate symbioses: a review. *Endocytobiosis Cell Res.* 9, 135–175.
- Tytler E. M. & Spencer P. D. (1983). A method of isolating clean and viable zooxanthellae by density gradient centrifugation. *Limnol. Oceanogr.* 28(6):1266-1268.
- Wyman, K. D., Dubinsky, Z., Porter, J. W. & Falkowski, P. G. (1987). Light absorption and utilization among hermatypic corals: a study in Jamaica, West Indies. *Mar. Biol.* 96(2), 283-292. doi: 10.1007/BF00427028.