



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**EFFECTO DEL FOTOPERIODO SOBRE LA  
PULSACIÓN RÍTMICA DE Xenia elongata**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**ADRIÁN GIRÓN OJEDA**



**DIRECTOR DE TESIS:  
DRA. PILAR DURÁN HERNÁNDEZ**

**2014**



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.

## HOJA DE DATOS DEL JURADO

1. Datos del alumno Apellido paterno Apellido materno Nombre(s) Teléfono Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Carrera Número de cuenta	1. Datos del alumno Girón Ojeda Adrián 56 58 94 34 Universidad Nacional Autónoma de México Facultad de Ciencias Biología 306520974
2. Datos del tutor Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	2. Datos del tutor Dra. Pilar Durán Hernández
3. Datos del sinodal 1 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	3. Datos del sinodal 1 Dra. María Ana Fernández Álamo
4. Datos del sinodal 2 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	4. Datos del sinodal 2 Dr. Manuel Miranda Anaya
5. Datos del sinodal 3 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	5. Datos del sinodal 3 M. en C. María del Pilar Torres García
6. Datos del sinodal 4 Grado Nombre(s) Apellido paterno Apellido materno	6. Datos del sinodal 4 M. en C. Enrique Moreno Sáenz
7. Datos del trabajo escrito Título Subtítulo Número de páginas Año	7. Datos del trabajo escrito Efecto del fotoperiodo sobre la pulsación rítmica de <u>Xenia elongata</u> 66 2014

# ÍNDICE

<b>Glosario.....</b>	<b>4</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>5</b>
<b>1. Introducción.....</b>	<b>6</b>
1.1 Organismos marinos.....	6
1.2 Corales.....	8
1.3 Corales Blandos.....	10
1.4 Importancia de los acuarios marinos.....	12
<b>2. Antecedentes.....</b>	<b>15</b>
2.1 Generalidades de los ritmos circadianos.....	15
-Relojes biológicos.....	15
-Clasificación de los ritmos.....	16
-Los cuatro circa.....	16
-Propiedades de los ritmos.....	17
2.2 Señales sincronizadoras más importantes: luz y oscuridad.....	18
2.3 Ritmos y fotoperiodo.....	18
-La regla de Aschoff.....	18
2.4 Corales y fotoperiodo.....	19
2.5 Fotorrecepción en corales.....	20
2.6 Ritmos circadianos en organismos marinos.....	22
-Mecanismo de regulación.....	22
-Ritmos en cianobacterias.....	22
-Ritmos circamareales.....	23
-Ritmos circalunares.....	24
2.7 Marcapasos y fotorreceptores en <i>Bulla</i> y <i>Aplysia</i> .....	25
2.8 Biología del género <i>Xenia</i> .....	26
-Clasificación taxonómica.....	26
2.9 Otros estudios e importancia económica y ecológica de <i>Xenia</i> .....	28

<b>3. Planteamiento del problema.....</b>	<b>29</b>
<b>4. Hipótesis.....</b>	<b>29</b>
<b>5. Objetivo General.....</b>	<b>29</b>
<b>6. Objetivos Particulares.....</b>	<b>30</b>
<b>7. Material y Método.....</b>	<b>30</b>
7.1 Cortes para propagación.....	30
7.2 Diseño experimental.....	31
7.3 Línea de tiempo.....	33
7.4 Registro de la actividad pulsante.....	33
7.5 Análisis de la actividad pulsante.....	34
<b>8. Resultados.....</b>	<b>34</b>
<b>9. Discusión.....</b>	<b>39</b>
<b>10. Conclusiones.....</b>	<b>45</b>
<b>11. Bibliografía.....</b>	<b>46</b>
<b>12. Anexo.....</b>	<b>53</b>

## Glosario

Acrofase- hora o tiempo donde se ubica el valor más alto de una oscilación o un ritmo biológico.

Amplitud- se refiere a la diferencia entre los valores máximo y mínimo de una oscilación.

Batifase- hora a la cual se encuentra el punto más bajo de una oscilación.

Compensación a la temperatura- propiedad de mantener a la misma tasa las funciones rítmicas biológicas mientras cambia la temperatura ambiental, esta es una propiedad del ritmo circadiano.

Enmascaramiento- cuando una variable impide ver los efectos de otra variable.

Escotofase- fase de oscuridad de un fotoperiodo.

Fase- cualquier punto de una oscilación.

Fotofase- fase lumínica de un fotoperiodo.

Fotoperiodo LO- ciclo de luz-oscuridad.

Frecuencia- número de veces que ocurre algún fenómeno dentro de un intervalo de tiempo.

Libre corrimiento- cuando un ritmo se mantiene oscilando en ausencia del sincronizador.

LL- condición de iluminación constante.

LO- fotoperiodo luz y oscuridad.

Mesor- tendencia central de los valores de una oscilación.

OO- condición de oscuridad constante.

Periodo- en la fisiología circadiana se refiere al tiempo que tarda en completarse una oscilación.

Periodograma- función matemática de Fourier que relaciona componentes periodicos con su significancia estadística.

Sincronización- cuando dos o más procesos funcionan en la misma sintonía.

*Zeitgeber* o sincronizador- señal externa que impone fase y periodo.

(Refinetti, 2005)

## Resumen

Este estudio se enfoca sobre el ritmo biológico de actividad pulsante del coral blando *Xenia elongata*, un octocoral cuyos pólipos tienen la característica de que pulsán de manera rítmica, esta característica es propia de la familia Xenidae y se ha observado empíricamente que esta actividad pulsante varía a lo largo del día pero no se han llevado estudios al respecto para conocer este ritmo biológico y cómo puede variar bajo diferentes condiciones de fotoperiodo. Debido a que existen ritmos geofísicos como la rotación y la translación de la Tierra, se manifiestan diferentes eventos cíclicos ambientales y biológicos, tal es el caso del fotoperiodo, es decir el periodo de horas de luz respecto a las horas de oscuridad, que tiene un efecto sobre la gran mayoría de los organismos que viven en el planeta Tierra y varía anualmente en relación con la ubicación latitudinal; estos ciclos de luz y oscuridad tienen la capacidad de sincronizar a la mayoría de los ritmos biológicos. Para poder llevar a cabo este estudio se utilizó un acuario marino experimental, ya que una cualidad que tienen los acuarios marinos es que ofrecen la posibilidad de observar los efectos de la manipulación de diversos parámetros físicos y químicos, algo que resultaría sumamente costoso y difícil hacer en los arrecifes naturales; por lo tanto, es posible estudiar las cuestiones de ecosistemas enteros, así como los efectos que la manipulación del medio ambiente pueden tener sobre los organismos vivos del arrecife. La especie de estudio fue obtenida en un acuario marino donde previamente se aclimató a las condiciones de un sistema cerrado y posteriormente se cultivó en otros acuarios y se fragmentaron pólipos para obtener los animales experimentales. Una vez que se obtuvieron los animales experimentales, como pólipos individuales aislados, fueron registrados usando cámaras web, las grabaciones fueron hechas cada dos horas capturando durante 3 minutos las pulsaciones de los animales en cuatro condiciones diferentes de fotoperiodo, siendo éstas las siguientes: 12:12 LO condición control, 6:18 LO, 16:8 LO y 24:0 LO. Para el análisis los datos se convirtieron a escala log<sub>10</sub> y se utilizó el programa *Chronos-fit* ver 1.06 donde se obtuvo el periodograma por estadística y el análisis de cosinor que proporciona los parámetros de porcentaje de ritmo, la acrofase, la amplitud y el mesor. Este estudio demuestra la primera evidencia de que efectivamente existe un patrón rítmico en la actividad pulsante de *Xenia elongata* bajo las condiciones de fotoperiodo 12:12 LO y 6:18 LO. Este ritmo de actividad pulsante es un ritmo diario que oscila en dichas condiciones de fotoperiodo. Entre más expuesta a la luz esté *Xenia elongata*, bajo una escotofase más larga respecto a la fotofase, se incrementa la amplitud del ritmo de actividad pulsante y a partir de una condición de fotoperiodo 16:8 LO se comienza a atenuar la frecuencia de actividad pulsante y comienza a disminuir la amplitud del ritmo. Bajo condiciones de luz constante se pierde la ritmicidad a pesar de que los pólipos siguen pulsando uniformemente. La luz constante no causa alteraciones físicas en colonias pequeñas, por lo que es probable que este coral pueda propagarse para lograr tallas grandes bajo condiciones de iluminación constante.

## Palabras clave

Ritmo circadiano, *Xenia elongata*, pulsación, coral blando, fotoperiodo.

## **Introducción**

¿Cómo se puede saber si un organismo está vivo o muerto, si está sano o enfermo? Lo más probable es que la respuesta dependerá de la presencia o ausencia de un ritmo, por ejemplo, el latido del corazón, el movimiento, la respiración, o la reproducción, entre muchos otros ritmos. Los ritmos biológicos son inherentes a la vida misma y pueden ser detectados y observados por todos los sentidos. Dado que la Luna gira alrededor de la Tierra mientras la Tierra gira alrededor del Sol y sobre su eje, se generan una serie de ritmos geofísicos que inciden sobre la ritmicidad de la vida. Por definición, un ritmo es un cambio que se repite con un patrón similar, probabilidad y periodo. Si cuando una variable cambia, es biológica y endógena (impulsada desde adentro del organismo, en lugar de simplemente ser una respuesta al medio ambiente), la oscilación observada puede ser referida como un ritmo biológico, es decir, cualquier cambio en una variable biológica sincronizada en un intervalo y en una unidad de tiempo. Cuando las variables biológicas muestran un ritmo, como los movimientos de las hojas de una planta, el movimiento y metabolismo celular, o los cambios en la temperatura corporal, se utilizan a menudo tres características para describir el ritmo, las cuales son: el periodo, la amplitud y fase. Cada una puede ser expresada en unidades numéricas, proporcionando así una medida para cuantificar un ritmo (Koukkari y Sothorn 2006).

### Organismos marinos

La vida tuvo origen y evolucionó en el mar, un ecosistema donde intervienen varios ciclos rítmicos ambientales, tales como ciclos diarios de día-noche, ciclos con períodos más cortos o más largos como las mareas o los ciclos lunares, semi-lunares o bien, los ciclos estacionales. A lo largo de millones de años los organismos que habitan el medio marino se han adaptado a estos ciclos, y los utilizan para la sincronización de sus funciones vitales a escala interna o externa, es decir que los estímulos externos e internos del organismo están en fase. Dependiendo de varios factores como pueden ser, la especie, el comportamiento, la reproducción, la fisiología o incluso divisiones celulares, están sincronizados a los ciclos ambientales con diferentes periodos, lo que conlleva a una gama de diferentes ritmos biológicos (Tessmar-Raible et al. 2011). Jürgen Aschoff utilizó el término *zeitgeber*, del alemán “dador de tiempo” que se refiere a un sincronizador externo, para indicar que una

señal ambiental periódica sincroniza o establece el tiempo de un ritmo circadiano, a este proceso se le llama formalmente sincronización (Sehgal, 2004). Los cambios periódicos de los estímulos externos, como la luz, alimento, mareas, proporcionan las señales para que se sincronicen estos ritmos, estas señales sincronizadoras llamadas *zeitgebers* están ligadas a la recurrencia periódica de sol o la luna, ya sea directa o indirectamente (Tessmar-Raible et al. 2011).

Debido a la importancia de la investigación de los cronobiólogos en el área médica, gran parte del financiamiento está dirigido al área de vertebrados, y es poco lo que se ha estudiado en los grupos más primitivos de los animales. Por ejemplo, en las esponjas no se ha podido de concluir con certeza si éstas tienen un reloj biológico o no. Y en relación a los cnidarios últimamente se han estado estudiando sobre todo los ritmos de desove en corales y los recientes hallazgos acerca de su desarrollo, su genética y filogenética (Zivkovic 2012). Existen varios trabajos en cangrejos del género *Uca* y *Carcinus*, donde se han encontrado ritmos circamareales de actividad locomotriz y estos ritmos han persistido en condiciones constantes lo cual quiere decir que este comportamiento está regulado por un reloj circamareal (Bregazzi y Naylor 1972).

En anfípodos se ha estudiado que durante el día se mantienen escondidos entre la roca intermareal o arrecifal, e inclusive enterrados unos cuantos centímetros en la arena, al llegar la noche estos anfípodos salen en busca de alimento y por el amanecer se vuelven a refugiarse. Este patrón de forrajeo nocturno y diurno de refugiarse fue analizado en condiciones constantes y se mantuvo oscilando por lo que se llegó a la conclusión de que los anfípodos poseen un reloj circadiano (Bregazzi y Naylor 1972).

Existen trabajos en cangrejos de los géneros *Uca* y *Carcinus*, donde se han encontrado ritmos circamareales de actividad locomotriz y ritmos circadianos en diferentes experimentos con luz tenue o bajo condiciones constantes, también se han estudiado ritmos en planarias, mejillones, camarones, peces y langostas (Naylor 2010).

En la anémona *Nematostella vectensis*, se han hecho estudios para la disección molecular del desarrollo de cnidarios, donde han secuenciado el genoma de esta anémona y descubierto los genes que subyacen a la formación de planos corporales de estos animales (Putnam et al. 2007).

## Corales

Los corales son animales invertebrados marinos pertenecientes al phylum Cnidaria, clase Anthozoa, donde se encuentran las subclases Zoantharia (Hexacorallia), Alcyonaria (Octocorallia), y Tabulata (extinto). Los corales se conforman por estructuras denominadas pólipos, de los cuales existe una enorme diversidad debido a los diversos microambientes que habitan, la repetición de estructuras, la variedad de formas y de colores. Debido a las estructuras del pólipo viviente y su esqueleto se pueden distinguir unas especies de otras, ésta es una medida para entender las relaciones taxonómicas. En el pólipo de coral, los tentáculos rodean un plano que se conoce como disco oral. El tejido vivo se extiende hacia el exterior de la copa que contiene el pólipo, que se llama coenosarco (Delbeek y Sprung, 1994). En la mayoría de los casos los pólipos vivientes forman colonias de individuos (fig.1), aunque también pueden existir como individuos aislados. Sin embargo, en algunos corales la distinción entre un pólipo y la colonia es vaga, y hay pólipos coralinos individuales con muchas bocas, y las colonias en las que los pólipos individuales están todos ellos conectados de manera que es imposible decir dónde comienzan (Delbeek y Sprung, 1994).



Fig.1 Colonia de pólipos de *Zoanthus sp.*

Como eumetazoos simples, son los animales más primitivos con células epiteliales, neuronas, células madre, matriz extracelular compleja, fibras musculares, y un eje fijo de simetría. Se les considera como los principales arquitectos y componentes de los arrecifes de coral y son esenciales ya que son los responsables del mantenimiento de la diversidad marina (*Joint Genome Institute* 2013).

La mayoría de los corales portan como endosimbiontes a dinoflagelados fotosintéticos llamados zooxantelas (figs. 2 y 3), los cuales benefician al coral por la energía y carbón producido de la fotosíntesis y el coral beneficia al endosimbionte proporcionando un ambiente estable, nutrientes que absorbe el pólipo y metabolitos generados por el coral. Se ha observado que las tasas de crecimiento en corales en cautiverio son similares e incluso mayores que aquellas en corales de arrecifes naturales (Bingman, 1998).



Fig.2 Vista microscópica de zooxantelas (www.coralhub.info).



Fig.3 Las columnas oscuras son zooxantelas en pólipos de *Zoanthus sp.*

### Corales blandos

Los verdaderos corales blandos pertenecen a la subclase Octocorallia. Al igual que los corales duros y las anémonas, los corales blandos pertenecen al phylum Cnidaria y la clase Anthozoa. Lo que los distingue de todos los demás y es característico de los octocorales es el número de tentáculos en los pólipos. Todos tienen ocho tentáculos en cada pólipo, de ahí el nombre Octocorallia, además presentan ramillas laterales en cada tentáculo llamadas pínulas. Sin embargo, algunos corales blandos tienen pínulas reducidas o carecen de ellas. La construcción del pólipo con ocho mesenterios desapareados es también una característica de Octocorallia (Sprung y Delbeek 1997). Los pólipos están sostenidos por un tubo cilíndrico anclado al coenénquima de la colonia (Pass et al. 1989). Dentro del suborden Alcyoniina existen dos formas básicas de crecimiento: colonias masivas carnosas, y colonias arborescentes con un coenénquima delgado. Las colonias masivas tienen un

coenénquima más espeso con espículas más fuertes. Las colonias generalmente consisten en un tallo coronado por una tapa redondeada con forma de hongo, que lleva los pólipos, llamado capítulo. El tallo puede ser alargado o corto, mientras que el capítulo puede ser suave y redondeado (por ejemplo, *Cladiella*, *Heteroxenia*, *Xenia*), en pliegues (por ejemplo *Sarcophyton*) o puede tener numerosos lóbulos donde sobresalen los pólipos (por ejemplo, algunas formas de *Cladiella*, *Lobophytum*, y algunas formas de *Sinularia*) (Sprung y Delbeek 1997).

El espacio es de suma importancia para los corales blandos y para lo cual han desarrollado varias estrategias de competencia como producir metabolitos alelopáticos como terpenos y terpenoides, entre estos diterpenos se han estudiado los efectos en corales duros (Sammarco et al. 1983, Aceret et al. 1995a), y la capacidad de urticar a otros corales en contacto por acción de sus nematocistos; para evitar la depredación tienen escleritas de carbonato de calcio, usan metabolitos para reducir su palatabilidad ante depredadores y tienen la capacidad de retraer los pólipos (Sprung y Delbeek 1997).

*Xenia* (fig.4) es un género de octocorales que se encuentra distribuido desde los arrecifes del Mar Rojo y del Indo-Pacífico hasta la Gran Barrera de Coral, desde una gran variedad de hábitats como planicies y lagunas arrecifales hasta varias profundidades que no superan los 50 metros, los géneros *Xenia spp.* y *Heteroxenia spp.* abren y cierran de manera rítmica sus pólipos, variando esta actividad de especie a especie, de ahí su nombre común de coral pulsante. Además son muy viscosas porque producen una alta cantidad de mucus. El nombre *Xenia* deriva de la palabra griega hospitalidad, esto se debe a la apariencia de los pólipos pulsantes de algunas especies que dan la impresión de muchas manos que mandan un saludo. Los pólipos pueden estar incrustados o extendidos sobre la roca, son monomórficos y no retráctiles (Delbeek y Sprung 2005). El cultivo de corales blandos y de *Xenia* bajo luz artificial le permite a uno extender el fotoperiodo. Incluso es posible cultivar a *Xenia* sin periodo de oscuridad, y para algunas especies esto puede incrementar la producción (Sprung y Delbeek 1997).



Fig.4 Colonia adulta de *Xenia elongata*.

#### Importancia de los acuarios marinos

Los acuarios de marinos han hecho que cada vez más personas se involucren con ellos en numerosas instituciones, universidades, escuelas, casas y oficinas. Por lo tanto, se han convertido en un medio y una herramienta para introducir a las personas y a los estudiantes a la ecología de arrecifes de coral. Para los investigadores de arrecifes de coral, se han convertido en una valiosa estación de trabajo en casa y laboratorios, que hace posible observar los efectos de la manipulación de diversos parámetros físicos y químicos, algo que es casi imposible hacer en los arrecifes naturales. Por lo tanto, un acuario marino o de arrecife ofrece la posibilidad de estudiar las cuestiones de ecosistemas enteros, así como los efectos que la manipulación del medio ambiente pueden tener sobre los corales o cualquier organismo que vive en el arrecife, además apoyan la restauración y mantenimiento de los arrecifes naturales y artificiales. (Delbeek y Sprung 2005).

También son considerados como semilla de una nueva rama de la ciencia, llamada Biosférica, que estudia el mantenimiento de los ecosistemas con el objetivo de ser auto-sostenibles separados del planeta Tierra (Delbeek y Sprung 2005).

En años recientes, la acuariofilia marina ha entrado en una nueva etapa donde la acuicultura está generando una mayor proporción de animales cultivados, en comparación con las de cosecha silvestre que tienen el potencial de portar plagas fatales. Existe un interés en la acuicultura de la vida marina ornamental que ha sido impulsado por varios factores, tales como los altos precios al por mayor, animales cultivados de mejor calidad y técnicas de engorda, la demanda creciente de productos provenientes de acuicultura, y el intercambio de información en congresos internacionales tales como la Conferencia Bianual de Ornamentales Marinos. Al mismo tiempo, la formación de organizaciones como el Consejo de Acuarios Marinos (MAC) ha promovido el aprovechamiento sostenible de la vida marina y las mejoras en las prácticas de cultivo, con los objetivos de mantener la industria del acuario lo más saludable posible, promover la conservación de los arrecifes de coral y el tratamiento ético de la vida marina (Delbeek y Sprung 2005).

Diversos países tropicales que cuentan con arrecifes de coral en el Atlántico y en el Pacífico, han prohibido o restringido la colecta de especímenes de sus aguas (Heslinga, 1995) y por lo tanto se ha fomentado la acuicultura sostenible de estos animales. Muchos compradores de animales para acuarios de arrecife son buzos, científicos y naturalistas que desean proteger el medio ambiente. Esta actitud de conservación ha proporcionado un mercado para los animales cultivados en sistemas cerrados o de maricultura, por lo tanto se ofrece una alternativa viable a la colecta de animales silvestres.

Por otra parte, las técnicas que se emplean por las granjas de maricultura y acuicultura, tienen el potencial para ser empleadas para proyectos de restauración de arrecifes, algo que cada vez se necesita con mayor frecuencia.

La temperatura es el parámetro físico más importante para los sistemas de arrecifes en cautiverio. Si todos los demás parámetros se encuentran en valores adecuados, pero la temperatura no, el arrecife simplemente decaerá. La temperatura debe mantenerse en 22 a 27 °C para resultados óptimos. Los ciclos reproductivos de los peces y corales implican señales que incluyen la temperatura. Las altas temperaturas en combinación con longitudes más largas del día y los cambios de salinidad desencadenan desoves tanto en el medio natural como en cautiverio (Delbeek y Sprung 2005).

La fragmentación y la reproducción asexual se han empleado para muchas especies y la reproducción sexual en cautiverio ha mostrado avances progresivos. Los métodos que incluye la reproducción asexual son: la fragmentación, la fisión, la laceración pedal y la proliferación colonial (fig. 5). Actualmente se propagan asexualmente los corales de los órdenes Actiniana, Corallimorpharia, Zoantharia, toda la subclase Octocorallia, y también aunque en minoría, algunos corales duros del orden Scleractinia (Tyree, 1992).

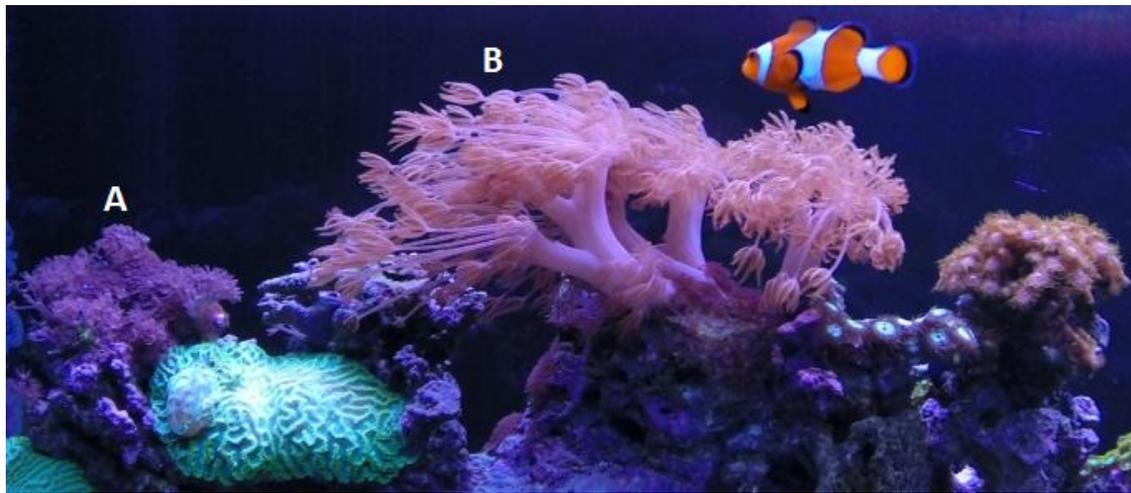


Fig. 5 Acuario de propagación de A) *Xenia umbellata* y B) *Xenia elongata* entre otros géneros de corales.

## Antecedentes

### Generalidades de los Ritmos Circadianos

La palabra circadiano deriva de las palabras latinas *circa* (alrededor) y *diem* (día). Por lo tanto, los ritmos circadianos son ciclos o ritmos que se producen con una periodicidad cercana a 24 horas. Un ejemplo muy cotidiano y conocido es el ritmo de sueño-vigilia en varias especies, sobretodo en humanos. Otros organismos presentan un comportamiento similar, que se conoce como ciclos de actividad-reposo, sin embargo, esto no quiere decir que el reposo sea una fase de sueño como tal, sino que disminuye significativamente la actividad. Los ritmos circadianos se caracterizan por presentar propiedades particulares. En primer lugar, esta periodicidad de aproximadamente 24 horas es un atributo bastante importante en los ritmos circadianos, pueden ser 20 o hasta 28 horas. Una segunda propiedad es que son sincronizables, es decir, se pueden restablecer en fase por diferentes *zeitgebers*. En la mayoría de los ritmos sincronizados por ciclos día-noche la señal ambiental principal que los afecta es la luz y después la temperatura. En tercer lugar, pueden persistir en la ausencia de señales cíclicas ambientales, en estas condiciones se dice que están en un periodo de libre corrimiento, es decir, sin señales ambientales que les indiquen el paso del tiempo. El carácter endógeno de un ritmo y su periodicidad tiene que ser determinada en condiciones de libre corrimiento. La cuarta propiedad de estos ritmos, es que los periodos presentan una compensación a la temperatura (Sehgal, 2004). Estos ritmos circadianos son controlados por relojes biológicos, los cuales imponen fase y periodo a otros osciladores o relojes según las variaciones ambientales, es decir, se ponen en hora (Durán et al. 2013).

### Relojes biológicos

Un reloj se entiende como una estructura funcional que marca o registra la hora del día, que generalmente divide el periodo de rotación de la Tierra en intervalos temporalmente iguales. Por lo tanto un reloj biológico u oscilador se puede definir como una entidad capaz de generar una variación periódica en el valor de una magnitud física o lógica, especialmente una variación regular por arriba y por debajo de un valor medio. Un marcapasos es una entidad funcional capaz de generar una ritmicidad endógena y de

imponer esta ritmicidad en una o más de otras entidades. El marcapasos es un oscilador, pero no todos los osciladores son marcapasos (Refinetti 2005).

### Clasificación de los ritmos

Una clasificación está basada en la duración del periodo. Aquellos ciclos biológicos cuyos periodos sean menores de 20 horas se les conocen como ritmos ultradianos, y aquellos cuyos periodos sean mayores de 28 horas se les conocen como ritmos infradianos. El intervalo de períodos de los ritmos biológicos se puede extender desde ciclos que se miden en milisegundos hasta ciclos que son de más de 100 años de duración (Koukkari y Sothorn, 2006).

### Los cuatro circa

Otra clasificación general consiste en los llamados cuatro circa, que son:

Ritmos circadianos, aquellos ritmos cuyo periodo oscila entre 20 a 28 horas. Ejemplos: ritmo de secreción de melatonina, actividad locomotriz, sueño-vigilia, temperatura corporal, todos éstos en humanos; ritmo de apertura de los pólipos en algunos corales, ritmos de potenciales de acción en invertebrados marinos.

Ritmos circanuales, aquellos ritmos cuyo periodo es cercano a 1 año. Ejemplos: ritmos de floración en ciertas plantas, hibernación en algunas especies, reproducción estacional en ciertas especies.

Ritmos circalunares, aquellos ritmos cuyo periodo es cercano a 29.53 días. Ejemplos: ecdisis en algunos insectos en la fase oscura de la luna, desoves en especies marinas, eclosión semilunar de ciertos acelos marinos.

Ritmos circamareales, aquellos ritmos cuyo periodo es cercano a 12.4 horas. Ejemplos: actividad locomotriz en cangrejos intermareales, respiración en ciertos peces y erizos de mar, producción de moco en corales expuestos a la bajamar. (Dunlap et al. 2004).

### Propiedades de los ritmos

Los ritmos biológicos exhiben propiedades o parámetros (fig.6) que los hacen ser característicos, gráficamente semejantes a una onda, y que brindan información acerca del ritmo en cuestión. Tales propiedades son las siguientes:

-Periodo, el periodo representa el tiempo requerido para completar una oscilación o ciclo. Sin embargo se debe evitar la ambigüedad como intervalo de tiempo cuando se habla de fisiología circadiana. Se puede medir en: segundos, horas, días, años, etc.

-Frecuencia, es el número de veces en que ocurre un fenómeno que se observa o se está estudiando en la unidad de tiempo.

-Amplitud, se refiere a la diferencia entre máximos y mínimos de una oscilación.

-Fase, es el desplazamiento angular relativo entre un valor del ritmo y un ángulo de referencia, generalmente ambiental, como lo es la fase de oscuridad por ejemplo, o bien una fase de actividad o reposo.

-Acrofase, cresta o cenit, es el punto máximo o pico de la oscilación de un ritmo. Se mide en horas o grados.

-Batifase, valle o nadir, es el punto más bajo en la oscilación de un ritmo. Se mide en horas o grados.

-Mesor, es un estimado estadístico que denota la tendencia central de la distribución de datos de una variable oscilante, es el promedio de la función coseno (Durán et al. 2013).

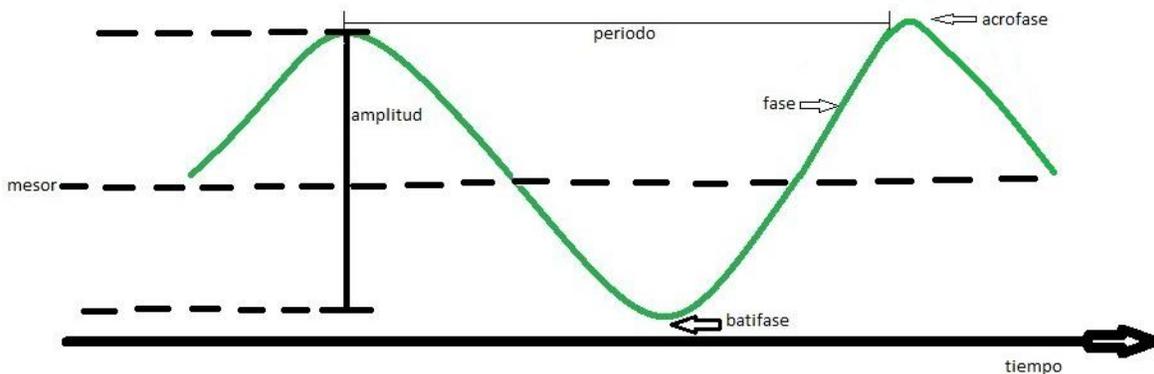


Fig.6 Parámetros básicos del análisis de una oscilación.

El análisis de Cosinor es un algoritmo matemático que se emplea para analizar los ritmos biológicos, basado en un ajuste cosenosoidal de los datos experimentales. Cuando matemáticamente los datos de las variables biológicas se ajustan a este análisis se utilizan los parámetros básicos de un ritmo para llevar a cabo el estudio (Durán et al. 2013).

### **Señales sincronizadoras más importantes: luz y oscuridad**

En la naturaleza, son varios los factores que oscilan en el día. Tales factores son la luz, la temperatura, humedad, disponibilidad de alimento, las mareas y señales sociales en algunas especies. Algunos factores funcionan como sincronizadores, unos más que otros para ciertas especies, y la más importante generalmente es el ciclo de luz-oscuridad de 24 h, este ciclo de luz-oscuridad tiene la capacidad de sincronizar a casi todos los ritmos circadianos (Dunlap et al. 2004).

### **Ritmos y fotoperiodo**

El periodo de un ritmo biológico puede ser más largo o más corto en virtud de las condiciones constantes de iluminación o de oscuridad, la ritmicidad podría ser detectada sólo bajo LL o bien sólo en OO, pero no en ambos, y también ritmos cuya ritmicidad podría ser detectada en ambos, pero depende de las características y hábitos del organismo. Ciertas longitudes de onda de la luz también pueden influir en el periodo de libre corrimiento de algunas variables, aunque el efecto puede diferir entre las especies (Koukkari y Sothorn 2006).

### **Regla de Aschoff**

La regla de Aschoff explicada de una manera general, menciona que el periodo en libre corrimiento, observado bajo luz constante para los animales diurnos se acortará y en animales nocturnos se alargará. Los efectos de la luz continua son dependientes de la intensidad que se maneje. Bajo condiciones de oscuridad constante el periodo para los animales diurnos se alargará y para los nocturnos se acortará (Dunlap et al. 2004).

## **Corales y fotoperiodo**

Existen tres cualidades importantes de la luz que son de mayor preocupación para el acuarista: fotoperiodo, espectro e intensidad (Delbeek y Sprung 1994).

El fotoperiodo se refiere a la duración de la iluminación, qué tan largo es el día.. Cuando las luces se han apagado, se puede utilizar luz incandescente azul o LED azul de bajo consumo para simular la luz reflejada por la Luna, un estímulo importante para la reproducción en algunos corales y otras formas de vida marina (Delbeek y Sprung 2005).

La variación del fotoperiodo en el ambiente natural se da a una escala anual, estas variaciones ocurren en relación a la ubicación latitudinal. Se sugiere que aproximadamente la fotofase de los ecosistemas arrecifales es de 10 horas por ciclo durante el invierno y hasta 13 horas por ciclo durante el verano en el hemisferio norte, y se ha observado que las partículas en suspensión y los sedimentos que pueda traer consigo el agua, limitan la cantidad de iluminación que penetra la columna de agua sobre un arrecife. Este valor de menor intensidad y calidad espectral se ha demostrado que afecta las tasas de crecimiento de los corales (Tomascik y Sander, 1985).

Los acuarios de arrecife de coral requieren un diseño especial, un mantenimiento regular y una excelente filtración tanto biológica, como química y mecánica para limitar las partículas en suspensión y para evitar un crecimiento excesivo de algas, ya que éstas pueden causar efectos negativos sobre los corales. Tanto las macroalgas como las microalgas pueden florecer en ciertas zonas de una colonia coralina o de roca arrecifal y restringir la cantidad de iluminación que recibe el coral, así como inhibir su crecimiento o causar infecciones. La operación y el mantenimiento del acuario deben de estar en excelentes condiciones si se maneja un fotoperiodo de 12 a 13 hrs de luz para que no ocurran floraciones algales. Además el crecimiento abundante de alga coralina por su naturaleza calcárea previene la proliferación de algas filamentosas (Tyree, 1992).

Durante el crepúsculo se produce un valor de intensidad lumínica muy específico que es utilizado como *zeitgeber* por muchas especies marinas para sincronizar su actividad de desove o reproducción. La ritmicidad de la fase lumínica de la luna parece ser el sincronizador ambiental más importante para el desove mensual de varios organismos marinos (Tyree 1992).

En la gran mayoría de los corales hermatípicos, el comportamiento nocturno sugiere que la expansión del tentáculo podría estar bajo el control de un reloj circadiano. En seis especies de *Fungia*, el comportamiento de los tentáculos mostró un ritmo circadiano bajo oscuridad constante, mientras que en luz constante de baja intensidad, sólo dos especies de *Fungia* mostraron un ritmo circadiano (Sweeney, 1974).

### **Fotorrecepción en corales**

Existen varias hipótesis sobre la percepción de la luz baja en corales. En la primera, las bajas tasas de transporte fotosintético de electrones de las zooxantelas bajo la luz lunar pueden desencadenar un gradiente de pH a través de las membranas de los tilacoides (Falkowski et al. 1984). En segundo lugar, el coral puede tener células ligadas con fotorreceptores todavía no descubiertos. Por último, las zooxantelas en sí mismas pueden tener fotorreceptores independientes del aparato fotosintético (Jokiel et al. 1985). En general los fotorreceptores convierten la luz en cambios en los niveles intracelulares de segundos mensajeros, en mamíferos comúnmente nucleótidos cíclicos y el calcio en los invertebrados (Rayer et al. 1990).

Gorbunov y Falkowski (2002) se hacen la siguiente pregunta: ¿Qué componente de esta simbiosis proporciona percepción de poca luz: el anfitrión cnidario o las zooxantelas? Para responder esta pregunta en un estudio se llevó a cabo un experimento donde observan como influye la luz azul en los fotorreceptores de los corales que hacen simbiosis con zooxantelas y concluyen que los corales tienen un umbral de fotorrecepción extremadamente sensible a las más leves irradiancias en el espectro de la luz azul que simula las bajas irradiancias del espectro azul de la Luna en la naturaleza que desencadena desoves sincrónicos, también localizan a los fotorreceptores distribuidos uniformemente en cada pólipo (Gorbunov y Falkowski 2002).

El sistema de sensores debe estar acoplado a un contador de fotones con el fin de crear un reloj lunar sincronizado (Jokiel et al. 1985). La temporización de desoves masivos está regulada por múltiples ciclos que ocurren a diferente escalas (Vize et al. 2008). Los ciclos ocurren a escalas estacionales las cuales determinan el mes del desove, escalas

lunares que determinan la fecha del desove (Babcock et al. 1986) y escalas solares diarias que determinan la hora y minuto del desove (Levitan et al. 2004; Vize et al. 2005).

Levy et al. (2007) realizaron un estudio en *Acropora millepora* donde clonaron genes *cry* (*cry1*, *cry2*, *cry3* y *cry-dash*) ya que es el que interviene en la fotorrecepción en otros animales, hicieron análisis filogenéticos con los CRY'S de otros vertebrados y encontraron que este gen es fotosensible y tiene una oscilación rítmica de *cry1* y *cry2* en condiciones LO y bajo oscuridad continua se vuelve arrítmica; también encontraron que los niveles de expresión de *cry2* en luna llena son más altos que los de *cry1*, lo que sugiere que *cry2* probablemente puede sincronizar el reloj interno del coral a la fase lunar para llevar a cabo los desoves masivos.

En el estudio de Brady et al. (2009) se demostró que en *Montastrea franksi*, otro coral hermatípico, el momento de desove es una respuesta directa a los ciclos solares y no una respuesta circadiana sincronizada, sin embargo, es posible que para otras especies los componentes de temporización para el desove estén bajo el control de relojes biológicos, como se demuestra que existe un reloj circalunar para el desove de corales criadores (Jokiel et al. 1985). Es probable que los desovadores masivos usen un reloj similar y que tenga que intersectar con la respuesta ambiental para que el desove ocurra en la ventana de tiempo correcta (Brady et al. 2009).

En estudios de *Acropora digitifera*, ya se secuenció su genoma (Shinzato et al., 2011) y se han encontrado genes circadianos y fotorreceptores (*cry's* y *opsin*) mediante análisis filogenéticos moleculares, muchos genes son ortólogos con vertebrados y la anémona *Nematostella*, lo que sugiere que el sistema del reloj circadiano fue establecido en un ancestro común entre cnidarios (Shoguchi et al. 2012).

## **Ritmos circadianos en organismos marinos**

### Mecanismo de regulación

El control de los ritmos está dado generalmente por relojes biológicos. Los relojes funcionan mediante el mecanismo de asa de retroalimentación en el que los productos oscilantes de genes específicos regulan su propia expresión. A estos genes se les llaman genes reloj. El tiempo que transcurre para que ocurra una vuelta completa del asa es de aproximadamente 24 horas, lo que resulta en oscilaciones circadianas de ARN y los niveles de proteínas. La expresión rítmica de las proteínas asegura que la retroalimentación negativa sobre la transcripción sea rítmica, lo que a su vez asegura la expresión rítmica del ARNm (Koukkari y Sothorn 2006). Algunas de las moléculas que funcionan de esta manera pueden diferir entre especies, algunas de estas moléculas se conservan estructuralmente desde cianobacterias hasta mamíferos (Koukkari y Sothorn, 2006).

### Ritmos en cianobacterias

Debido a que la gran mayoría de los corales y el organismo de este estudio poseen zooxantelas como endosimbiontes, es importante conocer sobre el tema de ritmicidad en algas unicelulares.

Recientemente en varias cepas de cianobacterias se han reportado diversos ritmos circadianos, por lo que se conoce que los organismos más simples poseen un reloj circadiano. Gran parte o la mayoría de los estudios se han llevado a cabo en una cepa unicelular, *Synechococcus elongatus*. Las cianobacterias unicelulares que no poseen heterocistos realizan fotosíntesis temporalmente separada de la fijación de nitrógeno, es decir que al carecer de heterocistos deben realizar estas funciones separadas temporalmente, ya que el heterocisto es donde se realiza la fijación de nitrógeno. En 1986, Mitsu y colaboradores describieron las oscilaciones diarias del ritmo de la actividad de nitrogenasa en la cianobacteria marina unicelular, *Synechococcus*. Demostraron que las funciones de fijación de nitrógeno y fotosíntesis ocurrían separadas temporalmente. La fotosíntesis se llevó a cabo durante la fotofase, mientras que la fijación de nitrógeno en la escotofase. Incluso también demostraron que la síntesis de carbohidratos, el consumo de oxígeno respiratorio y el ciclo celular muestran ritmos diarios bajo luz constante. Otros

ritmos como el de la fijación de nitrógeno y la absorción de aminoácidos se ha reportado que presentan compensación a la temperatura. En *Synechococcus* WH7803, se han reportado ritmos de división celular que tienen compensación de temperatura en un rango de 16-22°C. En otra cepa, *Synechococcus* sp. Miami BG43511, los ritmos de actividad de la nitrogenasa, la fotosíntesis, y la división celular mantienen un periodo de 24 horas en el intervalo de 24-30°C. En los ritmos circadianos de cianobacterias, se observan los criterios para la función completa y descrita del reloj circadiano, que son: la oscilación en condiciones constantes, el reajuste de fase, y la compensación de temperatura. Esto quiere decir que las cianobacterias poseen un reloj circadiano a pesar de que carecen de la organización celular como en otros grupos de plantas y animales donde se han estudiado los ritmos (Naidoo, 2004).

En el estudio de Sorek et al. (2013) se demostró que la fotosíntesis de *Symbiodinium* tiene una ritmicidad diaria con compensación a la temperatura (Sorek y Levy 2012) y con un periodo cercano a 24 horas en ciclos de luz oscuridad y una periodicidad de 23.5 a 24.4 horas en condiciones constantes de iluminación. Hicieron pruebas del alga como organismo unicelular de vida libre y como parte de la asociación simbiótica con *Stylophora pistillata*. Mostraron evidencias de que la maquinaria del reloj circadiano regula el aparato fotosintético de las algas simbióticas unicelulares, con la luz como una señal importante responsable de la duración del ciclo en libre corrimiento. Existe cierta complejidad en los ritmos circadianos de organismos simbióticos, como los corales, y se demuestra la capacidad de las algas para ajustar su maquinaria circadiana y así poder responder a las señales externas como la luz.

### Ritmos circamareales

Las fuerzas gravitatorias del sol y la luna tienen un efecto sobre las masas de agua de la Tierra, causando la baja y alta de mareas. En las zonas costeras se pueden presentar mareas semidiurnas (dos altas y dos bajamares por día) o mareas diurnas (una pleamar y una bajamar por día). Un ritmo circamareal tiene un período de 12.4 h (la mitad de un día lunar) (Tessmar-Raible et al. 2011). Esta oscilación de ascenso y descenso de agua trae un impacto significativo sobre los organismos que viven en las zonas mareales. Las mareas provocan cambios en los siguientes parámetros y factores: humedad, salinidad,

temperatura, niveles de oxígeno, corriente de agua, irradiación solar, disponibilidad de alimentos, presión hidrostática y la exposición a depredadores. Es por estos cambios que evolutivamente el reloj molecular le permite a una especie anticiparse a algún cambio para su sobrevivencia, y así evitar condiciones adversas. La existencia de los relojes circamareales es y fue evidente a partir de estudios en ciertas especies, la primera para la que fue descrita un reloj fue la planaria acelomorfa *Symsagittifera roscoffensis*. En las mareas bajas, los acelos emergen de la arena y sus endosimbiontes fotosintéticos reciben la luz del sol. Antes de la marea creciente, los acelos se entierran de nuevo en la oscuridad de la arena. Durante los meses de verano, este ciclo de la migración sigue un ritmo circamareal de 12.4 horas (Tessmar-Raible et al. 2011). La manera en que experimentaron esto fue retirando animales adultos de su medio ambiente y los colocaron en frascos de vidrio, y observaron que en condiciones de laboratorio y de libre corrimiento, se mantuvieron los ciclos de movimiento durante cinco días. Esta observación proporciona la primera evidencia de la existencia de un reloj circamareal en un organismo marino. Otros ritmos circamareales, tanto fisiológicos como conductuales, se han estudiado en arañas de mar, cangrejos, crustáceos, anémonas y moluscos. También ha quedado demostrado que casi todos están bajo control de un reloj circamareal (Tessmar-Raible et al. 2011).

En los géneros *Uca*, *Carcinus*, y *Hemigraspus* se han encontrado ritmos circamareales de actividad locomotriz y ritmos circadianos que han persistido bajo condiciones constantes en laboratorio, lo que llevó a la conclusión de que estos animales tienen una memoria circadiana y circamareal, controlada por relojes circadianos y circamareales (Naylor 2010).

### Ritmos circalunares

Los ciclos lunares o semi-lunares se involucran más en los eventos reproductivos tales como desoves sincrónicos masivos, a diferencia de los circamareales que se manifiestan en cambios conductuales. Esto ha sido documentado para organismos marinos que incluyen corales, erizos, poliquetos, moluscos, peces, y así como para algas verdes y marrones. En general, las especies cuyos ciclos reproductivos son circalunares o semilunares dependen de una fertilización externa, es decir, la liberación de los productos gonadales de cada individuo al mar abierto. Mientras que las especies con fecundación interna pueden tolerar

las diferencias en la maduración de cada individuo, la fertilización exitosa en este tipo de reproductores depende fundamentalmente de una estrecha sincronización entre la maduración masculina y femenina, y la liberación de los productos germinales (Tessmar-Raible et al. 2011). El ciclo lunar proporciona a estos organismos una ventana de tiempo relativamente estable que se usa para la sincronización, tanto en poblaciones extendidas como en otras que se encuentren cercanas (Tessmar-Raible et al. 2011).

### **Marcapasos y fotorreceptores en *Bulla* y *Aplysia***

Hay dos moluscos marinos gasterópodos para los cuales se conoce detalladamente su fisiología y ritmicidad circadiana desde un nivel fisiológico celular hasta el organismo entero, estos son *Bulla* y *Aplysia*, relativamente simples tanto estructuralmente como conductualmente. *Bulla* es carnívoro y nocturno, mientras que *Aplysia* es herbívoro y diurno, ambos usan el pie para su actividad locomotriz y tienen dos ojos simples que contienen cada uno un marcapasos circadiano. En las células retinales basales se ha observado un ritmo circadiano de actividad de descarga de potenciales de acción compuestos en el nervio óptico de estos animales, y también que cada ojo funciona como un oscilador cuando está aislado pero existe un acoplamiento y cierta fuerza de acoplamiento con el otro oscilador (el otro ojo) cuando ambos están en funcionamiento en el animal. El marcapasos ha sido localizado en células específicas del ojo en ambas especies. Para *Bulla* el marcapasos reside en cada una de las células retinales basales que acopladas eléctricamente generan los ritmos de potenciales de acción compuestos. En *Aplysia* es más complicada su localización debido a la anatomía del ojo, la zona retinal basal de neuronas es el marcapasos, un pequeño número de neuronas o neuronas individuales son posiblemente funcionales como un marcapasos, a su vez los fotorreceptores también se encuentran en la zona retinal basal. Las células basales retinales actúan como el generador y oscilador del ritmo de potenciales de acción compuestos a través de cambios espontáneos en el potencial de membrana, y también como fotorreceptores para sincronizar el ritmo. Este tipo de reloj circadiano se compone de dos osciladores acoplados eléctricamente donde ambos tienen una vía de salida. (Dunlap, et al. 2004). Posiblemente en los octocorales como *Xenia* el modelo de reloj circadiano sea el de reloj simple, donde hay un oscilador principal con una o varias vías de salida, pero

tomemos en cuenta también los relojes que poseen sus zooxantelas *Symbiodinium*, que aún no se sabe cómo podrían estar acoplados.

### **Biología del género *Xenia***

#### Clasificación taxonómica

Reino	Animalia (Linnaeus, 1758)
Subreino	Eumetazoa (Buetschli, 1910)
Phylum	Cnidaria (Hatschek, 1888)
Clase	Anthozoa (Ehrenberg, 1834)
Subclase	Octocorallia (Haeckel, 1866)
Orden	Alcyonacea (Lamouroux, 1812)
Familia	Xeniidae (Ehrenberg, 1828)
Género	<i>Xenia</i> (Lamarck, 1816)
Especie	<i>elongata</i> (Dana, 1846)



Fig. 7 Colonias adultas de *Xenia elongata* propagadas desde 2009 hasta la fecha en un acuario privado de Adrián Girón.

*Xenia elongata* se adapta muy bien en acuarios con una iluminación intensa y corrientes fuertes e intermitentes aunque se puede adaptar a una corriente intermedia. En su medio natural hay poca o intermedia corriente, tienen preferencia por un pH y KH alto y algunas especies crecen más rápido con la adición de sales minerales que ocurren en el medio natural. Si el pH baja de 8.3 la pulsación rítmica de los pólipos de *Xenia* es menos coordinada, los tentáculos se enrollan hacia fuera, y las puntas no son equidistantes al tocarse en una pulsación. En cambio, cuando aumenta el pH los tentáculos se enrollan hacia adentro, la pulsación es más coordinada y los tentáculos son equidistantes (Sprung y Delbeek 1997). Se ha malinterpretado a las pulsaciones como captura de plancton, pero debido a su poco desarrollo gastrovascular ésta no es su función, sino que más bien esta función está en relación a la cinética del agua, ya que el movimiento genera que circule el medio interno del animal a través de su impacto en la superficie, generando y promoviendo así el intercambio gaseoso, absorción de alimento y la eliminación de metabolitos. El mecanismo es el siguiente: al dispararse una pulsación, debido a la cinética que se genera en el pólipo, el agua fluye en el medio interno del animal permitiendo la liberación de CO<sub>2</sub> y la toma de oxígeno (como ocurre en el torrente sanguíneo de otros animales); durante una iluminación intensa en el día, se promueve la liberación del exceso de oxígeno producido por fotosíntesis. Se ha reportado que la acción pulsante también sirve para otro propósito: recibir iluminación y sombra pulsada, de esta manera el organismo evita una iluminación en exceso (Delbeek y Sprung 2005).

Además de absorber iones, la nutrición de *Xenia* depende en gran parte de su relación mutualista con zooxantelas por los productos que generan éstas a partir de las reacciones de fotosíntesis, y de la secreción de mucus que forma una especie de red molecular para atrapar compuestos orgánicos disueltos (Sprung y Delbeek, 1997). Muchos de los octocorales portan zooxantelas en sus tejidos (Berner et al. 1987). Los corales de la familia Alcyonaceae contienen innumerables zooxantelas en las células del endodermo (Gohar 1940). Estas algas desempeñan un papel importante en la fisiología nutricional de los xenidos, ya que realizan la captación de energía lumínica que nutre al coral, realizan la fijación de carbono necesario tanto para ellas mismas como para el coral, y a su vez el coral les brinda protección y nutrientes (Schlichter 1982 a, b, Schlichter et al. 1983, 1984).

Como en todos los anthozoos, los octocorales pueden reproducirse sexualmente y asexualmente. La comunidad científica tiene más interés en la reproducción sexual, mientras que la comunidad acuarística tiene más interés en la reproducción asexual debido a sus altas tasas de crecimiento y potenciales regenerativos. Las formas de reproducción asexual en *Xenia* son: fragmentación, laceración pedal, y fisión transversa. *Xenia* emplea dos métodos de fragmentación para que las colonias se dispersen rápidamente a lo largo de largas distancias. Un método consiste en espontáneamente fragmentar pólipos individuales que son dispersados por las corrientes, aproximadamente a la mitad de la columna pólipo se genera una constricción del tejido que indica el sitio donde se fragmentará, los pólipos separados llegarán a un sitio donde, bajo condiciones favorables, formarán una nueva colonia. En otras ocasiones *Xenia* emplea una fragmentación del tallo colonial o del tejido que se incrusta en la roca, este método asemeja la fisión transversa en anémonas. La fragmentación también puede ocurrir debido a desastres naturales y a la acción de depredadores (Sprung y Delbeek 1997).

Las formas de reproducción sexual para los corales blandos en general son: desoves masivos con fertilización externa, fertilización interna con las plánulas criadas internamente en sacos endodermales y después liberadas por estructuras especializadas (*Xenia spp.* emplea este método), y la última es por fertilización interna con plánulas criadas después en sacos externos en la superficie del pólipo y después liberadas (Sprung y Delbeek 1997).

Gran parte de los estudios en xenidos fueron dirigidos hacia la taxonomía y reproducción sexual por Benayahu y Gohar. Fue en 1940 que Gohar descubrió que los xenidos crían sus plánulas y algunos xenidos del Mar Rojo presentan evidencia de planulación. La expulsión larvaria de *X. macrospiculata* dura varios meses al año en ciclos quincenales durante las fases interlunares (Benayahu y Loya, 1984a, 1984b). La embriogénesis de *X. umbellata* se produce en sacos criadores (Benayahu et al. 1988).

### **Otros estudios e importancia económica y ecológica de *Xenia***

Se ha estudiado el efecto que tienen otros compuestos de corales blandos sobre la contracción de los pólipos de *Xenia elongata*. El éster metílico de 15-epi-acetoxi PGA, y los diterpenos sarcofitóxido y tunbergol aislados a partir de huevos de corales blandos, estimulan las contracciones de los pólipos; mientras que la acetilcolina, metacolina,

histamina, dimetilsulfóxido y el diterpeno pukalida no tienen ningún efecto sobre los pólipos aislados (Pass et al. 1989). Varios de estos diterpenos se usan en la industria de cosméticos y farmacéutica para elaboración de medicamentos, además, los cultivos de xenidos para el comercio de corales de ornato ofrecen una mejor calidad que la colecta de organismos. Recientemente Jeng et al. (2011) estudiaron que los corales blandos también son formadores de roca arrecifal, estudiaron los arrecifes del Mar de China y encontraron roca formada por espículas y escleritas de corales blandos cementada por carbonato de calcio y conforme pasa el tiempo pueden formar estructuras más grandes que sirven de rompeolas. A su vez, los depósitos de escleritas pueden servir como refugio para algunos peces e invertebrados.

### **Planteamiento del problema**

La acuicultura de ornato está teniendo un importante avance en el cultivo de *Xenia spp.*, el estudio en condiciones controladas de *Xenia elongata* permite al biólogo la manipulación de diversos parámetros físicos y químicos que no son posibles de controlar en el medio como restauración de arrecifes, así como resolver la creciente demanda de organismos cultivados y libres de plagas potencialmente fatales en un acuario de arrecife. Se sabe que los pólipos de *Xenia elongata* pulsan rítmicamente, pero no se ha estudiado el ritmo de actividad pulsante de este octocoral y la variación del ritmo biológico a lo largo del día y en diferentes fotoperiodos, ya que el género tiene una amplia distribución biogeográfica que va desde los arrecifes del Mar Rojo y el Océano Índico hasta el noreste de Australia, zona donde varía anualmente el fotoperiodo.

### **Hipótesis**

*Xenia elongata* es un coral que presenta variaciones en su actividad pulsante a lo largo del día, si esta variación es endógena entonces podrá ser observada en condiciones de luz constante, y probablemente puede variar bajo diferentes condiciones de fotoperiodo.

### **Objetivo general**

Observar y registrar la actividad pulsante de *Xenia elongata* bajo diferentes condiciones de fotoperiodo.

## **Objetivos particulares**

- Determinar si existe un patrón rítmico en la actividad de pulsación.
- De existir el patrón rítmico observar si es de carácter endógeno o exógeno y a qué tipo de ritmo corresponde.
- Determinar si esta especie se puede propagar adecuadamente bajo luz constante.
- Determinar cuál es la condición de fotoperiodo que podría ser más favorable para el cultivo.
- Observar qué diferencias puede haber en cuanto al comportamiento del ritmo y sus parámetros en diferentes condiciones de fotoperiodo.

## **Material y Métodos**

### Cortes para propagación

Se obtuvieron colonias de *Xenia elongata* del acuario Concepto Marino en la Ciudad de México y se propagaron asexualmente durante tres años. Se realizaron cortes de varios pólipos y éstos se mantuvieron intactos durante una semana, una vez que cicatrizaron se colocaron en una cama de grava para que iniciaran su proceso de adhesión a la grava. Una vez que los pólipos se adhirieron a la grava entonces se adhirieron a la roca base (fig.8). Se mantuvieron otra semana intactos en el acuario para que los pólipos se recuperaran del estrés causado por el corte y el manejo. Posteriormente fueron trasladados al acuario experimental.

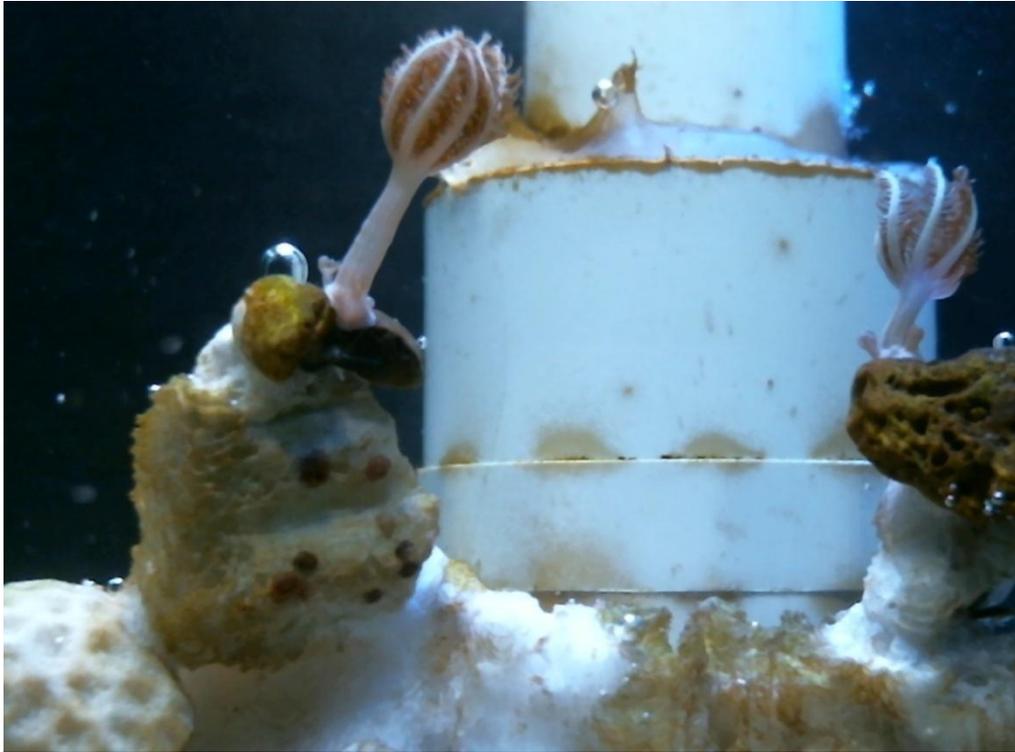


Fig. 8 Pólipos de dos semanas de edad adheridos previamente a la grava y posteriormente a la roca base.

#### Diseño experimental

Se utilizó un acuario experimental (fig. 11) que consta de un reservorio de 250 litros y cuatro acuarios de 4 litros (fig. 9) interconectados al reservorio. En estos pequeños acuarios se manipularon diferentes condiciones de fotoperiodo en las que se cultivó y registró a *Xenia elongata*, estas condiciones de fotoperiodo son las siguientes: A) 12:12 LO (control) B) 6:18 LO C) 16:8 LO y D) 24:0 LO.

En cada acuario de 4 litros, se colocó una pieza de roca base cortada, cada roca tuvo varios pólipos (de 3 a 9) de *Xenia elongata* adjuntos previamente fragmentados (fig.10), es decir, al menos tres individuos por cada tratamiento y cada acuario estuvo aislado de la luz externa mediante un gabinete de madera con un sistema híbrido de focos T5 fluorescentes (Lumiaction®) y focos de LEDs (LUMMI®) blancos y azules conectados a un temporizador (fig. 9). La intensidad de luz que reciben los organismos tanto de día como de noche se midió con un luxómetro, el valor diurno oscila entre 900 a 1000 lux, mientras que el valor nocturno es de 4 lux.

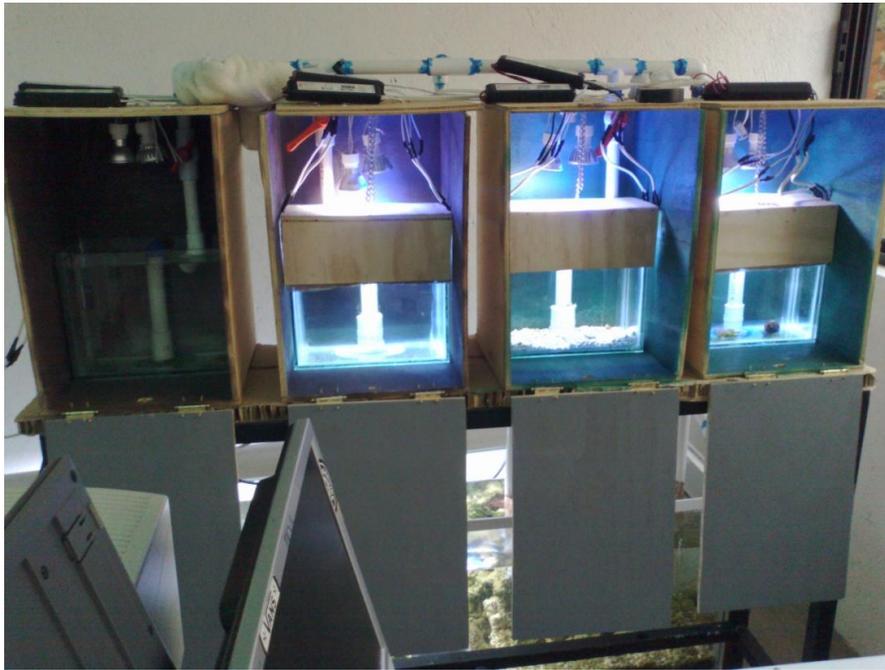


Fig. 9 Acuario experimental con sistema de focos LED y focos fluorescentes T5 con reflectores, suficiente calidad espectral e intensidad.



Fig.10 Roca base con varios pólipos de *Xenia elongata*.

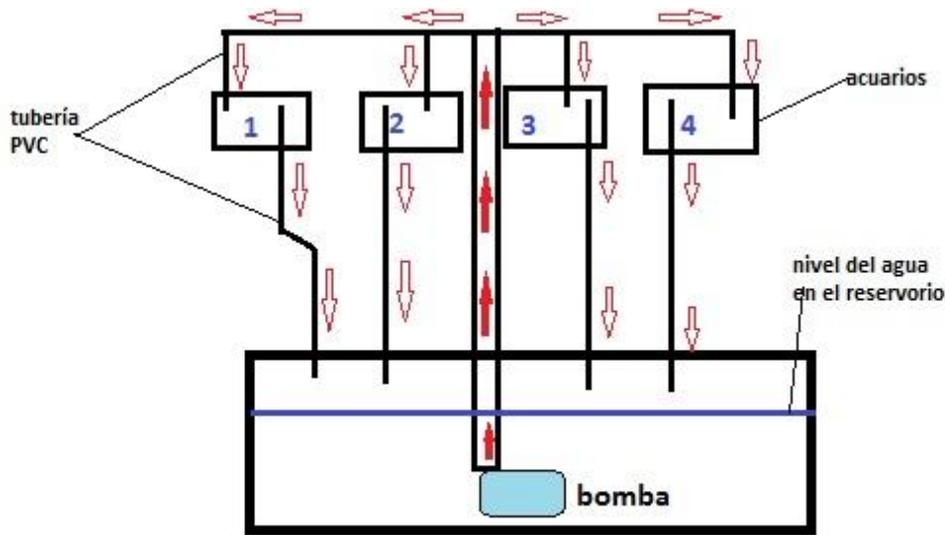


Fig.11 Cinética del agua en el acuario experimental.

Línea de tiempo

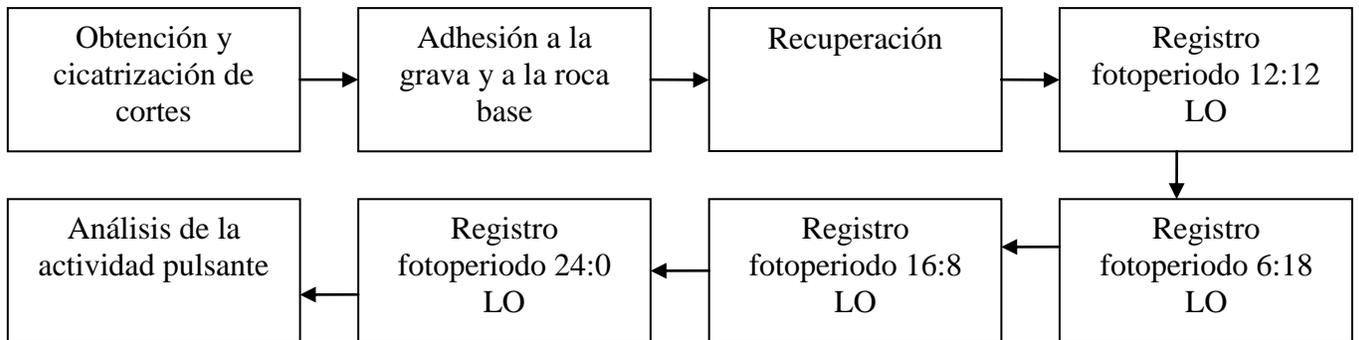


Fig. 12 Diagrama del método, cada evento duró aproximadamente una semana.

Registro de la actividad pulsante

Los organismos fueron registrados durante una semana empezando por las condiciones de fotoperiodo A (12:12 LO). Se mantuvieron los organismos 5 días en estas condiciones fotoperiodo y después comenzó el registro por 6 días, mediante grabaciones de 3 minutos cada 2 horas (con cámaras web (C615 Logitech®)). Una vez terminado el registro se cambiaron los animales a las condiciones del fotoperiodo B (6:18 LO). Se mantuvieron los

organismos 5 días en estas condiciones de fotoperiodo y después comenzó el registro por 6 días. Una vez terminado el registro se cambiaron los animales a las condiciones del fotoperiodo C (16:8 LO). Se mantuvieron los organismos 5 días en estas condiciones de fotoperiodo y después comenzó el registro por 6 días. Finalmente se cambiaron a las últimas y más importantes condiciones de fotoperiodo D (24:0 LO). Se mantuvieron los organismos 5 días en estas condiciones de fotoperiodo y después comenzó el registro por 6 días. Cada dos horas se desconectó el flujo del agua para que durante tres minutos se grabaran y contaran visualmente las frecuencias de pulsación de los pólipos en el programa *Logitech® WebCam Software* ver. 1.09, empezando a las 10:00 am, hora a la cual se encendieron las luces. Las grabaciones se guardaron en un disco duro para almacenar el registro.

#### Análisis de la actividad pulsante

Para el análisis de ritmos, cálculo del periodo y estadística se utilizó el programa *Chronos-Fit* ver.1.06. Los datos de las frecuencias de pulsación fueron convertidos a logaritmo base 10 para normalizarlos a una escala logarítmica y su posterior análisis estadístico. El programa emplea un análisis de cosinor que es una herramienta estadística que se puede utilizar para el análisis de los ritmos biológicos basado en el ajuste de una onda coseno de los datos crudos (P. Zuther et al. 2009 *Chronos-Fit* ver. 1.06). El procedimiento simple de cosinor se ajusta a una función coseno con un presunto periodo (esperado sobre la base de la experiencia previa) para la serie de tiempo y proporciona parámetros de mesor, amplitud y acrofase. Análisis más complejos utilizan una función fundamental y uno o más armónicos (Refinetti 2005).

### **Resultados**

A partir de la segunda semana los pólipos adheridos a la roca base retoman su ritmo pulsante ya que el estrés que se provoca durante todo el proceso de cicatrización y adhesión tiene un efecto de enmascaramiento, además los nuevos pólipos comienzan a crecer en la base del pólipo original.

### Fotoperiodo 12:12 LO

En la figura de la condición de fotoperiodo 12:12 LO (fig. 13 A) se puede apreciar una oscilación de 24 horas del ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata* a lo largo de 6 días de registro, con un porcentaje de ritmo de 47.56%, un mesor de 0.98, una acrofase a las 22.55 horas y una amplitud de 0.33 (fig. 13 C). A su vez se puede detectar un ritmo armónico de 12 horas con acrofase de 2.63 y amplitud de 0.19. Los picos de actividad pulsante se encuentran casi a la mitad de la escotofase, mientras que en la fotofase los animales disminuyen considerablemente su actividad. El análisis de periodograma (fig. 13 B) prueba estadísticamente que existe un ritmo de 24 horas, con un estadístico F de 19.48 y p (F) menor a 0.05 (fig. 13 C).

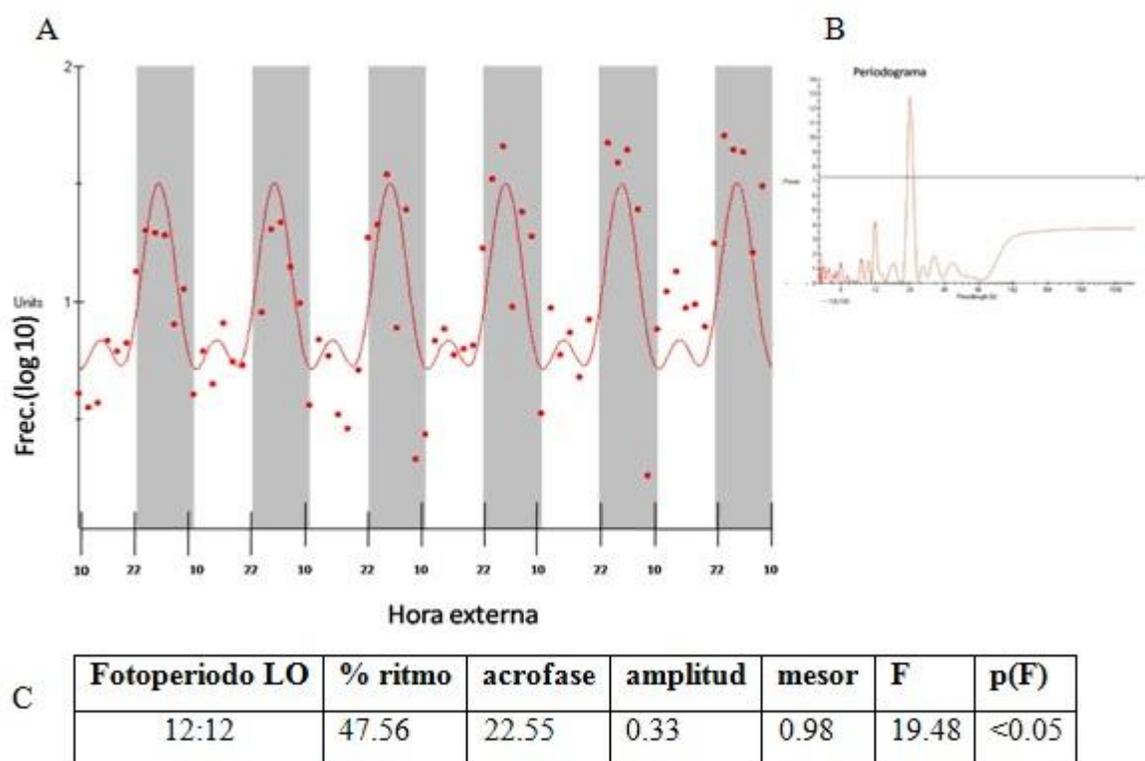


Fig.13 A) Distribución diaria de la actividad pulsante de *Xenia elongata* en los seis días de registro de la condición de fotoperiodo 12:12 LO analizado con el programa *Chronos-Fit* ver.1.06, las barras grises denotan la escotofase y las barras blancas la fotofase. B) Perfil del periodograma. Estadísticamente si hay un ritmo de 24 h con un armónico de 12 h. C) Análisis de cosinor y estadísticos de F.

### Fotoperiodo 6:18 LO

En la figura de la condición fotoperiodo 6:18 LO (fig. 14 A) se puede apreciar una oscilación de 24 horas del ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata* a lo largo de 6 días de registro, con un porcentaje de ritmo de 71.28%, mesor de 1.06, acrofase a las 23.01horas y una amplitud de 0.42 (fig. 14 C). A su vez se pueden detectar otros ritmos armónicos de 12, 8 y 4.8 horas con acrofases respectivamente a las 5.46, 6.78 y 2.56 horas y amplitudes de 0.16, 0.13 y 0.11 respectivamente. Los picos de actividad pulsante se observan en la escotofase y cuando se aproxima la fotofase tiende a disminuir drásticamente la actividad a una fase de reposo. El análisis de periodograma (fig. 14 B) prueba estadísticamente que existe un ritmo de 24 horas, con un estadístico F de 42.05 y p (F) menor a 0.05 (fig. 14 C).

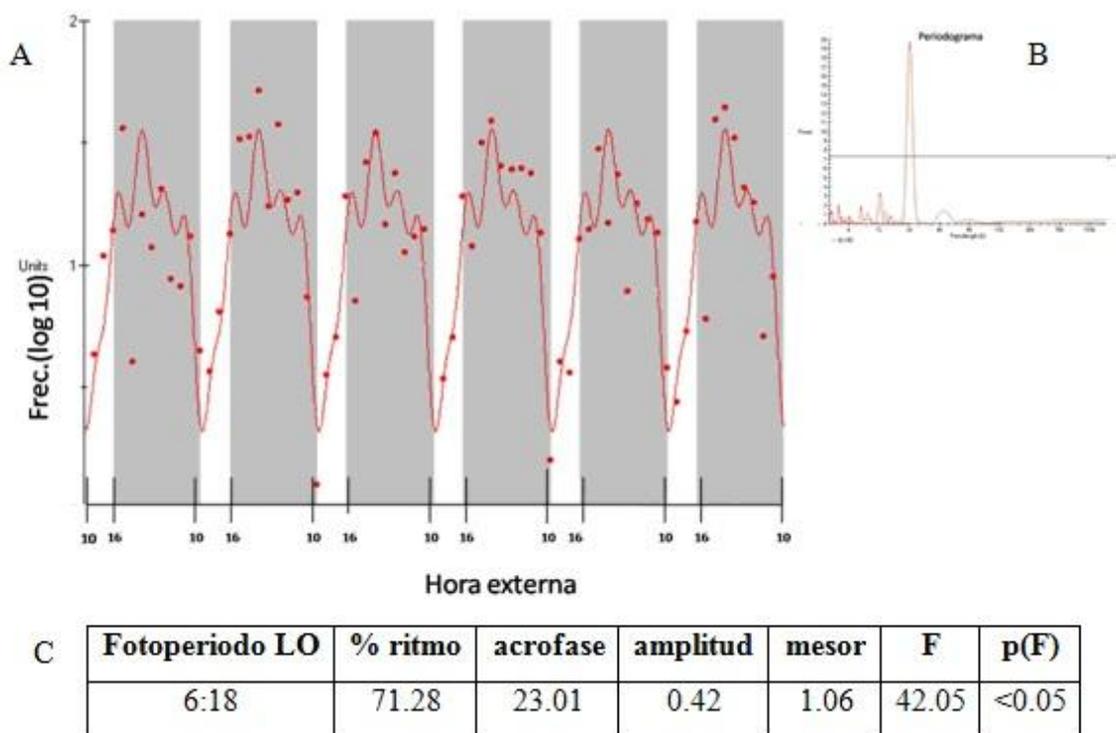


Fig.14 A) Distribución diaria de la actividad pulsante de *Xenia elongata* en los seis días de registro de la condición de fotoperiodo 6:18 LO analizado con el programa *Chronos-Fit* ver. 1.06, las barras grises denotan la escotofase y las barras blancas la fotofase. B) Perfil del periodograma. Estadísticamente si hay un ritmo de 24 h con un armónico de 12 h. C) Análisis de cosinor y estadísticos de F.

### Fotoperiodo 16:8 LO

En la figura de la condición de fotoperiodo 16:8 LO (fig. 15 A) se puede empezar a detectar una atenuación del ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata* a lo largo de los 6 días de registro, con un mesor de 1.45. Se observa claramente que un fotoperiodo más largo tiende a uniformar la actividad pulsante respecto a las condiciones de fotoperiodo anteriores, los picos de actividad se encuentran en la escotofase, sin embargo cuando se aproxima la escotofase los animales bajan su actividad al mínimo y cuando ya se han apagado las luces los animales van incrementando su actividad. El análisis de periodograma (fig. 15 B) prueba estadísticamente que no existe ritmicidad en la actividad pulsante en esta condición de fotoperiodo, F es menor a 3.23 y p (F) es mayor a 0.05 (fig. 15 C).

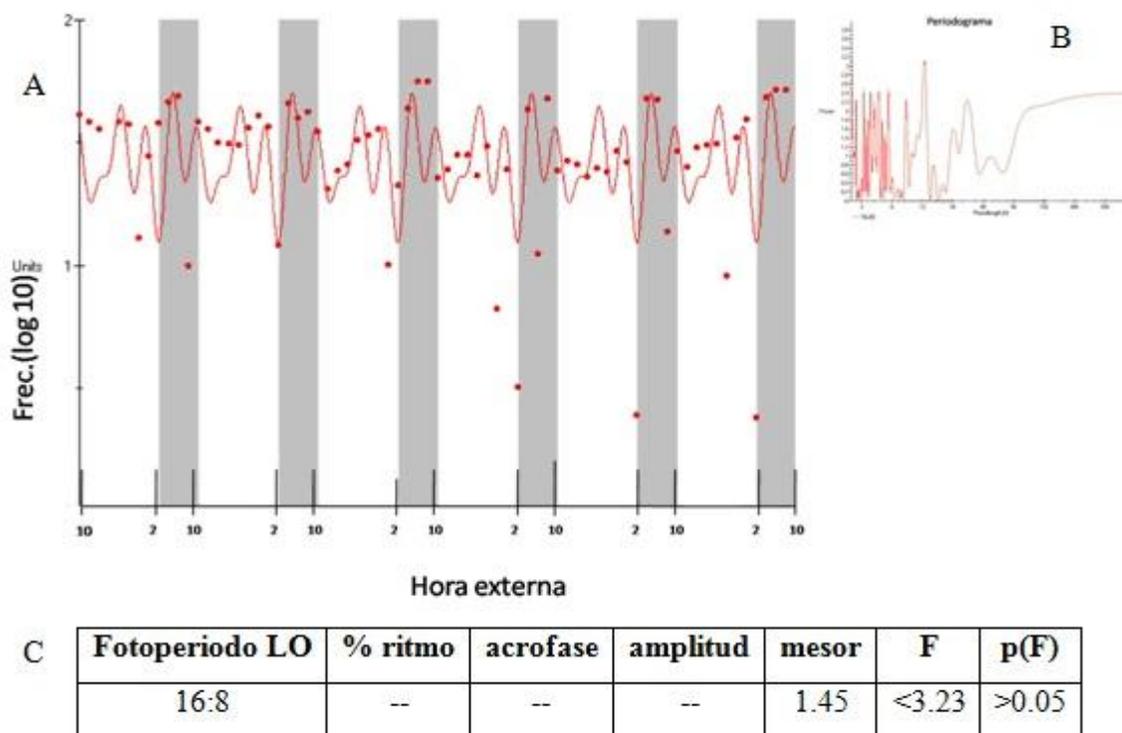


Fig.15 A) Distribución diaria de la actividad pulsante de *Xenia elongata* en los seis días de registro de la condición de fotoperiodo 16:8 LO analizado con el programa *Chronos-Fit* ver. 1.06, las barras grises denotan la escotofase y las barras blancas la fotofase. B) Perfil del periodograma. Estadísticamente no hay un ritmo en la actividad pulsante. C) Análisis de cosinor y estadísticos de F.

### Fotoperiodo 24:0 LO

En la figura de la condición de fotoperiodo 24:0 LO (fig. 16 A) se puede detectar una atenuación del ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata* a lo largo de 6 días de registro, con un mesor de 1.15. Esta actividad pulsante se vuelve mucho más uniforme bajo condiciones de iluminación constante. El análisis de periodograma (fig. 16 B) prueba estadísticamente que no existe ritmicidad de la actividad pulsante en esta condición de fotoperiodo, F es menor a 3.23 y p (F) es mayor a 0.05 (fig. 16 C).

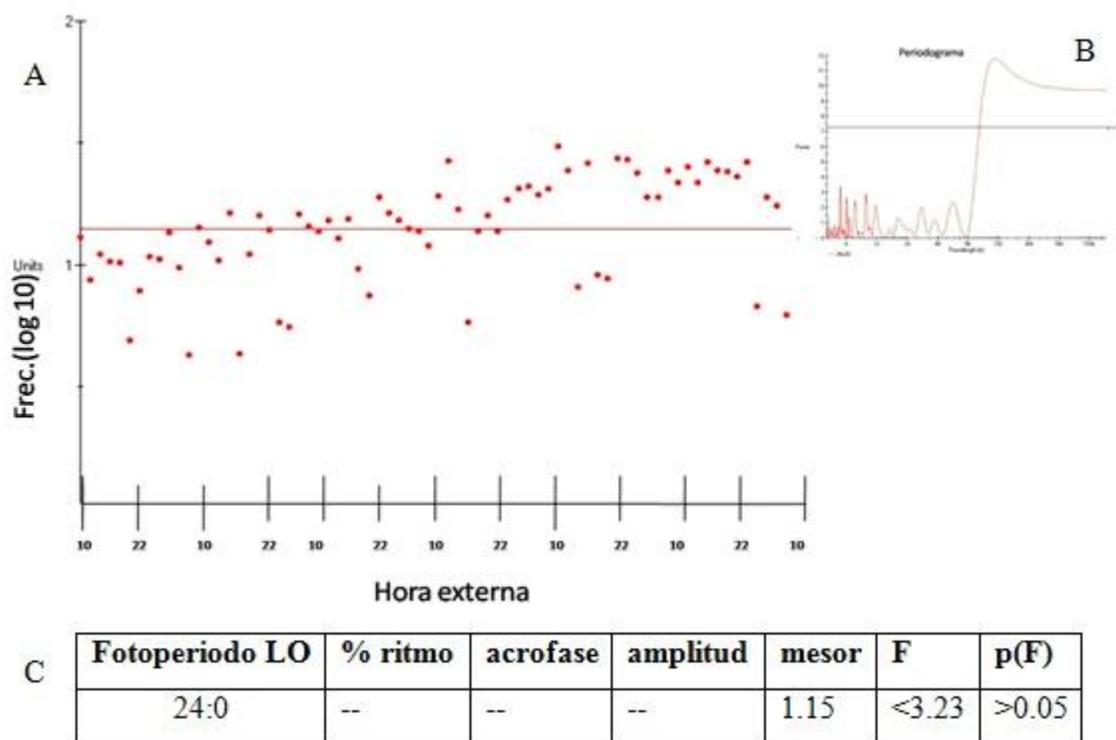


Fig.16 A) Distribución diaria de la actividad pulsante de *Xenia elongata* en los seis días de registro de la condición de fotoperiodo 24:0 LO analizado con el programa *Chronos-Fit* ver. 1.06. B) Perfil del periodograma. Estadísticamente no hay un ritmo en la actividad pulsante. C) Análisis de cosinor y estadísticos de F.

### **Análisis de cosinor de las diferentes condiciones de fotoperiodo.**

En este análisis se tomaron en cuenta los valores de porcentaje de ritmo, los parámetros de acrofase, amplitud y mesor; así como los estadísticos de F y p (F) (tabla 5) usando el programa *Chronos-Fit* ver.1.06. Los datos corroboran que para las dos primeras condiciones de fotoperiodo existe un ritmo de 24 h, y que no hay ritmicidad en las dos últimas condiciones.

<b>Fotoperiodo LO</b>	<b>% ritmo</b>	<b>acrofase</b>	<b>amplitud</b>	<b>mesor</b>	<b>F</b>	<b>p(F)</b>
12:12	47.56	22.55	0.33	0.98	19.48	<0.05
6:18	71.28	23.01	0.42	1.06	42.05	<0.05
16:8	--	--	--	1.45	<3.23	>0.05
24:0	--	--	--	1.15	<3.23	>0.05

Tabla 1. Análisis de cosinor de cada condición de fotoperiodo.

### **Discusión**

Los resultados de este estudio demuestran evidencia de que las variaciones en el fotoperiodo influyen directamente sobre el ritmo de la actividad pulsante de *Xenia elongata* y que la escotofase es de suma importancia para que exista una oscilación en este ritmo ya que bajo condiciones constantes de iluminación se pierde esta oscilación y los pólipos del coral tienden a uniformar sus frecuencias de pulsación. Entonces las bajas intensidades lumínicas que se generan en la escotofase funcionan como *zeitgebers* para que oscile este ritmo de actividad pulsante. Este género de corales al ser primariamente fotosintéticos tienen la capacidad de sincronizarse a los cambios de intensidades lumínicas que varían a lo largo del día, pudiendo así prepararse para su fase de reposo o de actividad una vez que se han sincronizado a una nueva condición de fotoperiodo. Esto sugiere que existe una memoria dentro del animal que le permite saber cuándo se aproxima la escotofase o la fotofase, y que es regulada por estímulos externos que en este caso son la luz y la oscuridad (Dunlap et al. 2004). Las variaciones en la intensidad lumínica en los océanos generan cambios conductuales en invertebrados y peces arrecifales. En el ocaso, ciertos organismos marinos como peces, e invertebrados como erizos y corales, muestran transiciones muy

precisas de poca actividad durante el día a una mayor actividad durante la noche, y en el amanecer ocurre al revés (McFarland, 1986).

El modelo del oscilador en *Xenia elongata* probablemente se parezca al modelo de *Acropora digitifera* propuesto por Shoguchi et al. (2013) (fig.17) y también es probable que intervengan los genes *criptocromo* y *opsina*, genes fotorreceptores en este coral y la anémona *Nematostella vectensis*.

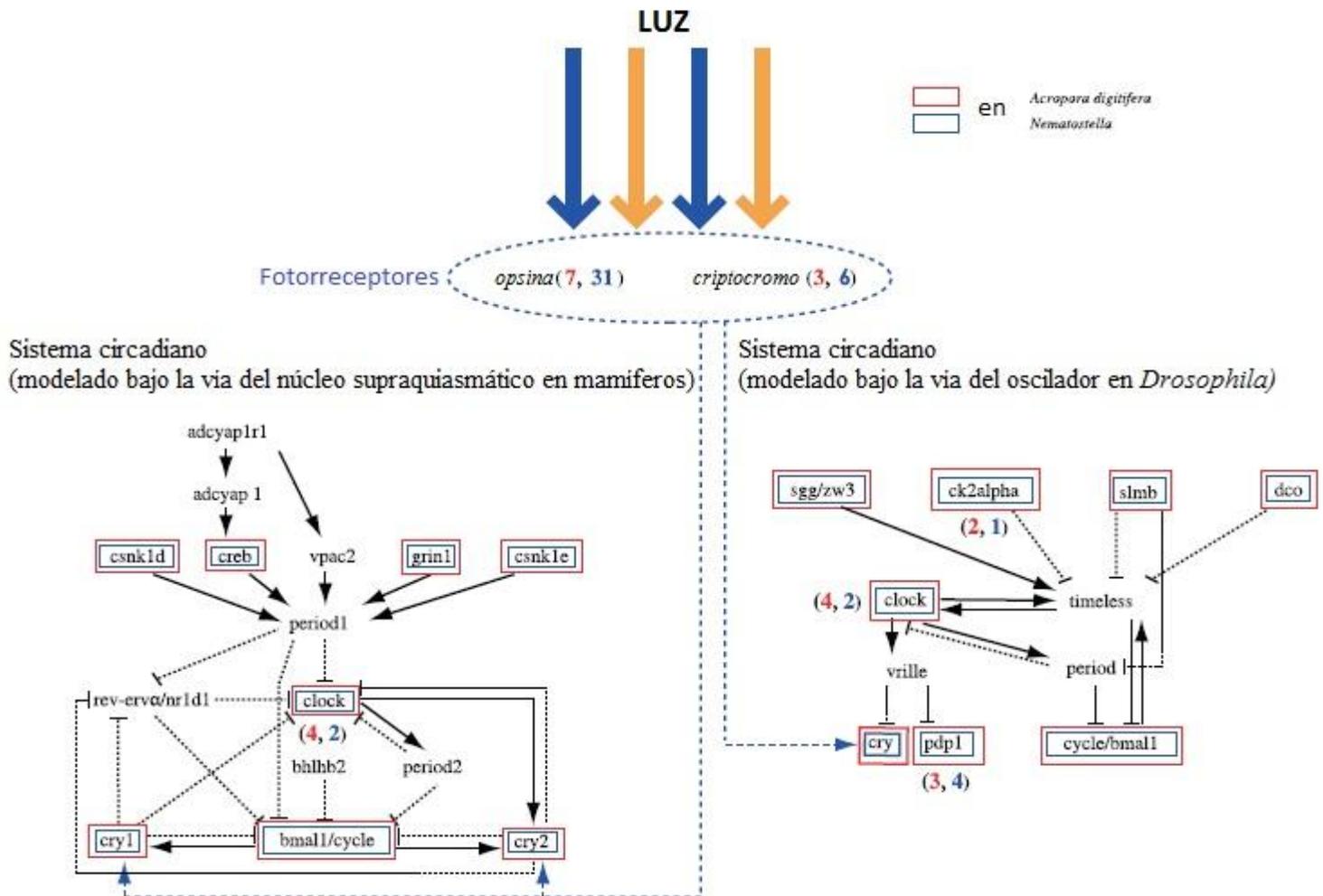


Fig.17 Sistema circadiano de *Acropora digitifera* y *Nematostella vectensis*, modelados bajo la vía del NSQ en mamíferos y la vía del oscilador en *Drosophila*. Varios genes *criptocromo* detectan la luz azul y funcionan aproximadamente 24 horas en el sistema. El genoma de *Acropora digitifera* contiene siete genes *opsina* y tres genes *criptocromo* y probablemente carezca de los genes *period*, *bhlhb2*, *vrille*, *timeless*, *rev-erva/nr1d1*, *adcyap1r1*, *adcyap1*, y *vpac2*. Modificada de Shoguchi et al. (2013)

### **Fotoperiodo 12:12 LO**

En esta condición de fotoperiodo se observa una clara oscilación rítmica de la actividad pulsante de *Xenia elongata* respecto a las demás condiciones de fotoperiodo, con una fase de reposo durante la fotofase y una fase de actividad intensa durante la escotofase. El porcentaje de ritmo es de 47.56%, es decir que este porcentaje de los datos se ajusta a una oscilación rítmica. En el perfil del periodograma el valor de F es 19.48 por lo que si F es mayor a 3.13 corresponde a una p mayor a 0.05, que indica estadísticamente que existe un ritmo de 24 horas. Otros indicadores de ritmicidad son los parámetros del análisis de cosinor, la acrofase se encuentra a las 22.55 horas, es decir, a esta hora se encontró el pico de máxima frecuencia de pulsación de los pólipos; la amplitud de 0.33, y mesor de 0.98 que indica la tendencia central de los datos (Durán et al. 2013). Existe un armónico de 12 horas cuya acrofase se observa poco antes de la mitad de la fotofase y con una menor amplitud. Probablemente el mecanismo de regulación es que a medida que varía la intensidad lumínica a lo largo del día se producen mayores niveles de ARNm de *cry* en el citoplasma de las células que desencadena un asa de retroalimentación negativa.

### **Fotoperiodo 6:18 LO**

En esta condición de fotoperiodo se tiene una fotofase que dura solo 6 horas mientras que la escotofase dura 18 horas, es decir, la fase luminosa dura poco tiempo y la fase oscura es más prolongada, lo cual tiene un claro efecto sobre la amplitud del ritmo, esta amplitud para el ritmo de 24 horas es de 0.42 considerablemente mucho mayor que la del fotoperiodo 12:12 LO que es de 0.33, entonces se puede afirmar que pocas horas de luz y más horas de oscuridad aumentan la amplitud del ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata*. El porcentaje de ritmo es de 71.28%, mayor que en la condición anterior, queriendo decir que los datos se ajustan a un patrón rítmico todavía mejor que en la condición anterior, la oscilación también es bastante clara bajo esta condición de fotoperiodo. La acrofase se encuentra a las 23.01 horas, casi igual que en la condición anterior de fotoperiodo cuya acrofase se encuentra a las 22.55 horas. Se encuentran armónicos únicamente en la escotofase que son de 12, 8 y 4.8 horas, la razón de estos armónicos se desconoce aún. En el perfil del periodograma el valor de F es 42.05 por lo que si F es mayor a 3.13

corresponde a una  $p$  mayor a 0.05, que indica estadísticamente que hay un ritmo de 24 horas.

### **Fotoperiodo 16:8 LO**

En esta condición de fotoperiodo donde la fotofase es más larga que la escotofase se observa claramente que se reduce por mucho la amplitud y hay una tendencia a que se provoque una atenuación del ritmo por una mayor exposición a la luz (Koukkari y Sothorn 2006). El perfil del periodograma se demuestra estadísticamente que no hay ritmo, ya que si el valor de  $F$  fuese mayor a 3.23 correspondería a una  $p$  mayor a 0.05 para ser significativo, pero en este caso no lo es. El programa utilizado para el análisis de cosinor no arroja datos debido a que estadísticamente no detecta ritmicidad, aunque si existen oscilaciones de varios armónicos. Debido a que los datos son más uniformes se aumenta el mesor respecto a las condiciones anteriores, es decir que la tendencia central de los datos es más marcada que en las condiciones anteriores. Los resultados sugieren que debe existir un rango de sincronización para el ritmo de actividad pulsante.

### **Fotoperiodo 24:0 LO**

Las condiciones constantes de iluminación u oscuridad son las más estresantes y por ello fueron las últimas en registrarse. Cuando los animales están sincronizados a ciertas condiciones de fotoperiodo y luego se introducen a condiciones constantes (ya sea luz u oscuridad y dependiendo del organismo con que se trabaje) la amplitud del ritmo disminuye considerablemente y el ritmo puede perderse (Koukkari y Sothorn 2006). Este es el caso para esta condición de iluminación constante, donde se observa que no hay ritmo y se demuestra estadísticamente en el perfil del periodograma, el estadístico de  $F$  es menor a 3.23 por lo que no corresponde a una  $p$  mayor a 0.05 para ser significativo y el análisis de cosinor no arroja datos de los parámetros del ritmo como otra evidencia de que no hay ritmicidad, a pesar de que los pólipos siguen pulsando pero de manera estable en los días de registro. La luz constante atenúa el ritmo de actividad pulsante de *Xenia elongata*, sin embargo la luz constante no causó alteraciones físicas, por lo que es probable que este coral pueda propagarse bajo luz constante confirmando que el cultivo de *Xenia* bajo luz artificial le permite a uno extender el fotoperiodo (Sprung y Delbeek 1997). Para demostrar que se

puede incrementar el rendimiento del cultivo de *Xenia elongata* bajo luz constante se requieren estudios más a fondo, sin embargo, en un estudio en larvas y juveniles del pez *Amphiprion melanopus* manipularon el fotoperiodo y encontraron que bajo condiciones de fotoperiodo 16:8 LO se tienen mejores tasas de crecimiento dado que más horas de luz afectan positivamente el sistema endócrino del animal (Arvedlund et al. 2000), de igual manera en *Pagrus major* se encontraron mejores tasas de crecimiento y eficiencia energética bajo luz constante y bajo un fotoperiodo 16:8 LO (Biswas et al. 2005). Ambas especies están sometidas a las mismas variaciones anuales de fotoperiodo ya que pertenecen al Mar Rojo. Cabe mencionar que se realizaron biometrías en los pólipos de *Xenia elongata* para estudiar la tasa de crecimiento en las diferentes condiciones de fotoperiodo pero no se muestran los datos ya que sólo se realizaron las biometrías durante dos meses, se observa una tendencia a que las condiciones de fotoperiodo más favorables sean 24:0 LO y 16:8 LO pero no se tienen datos suficientes para demostrar si hay una mejor tasa de crecimiento en alguna condición de fotoperiodo, por lo tanto se requiere hacer un estudio a largo plazo para observar como varía la tasa de crecimiento y observar si son congruentes con estudios hechos en otros organismos marinos.

### **Estableciendo posibles límites de horas luz para el ritmo de actividad pulsante y el tipo de ritmo**

En condiciones naturales *Xenia elongata* está expuesta de 12 a 14 horas luz durante primavera a verano y de 9 a 11 horas luz durante otoño e invierno. Las evidencias de este estudio sugieren que 12 horas de luz son suficientes para mantener el ritmo de actividad pulsante y que bajo 16 horas de luz este ritmo empieza a perderse, por lo que un posible límite de horas luz para mantener el ritmo de actividad pulsante en *Xenia elongata* puede oscilar entre 12 a 15 horas de iluminación. Como se mencionó anteriormente, para determinar cuál es la condición de fotoperiodo más favorable para el cultivo se deben hacer más estudios sobre la tasa de crecimiento.

Dados los resultados de este estudio se establece que el ritmo de actividad pulsante es un ritmo diario que oscila en condiciones de fotoperiodo 12: 12 LO y 6:18 LO, que es de naturaleza exógena al ser regulado por estímulos externos, ya que si fuera de carácter endógeno se podría observar en condiciones de iluminación constante. Sería arriesgado

decir que fuera un ritmo circadiano, ya que falta hacer experimentos de compensación a la temperatura, y observar cuanto tiempo persiste en condiciones constantes de oscuridad a pesar de que en luz constante se pierde y que ha quedado demostrado que este ritmo es sincronizable por la luz y que tiene un periodo cercano a 24 horas, dos de las cuatro propiedades de los ritmos circadianos (Dunlap et al. 2004; Sehgal, 2004).

### **Relación entre la fase de reposo y la fase de actividad**

Probablemente la relación que exista entre la fase de reposo en la fotofase y la fase de actividad en la escotofase sea que los niveles de oxígeno disuelto disminuyen durante la escotofase y el coral necesita pulsar más para balancear su intercambio gaseoso y no entrar en un estado de estrés. Además los desoves masivos de corales ocurren a diferentes escalas durante la noche (Jokiel et al. 1985), por lo que la alta frecuencia de pulsaciones durante la fase de actividad en la noche podría estar correlacionada con la liberación de plánulas en los xenidos. Se sabe que algunos xenidos del Mar Rojo presentan evidencia de planulación, tal es el caso del género *Xenia*, evidencia descubierta por Gohar (1940), por ejemplo, la expulsión larvaria de *X. macrospiculata* dura varios meses al año en ciclos quincenales durante las fases interlunares (Benayahu y Loya 1984a, 1984b), la embriogénesis de *X. umbellata* se produce en sacos criadores (Benayahu et al. 1988) y la planulación es mayor en verano (Benayahu 1991), además los pólipos de esta especie pulsan más rápido, por lo que es probable que en *Xenia elongata* ocurra de manera similar. En el estudio de Ben-David-Zaslow et al. (1999) se demuestra que *Heteroxenia fuscescens* se reproduce a lo largo de todo el año y se sugiere que ciertas características reproductivas como cantidad y calidad de las plánulas son afectadas debido a cambios estacionales de fotoperiodo y disponibilidad de alimento entre otros factores y encuentran que durante el verano y otoño (en el Mar Rojo) hay mayor fecundidad y frecuencia de planulación que en invierno y primavera. De manera similar ocurre con *Xenia umbellata*, la planulación es mayor y el desarrollo gonadal es mejor en su hábitat en verano (junio a julio) (Benayahu 1991).

La importancia de este trabajo radica en que se amplía el conocimiento y se mejora el mantenimiento y cultivo de *Xenia elongata* en sistemas cerrados, trabajo que antes era imposible de realizar porque los ejemplares silvestres no sobrevivían en sistemas cerrados. Ahora los cultivos tienen el potencial de restaurar arrecifes, cubrir la demanda creciente de

organismos cultivados y libres de plagas para acuarios de ornato, fungir como alimento para peces coralívoros y además se emplean muchas especies de *Xenia* como filtros desnitrificantes.

## **Conclusiones**

Este estudio demuestra la primera evidencia de que efectivamente existe un patrón rítmico en la actividad pulsante de *Xenia elongata* bajo las condiciones de fotoperiodo 12:12 LO y 6:18 LO, confirmando que la hipótesis es correcta. Este ritmo de actividad pulsante es dependiente de señales lumínicas y es un ritmo diario que oscila en dichas condiciones de fotoperiodo. Mientras más expuesta esté *Xenia elongata* a una escotofase más larga respecto a la fotofase, se incrementa la amplitud del ritmo de actividad pulsante. A partir de una condición de fotoperiodo 16:8 LO se comienza a atenuar el ritmo de actividad pulsante y comienza a disminuir su amplitud; y bajo condiciones de luz constante se pierde la ritmicidad. La luz constante no causa alteraciones físicas en colonias pequeñas, por lo que es probable que este coral pueda propagarse para lograr tallas grandes bajo condiciones de iluminación constante.

Debido a que este coral es conocido mundialmente por su belleza y actividad pulsante, cada vez más acuarios y personas adquieren este coral como animal de ornato, y debido a que este coral es importante para la industria química y farmacéutica es importante generar colonias de mayor rendimiento saludables y sanas, por lo que las condiciones de fotoperiodo estudiadas en este experimento muestran evidencia que las mejores condiciones de fotoperiodo son 6:18 LO y 12:12 LO para *Xenia elongata*. De esta manera se pueden programar acuarios y cultivos con estas condiciones de fotoperiodo para que se observe de mejor manera el ritmo de actividad pulsante en Xenidos con buenas tasas de crecimiento, y de esta manera propagar Xenidos libres de plagas y adaptados a los parámetros de agua y luz de un sistema cerrado.

## Bibliografía

Aceret TL, Sammarco PW y Coll JC, 1995a. Toxic effects of alcyonacean diterpenes on scleractinian corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 188 p.63-78.

Alevizon W, 2009-2012. Red Sea Coral Reefs. Revisado el 31/05/12 disponible en:  
<http://www.coral-reef-info.com/red-sea-coral-reefs.html>

Arvedlund M, McCormick MI y Ainsworth T, 2000. Effects of Photoperiod on Growth of Larvae and Juveniles of the Anemonefish Amphiprion melanopus. *Naga, The International Center for Living Aquatic Resources Management Quarterly* Vol. 23, No. 2 p. 18-23.

Babcock RC, Bull GD, Harrison PL, Heyward AJ, Oliver JK, Wallace CC, Willis BL, 1986. Synchronous spawnings of 105 scleractinian coral species on the Great Barrier Reef. *Marine Biology*. 90 p. 379-394.

Ben-David-Zaslow R., Henning G., Hofmann DK. y Benayahu Y. 1999. Reproduction in the Red Sea soft coral Heteroxenia fuscescens: seasonality and long-term record (1991 to 1997). *Marine Biology* 133 p. 553-559.

Benayahu Y, 1991. Reproduction and developmental pathways of Red Sea Xeniidae (Octocorallia, Alcyonacea). *Hydrobiología* 216/217 p. 125-130.

Benayahu Y, Achituv Y, y Berner T, 1988. Embryogenesis and acquisition of algal symbionts by planulae of Xenia umbellata (Octocorallia: Alcyonacea). *Marine Biology* 100 p. 93-101.

Benayahu Y, Loya Y, 1984a. Life history studies in the Red Sea soft coral Xenia macrospiculata (Gohar, 1940). I. Annual dynamics of gonadal development. *Biological Bulletin*. 166 p. 32-43.

- Benayahu Y, Loya Y, 1984b. Life history studies on the Red Sea soft coral Xenia macrospiculata (Gohar, 1940). II. Planulae shedding and post larval development. *Biological Bulletin*. 166 p. 44-53.
- Berner T, Achituv Y, Dubinsky Z, Benayahu Y, 1987. Pattern of distribution and adaptation to different irradiance levels of zooxanthellae in the soft coral Litophyton arboretum (Octocorallia, Alcyonacea). *Symbiosis* 3 p. 23-40.
- Bingman C. 1998. Calcification rates in several tropical coral reef aquaria. *Aquarium frontiers*, March issue.
- Biswas KA, Seoka M, Inoue Y, Takii K, Kumai H, 2005. Photoperiod influences the growth, food intake, feed efficiency and digestibility of red sea bream (Pagrus major). *Aquaculture* 250 p. 666 – 673.
- Brady AK, Hilton JD, Vize PD, 2009. Coral spawn timing is a direct response to solar light cycles and is not an entrained circadian response. *Coral Reefs* 28 p. 677–680.
- Bregazzi PK y Naylor E, 1972. The locomotor activity rhythm of *Talitrus saltator* (Montagu). *Journal of Experimental Biology*. 57 p. 375-391.
- Coral Identification Capacity Building Program. 2014. Coral Hub. Revisado en: 24/02/14. Disponible en: <http://www.coralhub.info/wp-content/gallery/termigator-the-polyp/zoox-in-tissue-kmwagner.jpg>
- Delbeek JC y Sprung J, 1994. *The Reef Aquarium volume one: A Comprehensive Guide to the Identification and Care of Tropical Marine Invertebrates*. Ricordea Publishing. Florida. p. 41-62.
- Delbeek JC y Sprung J, 2005. *The Reef Aquarium volume three: Science, art and technology*. Ricordea Publishing. Florida. p. 27, 404-407.

Durán-Hernández P, Miñana-Solís MC, Cano-Fuentes MA. Ritmos biológicos, cronobiología y corteza prefrontal. En: Chacón Gutiérrez L et al. (Eds.) 2013 *Corteza prefrontal: Cognición y conducta*. México. p. 217-243.

Falkowski PC, Wyman K, y Mauzerall D, 1984. Effects of continuous background irradiance on xenon-flash-induced fluorescence yields in marine phytoplankton, p. 163-166. *Advances in photosynthesis research*. Proceedings of the 6th International Photosynthesis Congress. Bruselas 1.2.

Gohar HAF, 1940. Studies on the Xeniidae of the Red Sea. *Marine Biology*. 2 p. 27-118.

Gorbunov MY y Falkowski PG. 2002. Photoreceptors in the Cnidarian Hosts Allow Symbiotic Corals to Sense Blue Moonlight. *Limnology and Oceanography*, Vol. 47, No. 1, p. 309-315.

Heslinga GA, 1995. Propagation of reef corals for the international aquarium trade, Phase I: Cnidaria, Alcyonacea. *U.S. National Marine Fisheries Service (NOAA/NMFS NA46DO45-01)* Southwest Regional Office, Honolulu, Hawaii, p 57.

Jeng MS, Huang HD, Dai CF, Hsiao YC y Benayahu Y., 2011. Sclerite calcification and reef-building in the fleshy octocoral genus *Sinularia* (Octocorallia: Alcyonacea). *Coral Reefs*. Vol. 30, Issue 4 p. 925-933. DOI: 10.1007/s00338-011-0765-z

Johnson CH, Elliot J, Foster R, Honma KI y Kronauer R. Fundamental Properties of Circadian Rhythms. En: Dunlap JC, Loros JJ, DeCoursey PJ (Eds.) 2004. *Chronobiology: biological timekeeping*. Sinauer Associates Inc. Sunderland, Massachusetts, p. 67.

Joint Genome Institute. The Regents of the University of California 1997-2013. [Nematostella vectensis](http://genome.jgi-psf.org/Nemve1/Nemve1.home.html) v1.0. Consultado el 2/11/13. Disponible en: <http://genome.jgi-psf.org/Nemve1/Nemve1.home.html>

Jokiel PL, Ito RY y Liu PM, 1985. Night irradiance and synchronization of lunar release of planula larvae in the reef coral Pocillopora damicornis. *Marine Biology* 88 p. 167-174.

Koukkari WL y Sothorn RB, 2006. *Introducing Biological Rhythms. A Primer on the Temporal Organization of Life, with Implications for Health, Society, Reproduction and the Natural Environment*. Springer Science. Minnesota. p. 1, 43.

Levitan DR, Fukami H, Jara J, Kline D, McGovern TM, McGhee KE, Swanson CA y Knowlton N, 2004. Mechanisms of reproductive isolation among sympatric broadcast spawning corals of the Montastraea annularis species complex. *Evolution* 58 p. 308-323.

Levy O, Appelbaum L, Leggat W, Gothlif Y, Hayward DC, Miller DJ y Hoegh-Guldberg O, 2007. Light-Responsive Cryptochromes from a Simple Multicellular Animal, the coral Acropora millepora. *Science* 318, p. 467-470.

McFarland WN. 1986. Light in the Sea—Correlations with Behaviors of Fishes and Invertebrates. *American Zoology* 26 p.389-401.

Naylor E, 2010. *Chronobiology of Marine Organisms*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 16-33, 203-210.

Naidoo N. Molecular control of circadian rhythms: from cyanobacteria to plants. En: Sehgal A (Ed.), 2004 *Molecular Biology of Circadian Rhythms*. John Wiley & Sons, Inc. p. 143 ISBN 0-471-41824-2.

Rayer B, Naynert M y Stieve H, 1990. Phototransduction: Different mechanisms in vertebrates and invertebrates. *Journal of Photochemical Photobiology B* 7 p. 107–148.

Reef Central, 2014. Amphipod invasion. Revisado el 14/02/14. Disponible en: <http://www.reefcentral.com/forums/showthread.php?t=2266925>

Pass AM, Capra FM, Carlisle H C, Lawn I, y Coll CJ, 1989. Stimulation of contractions in the polyps of the soft coral Xenia elongata by compounds extracted from other alcyonacean soft corals. *Comparative Biochemistry and Physiology* Vol. 94C, No. 2. p. 677-681.

Putnam NH, Srivastava M, Hellsten U, Dirks B, Chapman J, Salamov A, Terry A, Shapiro H, Lindquist E, Kapitonov VK, Jurka J, Genikhovich G, Grigoriev IV, Lucas SM, Steele RE, Finnerty JR, Technau U, Martindale MQ y Rokhsar DS, 2007. Sea Anemone Genome Reveals Ancestral Eumetazoan Gene Repertoire and Genomic Organization. *Science*. Vol. 317 no. 5834 p. 86-94.

Refinetti R, 2005. Dictionary of circadian physiology. Revisado el 2/10/13 disponible en: <http://www.circadian.org/dictionary.html>

Sammarco PW, 1983. Coral recruitment across the central Great Barrier Reef: a preliminary report. En: Baker JT, Carter R, Sammarco PW, Stark KP (eds.) Proceedings of the Great Barrier Reef Conference. James Cook University Press, Townsville, p 245-251.

Schlichter D, 1982a. Nutritional strategies of cnidarians: The absorption, translocation and utilization of dissolved organic nutrients by Heteroxenia fuscescens. *American Zoology*. 22 p. 659-669.

Schlichter D, 1982b. Epidermal nutrition of the alcyonarian Heteroxenia fuscescens (Ehrb.): Absorption of dissolved organic material and lost endogenous photosynthates. *Oecologia* 53 p. 40-49.

Schlichter D, Svoboda A y Kremer B P, 1983. Functional autotrophy of Heteroxenia fuscescens (Anthozoa : Alcyonaria): Carbon assimilation and translocation of photosynthesis from symbionts to host. *Marine Biology*. 78 p. 29-38.

Sehgal A, 2004. *Molecular Biology of Circadian Rhythms*. John Wiley & Sons, Inc.

Shinzato C, Shoguchi E, Kawashima T, Hamada M, Hisata K, Tanaka M, Fujie M, Fujiwara M, Koyanagi R, Ikuta T, Fujiyama A, Miller DJ y Satoh N, 2011. Using the Acropora digitifera genome to understand coral responses to environmental change. *Nature* 476 p. 320–323.

Shoguchi E, Tanaka M, Shinzato C, Kawashima T y Satoh N, 2012. A genome-wide survey of photoreceptor and circadian genes in the coral Acropora digitifera. *Gene* 515 p. 426–431.

Sorek M y Levy O, 2012. The effect of temperature compensation on the circadian rhythmicity of photosynthesis in Symbiodinium, coral-symbiotic alga. *Scientific Reports* 2 p. 536; DOI: 10.1038/srep00536.

Sorek M, Yacobi YZ, Roopin M, Berman-Frank I y Levy O, 2013. Photosynthetic circadian rhythmicity patterns of Symbiodinium, the coral endosymbiotic algae. *Proceedings of the Royal Society B*. 280: 20122942. <http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2012.2942>

Sprung J y Delbeek JC, 1997. *The Reef Aquarium volume two: A Comprehensive Guide to the Identification and Care of Tropical Marine Invertebrates*. Ricordea Publishing. Florida. p. 9, 152-155, 245-257.

Sweeney BM, 1976. Circadian rhythms in corals, particularly fungiidae. *Biological Bulletin*. 151 p. 236-246.

Tessmar-Raible K, Raible F y Arboleda E, 2011 Another place, another timer: Marine species and the rhythms of life. *Insights and Perspectives*. WILEY Periodicals, Inc. *Bioessays*. 33 p. 165–172.

Tomascik T y Sander F, 1985. Effects of eutrophication on reef-building corals. I. Growth rate of the reef-building coral Montastrea annularis. *Marine Biology*. 87 p. 143-155.

Tyree S, 1992. Tropical Coral Reef Environment Rhythmicity and Techniques for Inducing Captive Coral Spawning. Revisado el 31/05/12 disponible en:

<http://www.dynamicecomorphology.com/stevepaper01.htm>

Vize PD, 2009. Transcriptome Analysis of the Circadian Regulatory Network in the Coral *Acropora millepora*. *Biological Bulletin*. 216 p. 131–137.

Vize PD, Embesi JA, Nickell M, Brown DP y Hagman DK, 2005. Tight temporal consistency of coral mass spawning at the Flower Garden Banks, Gulf of Mexico, from 1997 - 2003. *Gulf of Mexico Science*. 23 p. 107-114.

Vize PD, Hilton JD, Brady AK y Davies SW, 2008. Light sensing and the coordination of coral broadcast spawning behavior. 11th International Coral Reef Symposium, Ft. Lauderdale, Florida, 7-11 July Session number 11.

Wet Web Media, 2014. FAQ's about tube snail identification. Revisado el 3/03/14

Disponible en:

<http://www.wetwebmedia.com/MolluscPIX/Gastropods/Prosobranch%20PIX/Vermetids/tubesnailidf.htm>

Zivkovic B. 2012. Daily Rhythms in Cnidaria. A Blog Around The Clock, Scientific American Blog Network. Scientific American TM. Consultado el 13/09/13 Disponible en: <http://blogs.scientificamerican.com/a-blog-around-the-clock/2012/03/15/daily-rhythms-in-cnidaria/>

Zuther P, Gorbey S. y Lemmer B., 2009. *Chronos-Fit* ver. 1.06, disponible en:

<http://www.ma.uniheidelberg.de/inst/phar/lehre/chrono.html>

## Anexo

### Fotografías del experimento en orden cronológico



Fig. 1A Sistema de focos LED blanco y azul, insuficientes en espectro e intensidad.



Fig. 2A Pólipos retraídos bajo iluminación LED azul y blanca, espectro e intensidad insuficientes para su correcta apertura, pulsación y desarrollo.

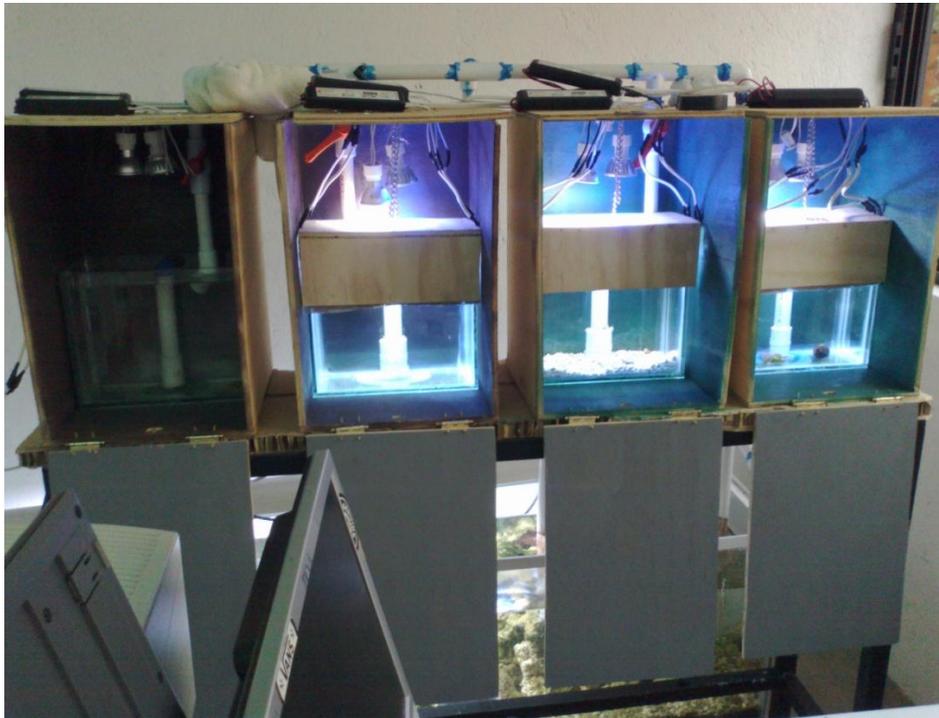


Fig. 3A Sistema de focos LED y focos fluorescentes T5 con reflectores, suficiente calidad espectral e intensidad.

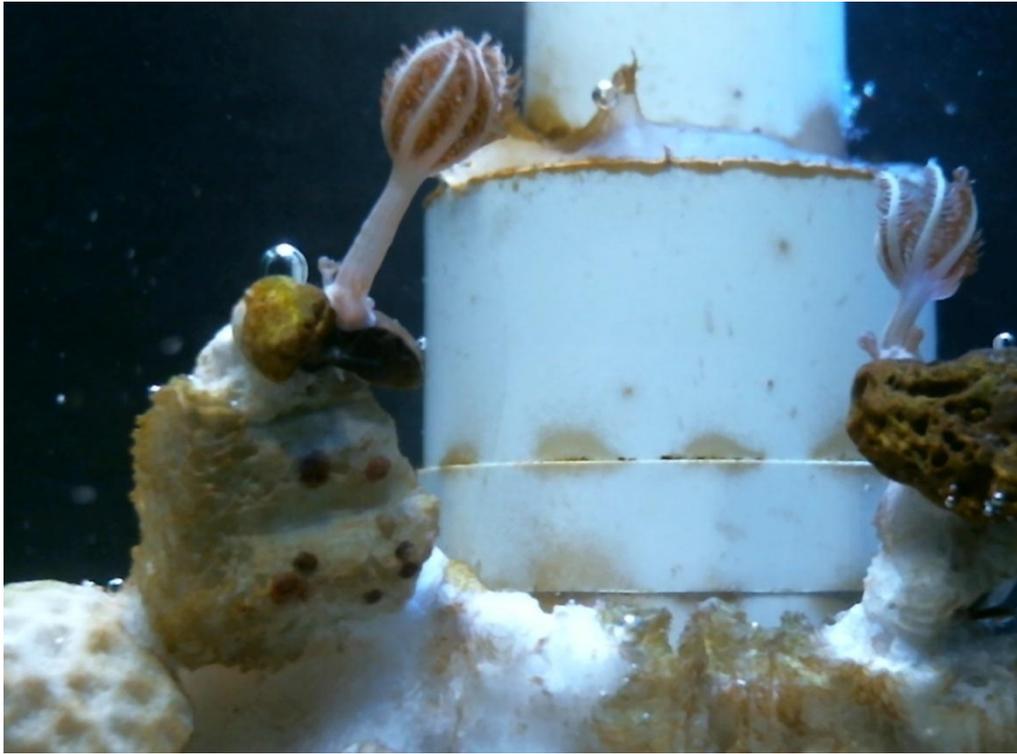


Fig. 4A Pólipos de dos semanas de edad.



Fig. 5A Pólipos de tres semanas de edad.



Fig. 6A 12:12 LO

Pólipos de cuatro semanas de edad. Se observa el crecimiento de los pólipos primarios en la base, el organismo y los pólipos primarios han crecido unos pocos milímetros en altura y grosor.

Junio 2013



Fig.7A 12:12 LO

Pólipos de dos meses de edad. Se observa un mayor crecimiento de los pólipos primarios en la base, y los organismos en altura y grosor.

**Fotoperiodo 12:12 LO**



Fig. 8A Pólipos pulsando y en su máxima elongación en la fase lumínica.



Fig. 9A Pólipos cerrados (22:00).

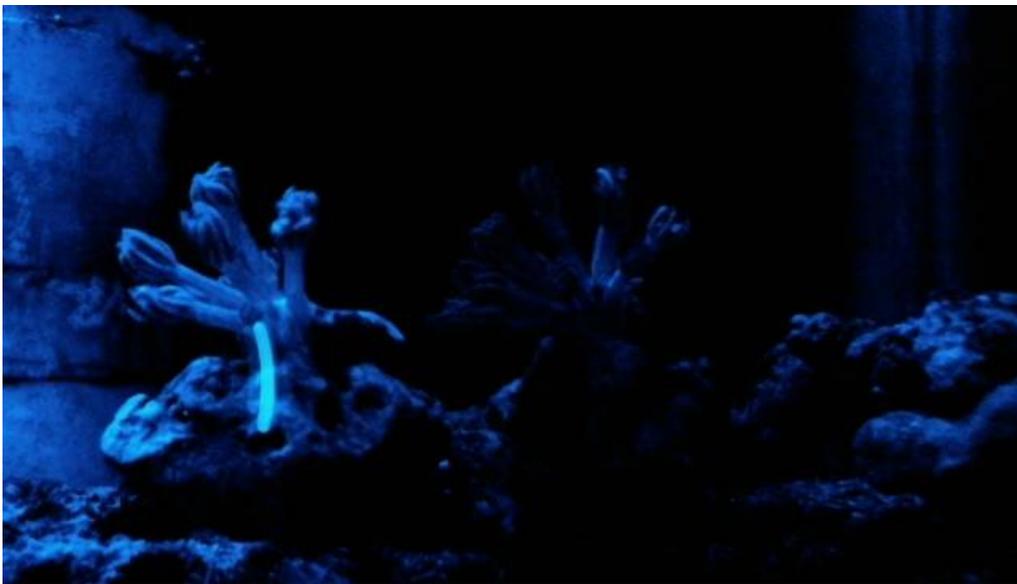


Fig. 10A Pólipos pulsando durante la fase de luz azul tenue.

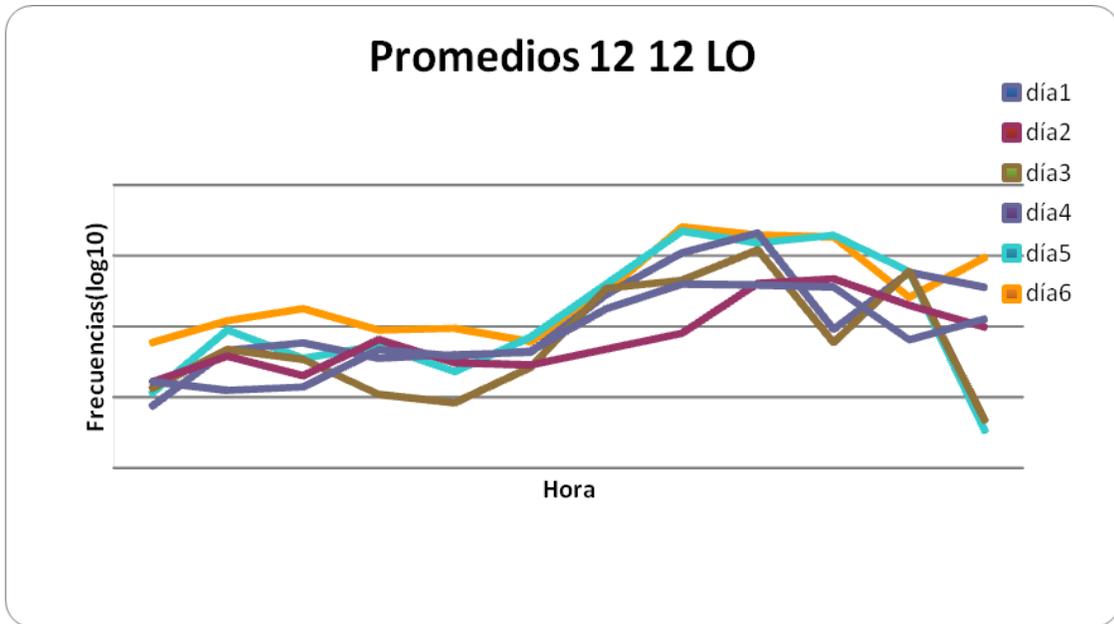


Fig. 11A Promedios de los seis días de registro del fotoperiodo 12:12 LO. Se observa una fase de reposo y una fase de actividad.

### Fotoperiodo 6:18 LO



Fig. 12A Pólipos pulsando y en su máxima elongación en la fase lumínica.

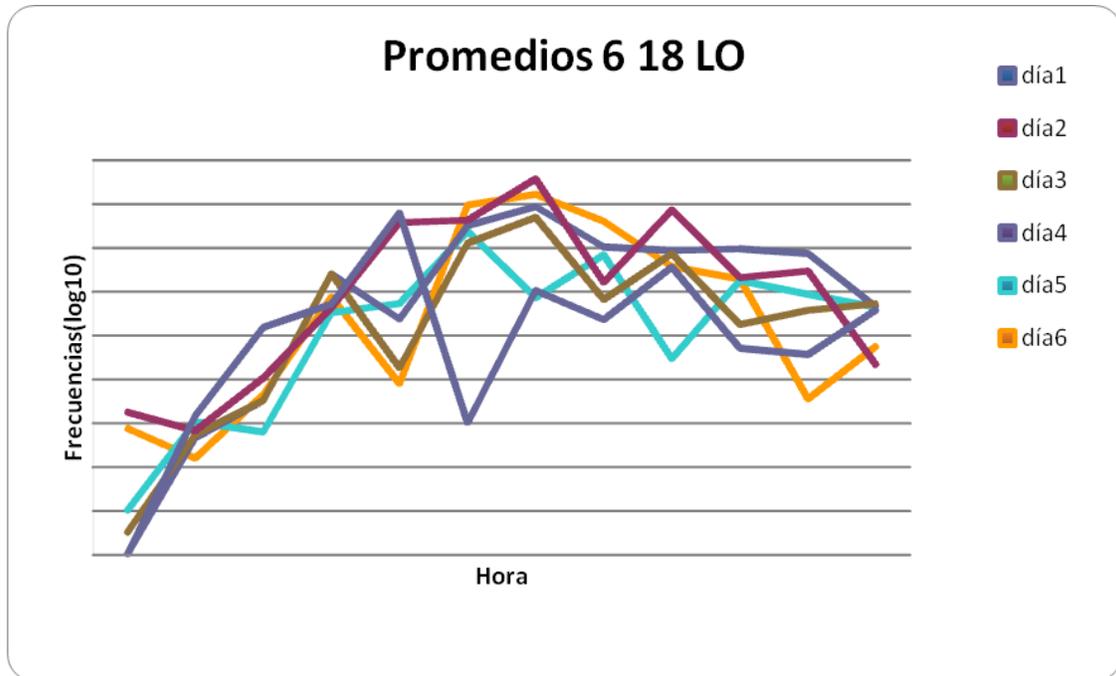


Fig.13A Promedios de los seis días de registro del fotoperiodo 6:18 LO. Se observa una fase de reposo y una fase de actividad más larga.

### Fotoperiodo 16:8 LO



Fig. 14A Pólipos pulsando y en su máxima elongación en la fase lumínica.



Fig. 15A Pólipos cerrados durante en la fase lumínica.

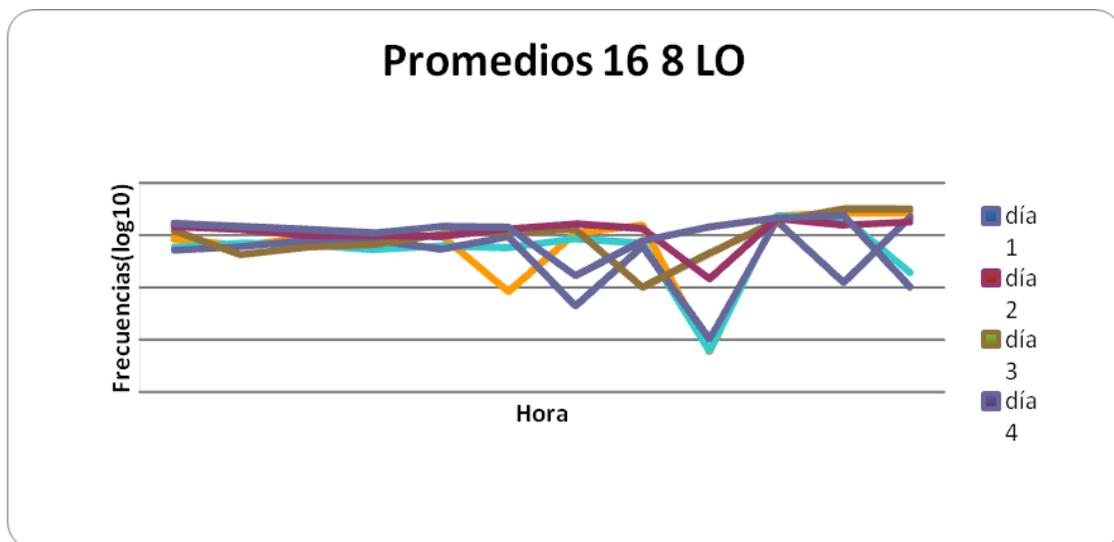


Fig. 16A Promedios de los seis días de registro del fotoperiodo 16:8 LO. Se observa una atenuación del ritmo de pulsación.

### Fotoperiodo 24:0 LO



Fig. 17A Pólipos pulsando en luz constante y en su máxima elongación en la fase lumínica, las puntas de los tentáculos están enrolladas hacia adentro.

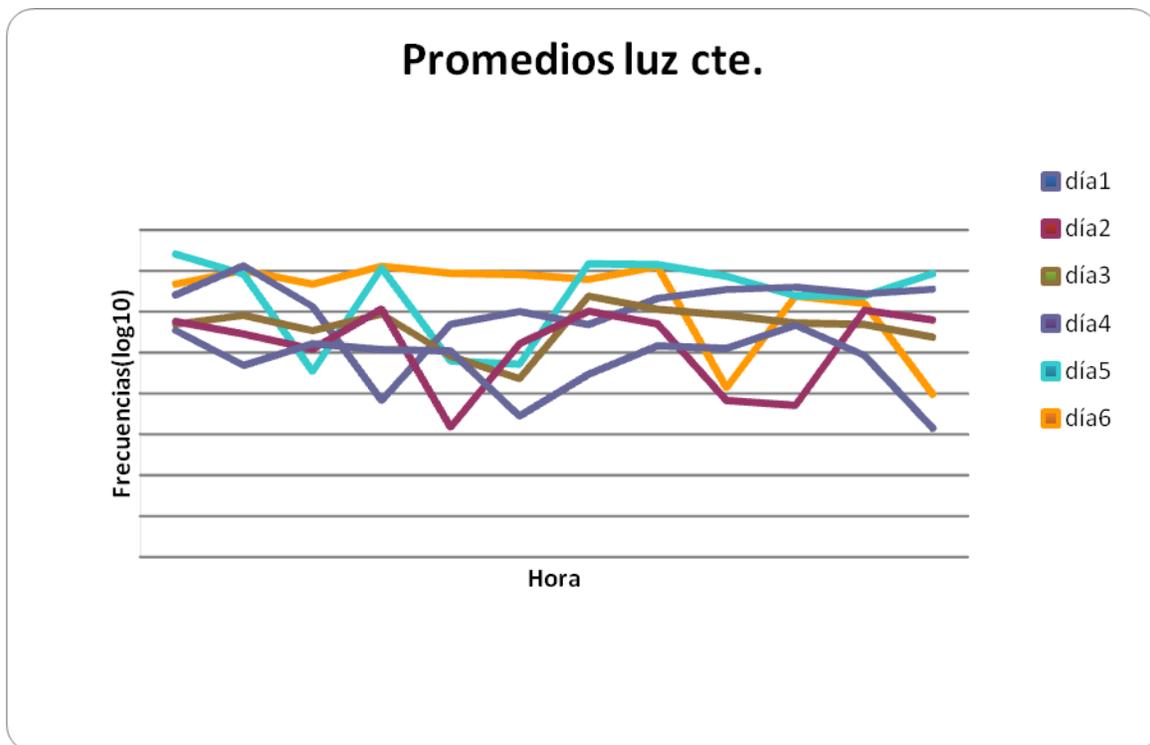


Fig. 18A Promedios de los seis días de registro del fotoperiodo 24:0 LO. No se observa un ritmo como tal.

### Manejo de los pólipos

El manejo de los pólipos requiere mucha práctica, destreza y observación, ya que se necesita experiencia en las técnicas para poder fijarlos correctamente y no estresarlos en exceso. Dado que existen poliquetos llamados comúnmente como gusanos de fuego (fig. 19 A) y anfípodos (fig. 20 A) de manera natural en cualquier acuario de arrecife y en los mismos arrecifes, se introducen al acuario en la roca viva, y en algunos casos, además de fungir como detritívoros, pueden llegar a irritar a los corales causando lesiones en el tejido donde se pueden alojar protozoarios oportunistas causando una infección que si no se detecta a tiempo el pólipo o la colonia completa puede llegar a morir en cuestión de pocas horas, pero si se detecta a tiempo se puede contrarrestar. De igual manera los caracoles verméticos (fig.21 A) que fueron creciendo en la roca base llegaron a causar lesiones en el tejido del coral. Es necesario que los cortes reciban un flujo mínimo necesario de corriente, ya que los xenidos y muchos otros corales segregan mucus que en corrientes lentas puede alojar microorganismos patógenos (fig.22 A) que los pueden lastimar e incluso matar (Sprung y Delbeek 1997).



Fig. 19 A Poliqueto “gusano de fuego” saliendo del orificio de la roca debajo del pólipo intermedio.



Fig. 20 A Los anfípodos pueden llegar a causar lesiones ([www.reefcentral.com](http://www.reefcentral.com)).



Fig.21 A Varios caracoles verméticos han crecido sobre una roca ([www.wetwebmedia.com](http://www.wetwebmedia.com)).

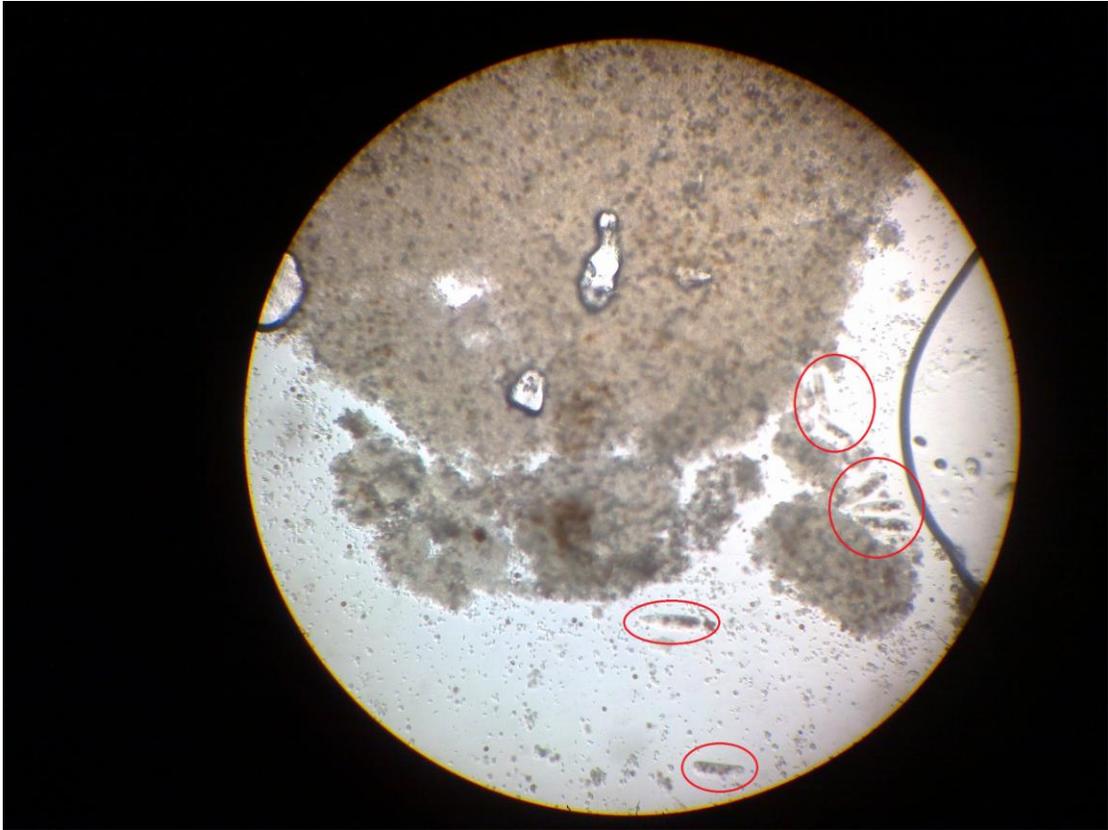


Fig.22 A *Paramecium sp.* ataca e infecta a *Xenia umbellata* causando necrosis, 10x.