



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL  
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS  
MARINAS



DEPARTAMENTO DE PESQUERÍAS Y BIOLOGÍA MARINA

Ciclo reproductivo de los corales *Pocillopora verrucosa* (Ellis y Solander, 1786) y *Pocillopora meandrina* (Dana, 1846) en Isla Gaviota, Bahía de La Paz, México.

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE**  
**MAESTRIA EN CIENCIAS**  
**EN**  
**MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

**PRESENTA**

Biol. Marina: Rosa Angélica Campos Vázquez

La Paz, B.C.S., México a 04 de Diciembre 2014



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 21 del mes de noviembre del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

“CICLO REPRODUCTIVO DE LOS CORALES *Pocillopora verrucosa* (Ellis y Solander, 1786)  
Y *Pocillopora meandrina* (Dana, 1846) EN ISLA GAVIOTA, BAHÍA DE LA PAZ, MÉXICO”

Presentada por el alumno:

CAMPOS

Apellido paterno

VÁZQUEZ

materno

ROSA ANGÉLICA

nombre(s)

Con registro:

A	1	3	0	3	4	7
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

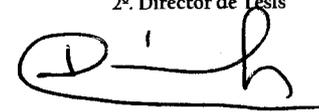
#### LA COMISION REVISORA

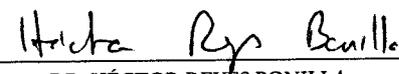
Directores de Tesis

  
M.C. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE  
Director de Tesis

  
DR. EDUARDO FRANCISCO BALART PÁEZ  
2º. Director de Tesis

  
DR. ERNESTO AARÓN CHÁVEZ ORTIZ

  
DRA. MARÍA DINORAH HERRERO PEREZRUL

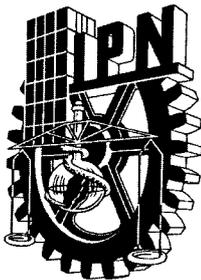
  
DR. HÉCTOR REYES BONILLA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN  
CICIMAR  
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL  
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 4 del mes diciembre del año 2014  
el (la) que suscribe BM. ROSA ANGÉLICA CAMPOS VÁZQUEZ alumno(a) del  
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS  
con número de registro A130347 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS  
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:  
MC. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE y DR. EDUARDO FRANCISCO BALART PÁEZ  
y cede los derechos del trabajo titulado:

"CICLO REPRODUCTIVO DE LOS CORALES *Pocillopora verrucosa* (Ellis y Solander, 1786)  
Y *Pocillopora meandrina* (Dana, 1846) EN ISLA GAVIOTA, BAHÍA DE LA PAZ, MÉXICO"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: angelicampos@live.com.mx - mvillale@ipn.mx - ebalart@cibnor.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.

BM. ROSA ANGÉLICA CAMPOS VÁZQUEZ

*nombre y firma*

# DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada a mi familia

En primera estancia a mis padres la Sra. Esthela Vazquez Álvarez y el señor Álvaro Alfonso Campos Langarica quienes me han animado y apoyado siempre para que continúe preparándome profesionalmente.

A mis hermanos que Blanca, Amira y Eduardo Vazquez quienes se han interesado en lo que realizo y me han motivado a seguir adelante.

A mis diez sobrinos (José Alfredo, Aylín, Perla, Maya, Gabriela, Alejandra, Martha, Valeria, Aarón, Dennis) los cuales deseo con todo el corazón que lleguen a redactar un documento como este y lleguen muchísimo más lejos que yo.

A mis suegros quienes también nos han animado a seguir adelante.

Y a mi pareja José Manuel Bustamante Alvarado, mi futuro esposo quien me ha dado apoyo incondicionalmente, me ha regañado, dado jalones de oreja, y aventones para seguir adelante en tiempos difíciles y ha estado a mi lado en todo momento. Gracias mi amor por todo ese amor que me tienes, gracias por ayudarme a cumplir una meta más en mi vida, la cual estuvo llena de grandes retos.

# AGRADECIMIENTOS

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por el apoyo brindado durante el desarrollo de este trabajo.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR), especialmente a los laboratorios de Ecología de Arrecifes y Histología e histoquímica.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento otorgado al proyecto y a la beca otorgada, lo cual permitió la elaboración de esta tesis.

Al Programa Institucional de Formación de Investigadores (PIFI) por el apoyo económico brindados durante la realización de los estudios de Maestría.

A mis directores el Dr. Eduardo Francisco Balart investigador del Centro de investigaciones Biológicas del Noroeste y al M. en C. Marcial Villalejo Fuerte del Centro interdisciplinario de Ciencias Marinas. Por ser mi guía durante este proceso académico y brindarme su apoyo.

A la Dra. Carmen Rodríguez Jaramillo y a la técnico Eulalia Meza por aceptarme en su laboratorio, por transmitirme de su valioso conocimiento, por aguantarme, y brindarme su apoyo en todos los aspectos. Gracias por ser como unos angelitos en mi camino.

Al David Paz García y Pedro González Espinoza por su apoyo incondicional, sobre todo en campo. Muchas gracias chicos por ayudarme en la recolecta, en los momentos que más lo necesite, mil gracias.

Al Dr. Marcial Arellano Martínez por facilitarme las instalaciones del laboratorio de invertebrados durante unas vacaciones.

Al Dr. José Manuel Borges Souza y a la M.en C Alejandra Chávez Ortiz por su apoyo con parte del equipo de buceo y su apoyo ilimitado.

A cada uno de los miembros del comité al Dr. Ernesto Aarón Chávez Ortiz, Dra. María Dinora Herrero Pérezrul y al Dr. Héctor Reyes Bonilla por leer, pulir y enriquecer cada uno de mis textos.

A la Dra. Rosa Isabel Ochoa por aceptar ser mi consejera de estudios mientras que mi director se incorporaba a colegio.

A cada uno de mis compañeros del laboratorio de histología e histoquímica del CIBNOR (integrantes de la Chorchá) Andrés Amores, José Luis García, Ricardo Díaz, Grecia Molina, Fany e infinidad de chicos que hicieron ameno el trabajo rutinario del laboratorio, gracias por su apoyo.

A los capitanes de las embarcaciones el señor Enrique Calvillo, Jorge Calvillo y Mario Cota quienes tuvieron toda la disposición y brindaron su apoyo en las salidas de campo.

## CONTENIDO

<b>Índice de Figuras</b>	<b>III</b>
<b>Lista de tablas</b>	<b>IV</b>
<b>Glosario</b>	<b>V</b>
<b>Resumen</b>	<b>VI</b>
<b>Abstrac</b>	<b>VII</b>
<b>1. INTRODUCCION</b>	
<b>2. ANTECEDENTES</b>	
<b>2.1 Estrategia reproductiva en Indo Pacífico</b>	
<b>2.2 Reproduccion en el Pacífico Oriental</b>	
<b>3. JUSTIFICACION</b>	
<b>4. OBJETIVOS</b>	
<b>4.1 Objetivo general</b>	
<b>4.2 Objetivos Particulares</b>	
<b>5. MATERIALES Y METODOS</b>	
<b>6. RESULTADOS</b>	
<b>7. DISCUSION</b>	
<b>8. CONCLUSIONES</b>	
<b>9. ANEXOS</b>	
<b>10. BIBILIOGRAFÍA</b>	

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Ciclo de vida de corales escleractínios. Asexual: (1-A) Clonación de pólipos. (2-A) Fragmentación. Sexual: (1-S) Desove de gametos, (2-S) Desove de plánulas.	3
<b>Figura 2.</b> Área de estudio, Isla Gaviota en Bahía de La Paz, B.C.S.	12
<b>Figura 3.</b> Termógrafo (HOBO®) utilizado para obtener los valores de temperatura e intensidad lumínica a la que están expuestas las colonias.	14
<b>Figura 4.</b> Fotografía del tejido <i>Pocillopora verrucosa</i> ilustrando cómo se realizó la disección.	16
<b>Figura 5.</b> A. Estructura Histológica de un pólipo de <i>Pocillopora verrucosa</i> . Corte transversal 4x. CG= cavidad gastrovascular del pólipo, Mg= Mesoglea, M= Mesenterio, GF=Gónada con gametos femeninos. B. Gónadas compartiendo un mismo mesenterio 10x. GF=Gónada con gametos femeninos, GM=Gónada con gametos masculinos. C. N= Nematocisto. Fotografía a 100x. Tinción Hematoxilina-Eosina.	23
<b>Figura 6.</b> Pólipo de <i>Pocillopora meandrina</i> . Fotografía tomada a 10x. E= epidermis. Cng= canal gastrovascular. Mg= Mesoglea, S=simbionte, Fm= Filamento mesentérico. Tinción Hematoxilina-Eosina.	24
<b>Figura 7.</b> Tejido de <i>Pocillopora verrucosa</i> . Corte transversal de tres pólipos completos donde se observa el desarrollo diferencial de sus gónadas. Fotografía tomada a 4x. Tinción Hematoxilina-Eosina.	25
<b>Figura 8.</b> Porcentaje de colonias de <i>Pocillopora meandrina</i> que presentaron gametos en el periodo de estudio.	27

- Figura 9.** Porcentaje de colonias de *Pocillopora verrucosa* que presentaron gametos en el periodo de estudio. 28
- Figura 10.** Gónada de *Pocillopora meandrina*. Fotografía tomada a 60x. 30  
Los círculos rojos encierran células intersticiales (CI) localizadas en la periferia de la gónada. Se observaron algunos ovocitos en crecimiento (Ov). Tinción con Hematoxilina-Eosina.
- Figura 11.** Gónada de *Pocillopora verrucosa*. Cv= Cavidad gastrovascular por donde los pólipos están intercomunicados, T= tentáculo, Cnt= Células nerviosas de los tentáculos. Los círculos rojos marcan los ovocitos en previtelogénesis. Tinción con Hematoxilina-Eosina. 30
- Figura 12.** Fotografía de un ovario de *Pocillopora verrucosa* estadio II. Tomada a 20x. Contiene ovocitos con algunas vacuolas lipídicas (VL). Simbiontes (S), Mg= mesoglea, M=mesenterio, Fm=filamento mesentérico, Cg= Canal gastrovascular, Ci= Células intersticiales, CdE=Células digestivas del epitelio, Cme= Células musculares del epitelio. Tinción con Hematoxilina-Eosina. 31
- Figura 13.** A. Gónada de *Pocillopora meandrina*. Fotografía tomada a 20x. B. Ovocito en estadio III, foto tomada a 100x; VL= vacuolas lipídicas, GV= gránulos de vitelo, NL=nucléolo, Nc=núcleo. C. Evidencia de simbiontes rodeando la gónada Fotografía tomada con microscopio de fluorescencia; D. Simbiontes a 100x. Tinción con Hematoxilina-Eosina. 32
- Figura 14.** A. Gónada con ovocitos maduros; fotografía tomada a 20x. B. Ovocito maduro a 100x, donde se observa gran cantidad de vitelo (V) y vacuolas lipídicas (VL). C. fotografía a 60 x, migración del simbionte (S) al núcleo del ovocito maduro. Tinción con Hematoxilina-Eosina. 33

<b>Figura 16.</b> Fotografía de <i>Pocillopora meandrina</i> tomada a 20x. La línea roja muestra el acomodo tubular de los espermatocitos. Las flechas marcan el inicio de la migración hacia la periferia. Se observa una gran cantidad de células intersticiales (CI) rodeando la gónada.	34
<b>Figura 17.</b> Fotografía de <i>Pocillopora meandrina</i> tomada a 20x. Los círculos rojos muestran la presencia de espermatozoides en el espermario. Se observa el canal gastrovascular, tejido por el cual los pólipos se comunican. Tinción con Hematoxilina-Eosina.	35
<b>Figura 18.</b> A. Espermario con gran cantidad de espermatozoides y pocos espermatocitos, fotografía tomada a 20x. B. Fotografía a 100x, N= Núcleo del espermatozoide, F= flagelo del espermatozoide.	36
<b>Figura 19.</b> Medidas del diámetro teórico de los ovocitos encontrados durante el periodo reproductivo de <i>Pocillopora meandrina</i> . Los círculos son datos no frecuentes y fuera del rango de dispersión. El rectángulo mayor contiene del 25 al 75 % de los datos y el rectángulo pequeño representa la media de los datos en cada mes.	37
<b>Figura 20.</b> Medidas del diámetro teórico de los ovocitos encontrados durante el periodo reproductivo de <i>Pocillopora verrucosa</i> . El rectángulo mayor contiene del 25 al 75 % de los datos y el rectángulo pequeño representa la media de los datos en cada mes.	38
<b>Figura 21.</b> Distribución temporal de los estadios en <i>Pocillopora meandrina</i> durante el ciclo anual de estudio.	39
<b>Figura 22.</b> Distribución temporal de los estadios en <i>Pocillopora verrucosa</i> durante el ciclo anual de estudio.	40
<b>Figura 23.</b> Distribución temporal de los lípidos en los pólipos de ambas especies y su relación con la gametogénesis.	41

**Figura 24.** Distribución temporal del periodo reproductivo de ambas especies y su relación con la temperatura superficial del mar. 42

**Figura 25.** Distribución temporal del periodo reproductivo de ambas especies y su relación con la cantidad de energía solar. 44

## LISTA DE TABLAS

**Tabla 1.** Proporción de pólipos caracterizados con base en el desarrollo de sus cistos.

36

## ANEXOS

**Anexo I.** Fórmula de solución Davidson.

**Anexo II.** Técnica de Tinción de Hematoxilina de Mayer/Floxina-Eosina de Humason (1979).

**Anexo III.** Características de los gametos en el género *Pocillopora* en sus diferentes estadios propuesta por Glynn *et al.* (1991).

**Anexo IV.** Características de los gametos de *Pocillopora damicornis* propuesta por Vizcaino Ochoa (2003).

**Anexo V.** Valor promedio mensual de los factores ambientales. Los campos coloreados delimitan el periodo reproductivo de ambas especies.

## RESUMEN

Los corales del género *Pocillopora* dominan las comunidades de arrecifes en el Pacífico Oriental. En el Pacífico Mexicano hay escasos estudios sobre reproducción en este género y se han dirigido solo hacia *Pocillopora damicornis*. El presente trabajo tuvo como objetivo describir el ciclo reproductivo de dos especies del género: *Pocillopora verrucosa* y *Pocillopora meandrina* durante 16 meses, mediante histología convencional (tinción con hematoxilina-eosina) para la identificación de gametos y sus estadios, e histoquímica (tinción con sudán negro) para la determinación de lípidos en el tejido epitelial del pólipo. Los resultados indican que ambas especies son hermafroditas simultáneos. Las gónadas se originan de cystos en los mesenterios y normalmente se encuentran separadas dentro del mismo pólipo. La gametogénesis coincide con el aumento de temperatura superficial del mar. Inicia en mayo en el caso de *P. meandrina* a los 23°C y termina a los 28°C en octubre, en *P. verrucosa* inicia en junio a los 24°C y termina a los 30°C en septiembre. Los diámetros de los ovocitos se incrementaron a lo largo de la temporada reproductiva y mostraron diferencias significativas entre los meses. Ovocitos maduros (estadio IV) con un tamaño de 86 -100 µm fueron registrados de julio a septiembre en ambas especies, encontrándose la presencia del simbionte migrando al núcleo del ovocito en septiembre. Los valores de energía solar recibida y la temperatura superficial del mar se relacionaron positivamente con la cantidad de colonias con actividad reproductiva. La cantidad de lípidos disminuyó considerablemente en el pólipo durante el periodo reproductivo. No se evidenció ninguna relación entre la actividad reproductiva y la tasa de sedimentación registrada en el periodo de estudio. Ambas especies son simpátricas, y sus estadios maduros (IV) se sobrelapan, táctica que potencialmente favorecería la hibridación.

**Palabras clave:** *Pocillopora*, Reproducción de corales, Pacífico Oriental, histoquímica, lípidos.

## ABSTRACT

The corals of the genus *Pocillopora* dominate Reef Communities in the Eastern Pacific. In the Mexican Pacific, there are few studies on reproduction in this genus and have been directed solely toward *Pocillopora damicornis*. This study aimed to describe the reproductive cycle of two species: *Pocillopora verrucosa* and *Pocillopora meandrina* for 16 months by conventional histology (dyed with Hematoxylin - Eosin ) for identification of gametes and their stages, and for histochemistry ( dyed with Sudan Black staining ) for lipid determination of polyp epithelial tissue. Results indicate that both species are simultaneous hermaphrodites. Originating from the gonads in the mesenteries cystos and usually are separated within the polyp. The gametogenesis coincides with increasing sea surface temperature. Starts in May for *P. meandrina* at 23 ° C and ending at 28 ° C in October. For *P. verrucosa* begins in June at 24 ° C and ending at 30 ° C in September. The diameters of the oocytes increased throughout the breeding season and showed they were recorded from July to September in both species significant differences between mature oocytes months (stage IV) with a size of 86 -100 microns, finding the presence of the symbiont migrate to the nucleus of the oocyte in September. The values of solar energy received and sea surface temperature were positively related to the number of colonies with reproductive activity. The amount of lipids decreased significantly in the polyp during the reproductive period. No relationship between reproductive activity and the sedimentation rate recorded in the study period was not found. Both species are sympatric, and mature stages (IV), tactics that favor potentially -overlapping hybridization.

Keywords: *Pocillopora*, Reproduction of corals, Eastern Pacific, Hystochemistry, Lipid.

## G L O S A R I O

**Caliodermis:** Capa de células derivadas del ectodermo que rodean los pólipos, cuya principal función es la de construir el exoesqueleto en corales escleractínios.

**Canal gastrovascular:** Conectan las cavidades gastrovasculares de los pólipos en una colonia por medio de un sistema de tubos.

**Cavidad gastrovascular:** Estómago o vaso pequeño localizado en espacio interior de un pólipo coralino; el agua que circula a través de la cavidad suministra oxígeno disuelto y arrastra dióxido de carbono y otros productos de desecho. Es conocido en otros Anthozoa como celenterón.

**Ciclo reproductivo:** Evento periódico en el que las gónadas producen gametos y los organismos se reproducen.

**Espermatocito:** Es la célula germinal masculina que se encuentra en proceso de Maduración.

**Espermatogenesis.** Proliferación de células germinales masculinas a partir de la división mitótica de las espermatogónias.

**Espermatogónia:** Células diploides no especializadas ubicadas en las paredes de los testículos que por división meiótica darán origen a espermatocitos

**Filamento mesentérico.** También conocido como acontio, es un lóbulo central, constituido por células que colaboran con la captura y digestión del zooplancton.

**Gametogénesis.** Proceso mediante el cual se forman los gametos en la reproducción sexual.

**Gónada:** Órganos sexuales primarios en los cuales se producen las células germinales.

**Mesenterio:** Tejido medio localizado en cada septo.

**Mesoglea:** Parte media entre la epidermis y la gastrodermis. Funciona como tejido conectivo, ya que contiene amebocitos.

**Ovocito:** Célula sexual femenina en fase de crecimiento que experimenta meiosis

**Ovario.** Glándula femenina en la que tiene lugar la ovogénesis.

**Ovogénesis:** Proceso mediante el cual los gametos femeninos se multiplican y maduran hasta la formación de ovocitos maduros.

**Pólipo de Coral:** Organismo individual de una colonia coralina, perteneciente a filo Cnidaria de la clase Antozoo. Está formado por dos capas germinales; la epidermis y gastrodermis o endodermo.

**Symbiodinium:** Género de algas dinoflageladas de la familia Symbiodiniaceae, clase Dinophyceae. Se conocen comúnmente por zooxantelas. Generalmente son simbioses que viven dentro de las células gastrodérmicas de algunos escleractínios, y anémonas, entre otros. Proveen energía a su hospedero por medio de la fotosíntesis.

**Vitelo:** Reserva del ovocito constituida por lipoproteínas y fosfoproteínas derivadas de la vitelogenina.

## INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos son ecosistemas fundamentales ya que nos proveen de bienes (pesca, fármacos, artesanías) y servicios (protección de las costas y ecoturismo) (Moberg y Folke, 1999). Están constituidos principalmente por corales del orden *Scleractinia*, los cuales se caracterizan por formar su esqueleto de carbonato de calcio, y estar cubiertos por el tejido de unidades individuales llamadas pólipos (Ruppert y Barnes, 1996). Los pólipos presentan las mismas propiedades biológicas y un alto grado de comunicación interna, por lo que una colonia se comporta como una unidad fisiológica y ecológica (Brusca y Brusca, 1990; Hughes *et al.*, 1992). A su vez, los pólipos presentan una asociación simbiótica con dinoflagelados fotosintéticos del género *Symbiodinium*, los cuales alcanzan densidades entre 1-5 millones por cm<sup>2</sup> de tejido. *Symbiodinium* spp producen lípidos y carbohidratos a partir de la fotosíntesis, proporcionando al coral el 95% de los nutrientes necesarios para su mantenimiento, crecimiento y reproducción. El coral le proporciona a *Symbiodinium* un sustrato con condiciones adecuadas para llevar a cabo la fotosíntesis (Maragos, 1977; Glynn, 1996). Debido a esa asociación los corales se desarrollan donde la concentración y circulación de nutrientes es baja, pero la incidencia solar es alta, en latitudes entre los 30°N y 30°S respecto al Ecuador (Schubert *et al.*, 2006).

Estudiar los ciclos reproductivos de los corales formadores de arrecife nos provee de información que ayuda a entender las estrategias de historia de vida, la estructura y dinámica poblacional, y apoya estudios sobre la distribución y biogeografía de las comunidades coralinas (Fadlallah, 1985; Tanner, 1996).

La reproducción de los corales puede ocurrir rítmica o esporádicamente durante parte del año, o continuamente (Richmond y Hunter, 1990). Pueden reproducirse de manera asexual por medio de fisión longitudinal (clonación) de pólipos, y por fragmentación accidental.

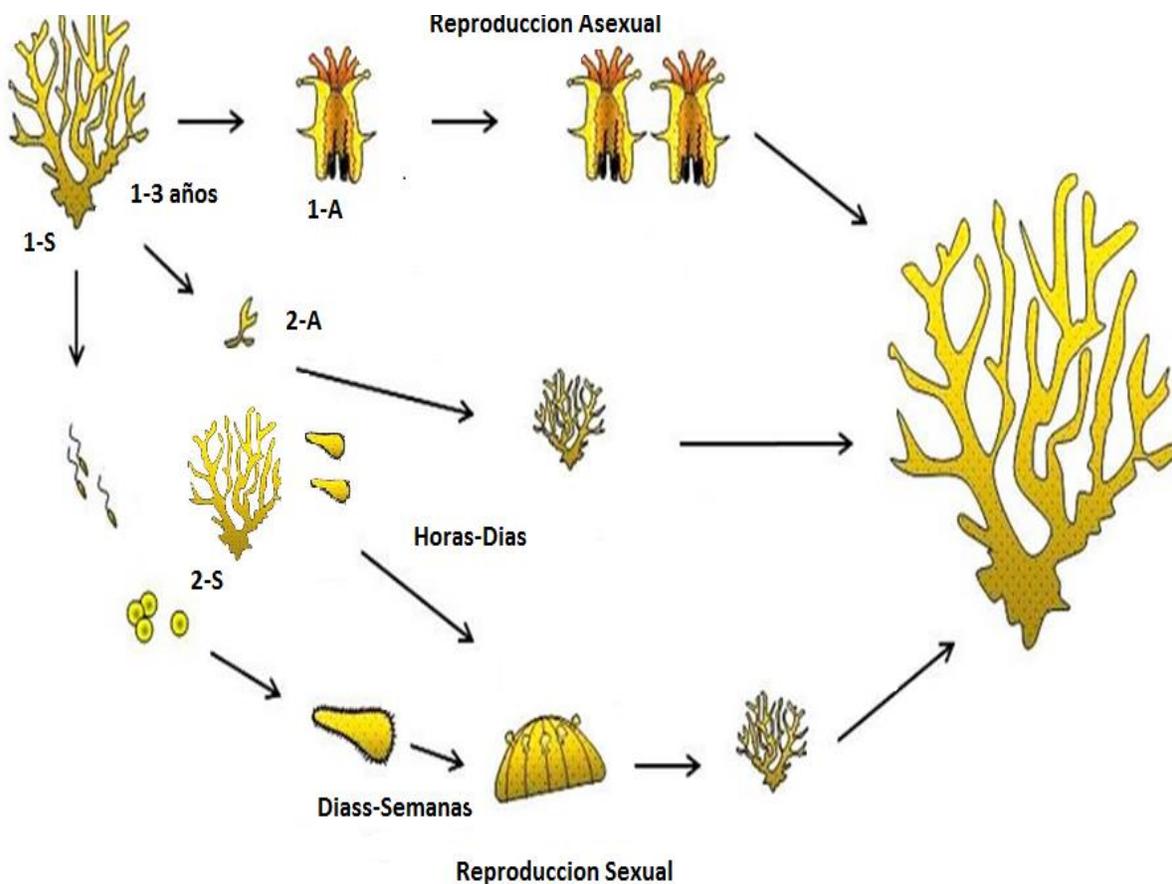
La fragmentación es la estrategia más común; en ésta, no existe un intercambio genético, ya que se genera a partir de una colonia previamente fijada. Dentro de los

beneficios encontrados es que existe una elevada probabilidad de que el fragmento encuentre condiciones adecuadas debido a que se asienta a pocos metros de la colonia madre (Harrison y Wallace, 1990). Este proceso es selectivamente favorable para el desarrollo de las nuevas colonias coralinas en ambientes estables ya que es rápido y da lugar a bajas tasas de mortalidad (Hughes *et al.* 1992). No obstante las desventajas de la reproducción asexual es que los pólipos o el fragmento se comportan exactamente de la misma manera que la colonia de origen, debido a que no existe un intercambio genético, por lo que la nueva colonia es igualmente fuerte, pero también igualmente débil a cambios ambientales (Wijgerde, 2009).

Los corales también emplean la reproducción sexual. La reproducción sexual incluye una temporada de producción de gametos y desoves. Este tipo de reproducción representa mayores ventajas potenciales para el individuo y la población porque implica intercambio genético, resultado de la meiosis y subsecuente fusión de gametos. Este proceso crea eventualmente una población genéticamente diversa, con individuos capaces de responder a una amplia gama de trastornos ambientales. Por supuesto, la población debe ser lo suficientemente grande para evitar demasiado “reciclaje” de los genes presentes. No obstante la reproducción sexual puede llevar a una alta mortalidad larval y a un reclutamiento bajo o irregular (Giese y Pearse, 1974; Harrison y Wallace, 1990; Riddle D. 2008; Wijgerde, 2009). Por ello algunas especies de coral tienen la capacidad de reproducirse asexualmente y sexual durante un mismo periodo reproductivo (Richmond, 1987).

La mayoría de las especies de coral son hermafroditas, es decir desarrollan gónadas de ambos sexos dentro del mismo pólipo (Giese y Pearse, 1974; Fadlallah 1983; Harrison y Wallace, 1990; Richmond y Hunter, 1990), sin embargo, también existen especies gonocóricas.

Algunas especies tienen fecundación interna e incuban sus plánulas. Las plánulas son la forma larvaria de los corales, la cual en condiciones óptimas pasan por una metamorfosis y luego se asienta para desarrollarse formando un pólipo. Otras especies presentan fecundación externa, liberan los gametos al medio, donde estos se conjugan (Richmond y Hunter 1990b; Richmond 1997; Harrison, 2011) (Figura 1). Incluso, recientemente, se ha reportado que incluso algunas colonias pueden llevar a cabo la liberación de gametos seguido por una liberación de plánulas (Schmidt-Roach *et al.*, 2012).



**Figura 1.** Ciclo de vida de corales. Asexual: (1-A) Clonación de pólipos. (2-A) Fragmentación. Sexual: (1-S) Desove de gametos, (2-S) Desove de plánulas.

La liberación de plánulas puede ocurrir varias veces en un año. El proceso comienza con la expulsión de gametos masculinos, los cuales llegan a una colonia y son recibidos por pólipos femeninos, en los que se lleva a cabo la fertilización y el desarrollo de la plánula, la cual posteriormente es liberada a la columna de agua. Los corales que pueden incubar sus plánulas se ven favorecidos en áreas físicamente inestables, ya que tales larvas presentan periodos cortos de vida libre y se reclutan en abundancia cerca del progenitor (Figura 1). Ello les permite ser eficientes para recolonizar áreas afectadas por perturbaciones (Glynn *et al.*, 1991; Baird *et al.*, 2009).

En cambio los corales que expulsan ambos gametos, generalmente lo hacen 1-2 veces por año llevando a cabo la fertilización en la columna de agua (Figura 1) (Baird *et al.*, 2009). Este tipo de reproducción eventualmente crea una población genéticamente diversa, con individuos capaces de responder a una amplia gama de trastornos (Wijgerde, 2009).

La reproducción de los corales Scleractinios, como la mayoría de los organismos marinos, esta mediada por factores endógenos y exógenos; los primeros se basan en señales proporcionadas por los sistemas endocrinos y/o neuroendocrinos (cambios hormonales), mientras que el segundo es debido a los cambios en las condiciones ambientales (Giese y Pearse, 1974; Harrison y Wallace, 1990; Fautin, 2002). Incluso también se ha demostrado que los cambios lunares participan de manera importante (Ward 1992).

Las condiciones adecuadas para que se lleve a cabo la gametogénesis de cada especie no son las mismas, ya que cambian de manera latitudinal; por lo que una misma especie estará adaptada a distintas condiciones dependiendo de la zona geográfica en donde se encuentre. Incluso depende del intervalo de tolerancia a distintos factores y en el caso de que este se rebase, existirá una disminución en la fecundidad o bien una inhibición total de la gametogénesis (Tanner, 1996).

Dentro de los factores ambientales, existen varios que pueden jugar un papel importante. Estos son la temperatura superficial del mar (TSM), intensidad lumínica y la tasa de sedimentación. Tradicionalmente, la temperatura superficial del mar ha sido considerada como la principal señal estacional, debido a la importante influencia que ejerce sobre los procesos fisiológicos; en numerosos casos la liberación de gametos ha sido relacionada con el calentamiento de las aguas superficiales (Harrison y Wallace, 1990). No obstante después de anomalías de temperatura relacionadas a fenómenos El Niño, se ha observado que los corales disminuyen o suprimen el proceso de reproducción (Hirose *et al.* 2000; Baird y Marshall, 2002).

Otros de los factores que influyen en la reproducción son la intensidad lumínica y la tasa de sedimentación (Richmond, 1987). La intensidad lumínica está ligada al proceso fotosintético del *Symbiodinium*, por el cual el coral recibe la mayor parte de los nutrientes. Tasas altas de sedimentación disminuyen la cantidad de intensidad lumínica y por ende la producción de nutrientes (Fabricius, 2005). Los nutrientes destinados para el proceso de reproducción (gametogénesis) son principalmente lípidos. Existe evidencia que corales expuestos a baja intensidad lumínica contienen menor cantidad de lípidos, lo que repercute en el proceso de reproducción (Stimson, 1987; Harrison y Wallace, 1990; Harland *et al.*, 1992). En zonas de surgencias la gametogénesis disminuye en comparación con zonas térmicamente estables (Glynn, 1991).

Tanto los factores antropogénicos y naturales tienen un impacto en la reproducción. Se ha reportado que en arrecifes con mucha fragmentación inducida por las actividades turísticas, disminuye el potencial reproductivo (Zakai *et al.*, 2000). Lo mismo ocurre en sitios expuestos a una mayor frecuencia de tormentas donde los corales se reproducen principalmente de manera asexual y no tanto sexual, ya que se aprecia menor variación genotípica (Aranceta-Garza *et al.*, 2012).

El principal constructor de las comunidades coralinas en el Pacífico Oriental es el género *Pocillopora*, siendo las especies más representativas *P. verrucosa*, *P. elegans*, *P. meandrina*, y *P. damicornis* (Reyes-Bonilla y López-Pérez, 1998). Son especies con morfología ramificada que habitan aguas poco profundas de 0 a 6 m (Pérez-Vivar *et al.*, 2006). Estos corales poseen una morfología ramificada y habitan aguas poco profundas (0 a 6 m; Pérez-Vivar *et al.*, 2006). La biología reproductiva de este género en el Pacífico oriental ha sido estudiada en *P. damicornis* por Glynn *et al.* (1991) desde la Isla del Caño en Costa Rica a las Islas Galápagos en Ecuador, donde se comporta como una especie hermafrodita produciendo desoves sincrónicos todo el año, indistintamente durante las lunas nueva y llena. En el Pacífico mexicano se ha demostrado su reproducción sexual en Bahía de La Paz, Golfo de California, donde los gametos se observaron madurando entre junio y noviembre (Chávez-Romo & Reyes-Bonilla, 2007). Observaciones en esta misma especie en Bahía de Bandera y bahías de Huatulco han demostrado la producción de gametos (estadios I-III) pero no estadios maduros (Carpizo-Iltuarte *et al.*, 2011; Rodríguez-Troncoso *et al.*, 2011). La biología reproductiva de *Pocillopora verrucosa* fue estudiada por Glynn *et al.* (1991) en las costas de Costa Rica, Panamá e Islas Galápagos, quienes reportan que es hermafrodita, con una alta incidencia de gametos maduros de ambos sexos alrededor de la luna llena en los meses de octubre y noviembre, con la mayor abundancia a mediados de la temporada de lluvias (agosto y septiembre). Para el Pacífico mexicano no hay estudios histológicos todavía.

El presente trabajo pretende aportar conocimiento sobre el ciclo reproductivo de *P. verrucosa* y *P. meandrina*, otras dos especies importantes en las comunidades coralinas del Pacífico oriental y del Pacífico mexicano en particular, y su asociación con algunas variables como la temperatura superficial del mar, intensidad lumínica y la tasa de sedimentación.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Estrategia reproductiva en Indo Pacífico

La mayoría de los estudios de ciclo reproductivo se han realizado en el Indo-Pacífico y se han basado en *P. damicornis*. Estos concuerdan que en esas latitudes es una especie hermafrodita que presenta incubación de plánulas (Permatav y Kinzie, 2000; Richmond y Jokiel, 1984; Ward y Bay, 1992; Zakai y Levy, 2000), evento en el que se observa una disminución del 30% en la concentración de lípidos presentes en su tejido, especialmente en el de las puntas de las ramas (Stimson, 1987). La evidencia de desove de gametos, casi no se ha reportado, sin embargo se sabe que ocurre durante la madrugada, dos días después de la luna llena, de noviembre a febrero. Además, se observó que los ovocitos tienen flotabilidad negativa y contienen ya *Symbiodinium* (Schmidt-Roach, 2012).

En cambio los estudios que se refieren a *P. verrucosa* (usualmente reportado como *P. elegans*) reportan que solo desova gametos entre marzo y abril dependiendo la localidad (Ser *et al.*, 1994; Fadlallah, 1985; Five-Server, 1998; Kruger y Schleyer, 1998) generalmente seis días después de la luna nueva (Kinzie, 1993), también con la presencia de *Symbiodinium* en los ovocitos 3 a 4 días antes del desove (Hirose *et al.*, 2000). Por otro lado los estudios publicados sobre *Pocillopora meandrina* han sido realizados en las costas de Hawaï, donde Stimson (1978) sospecha que desova gametos durante la primavera y verano en Molokini, entre abril y mayo cinco días después de la luna llena (Fiene-Severns, 1998), mientras que en Kahalu'u, Hawaï es uno de los pocos corales que desovan durante el día, después de la salida del sol en abril y durante mayo y junio (Riddle, 2008).

## 2.2 Reproduccion en el Pacífico Oriental

En contraste en el Pacífico Oriental los estudios de reproducción son escasos y han sido dirigidos en su mayoría a *P. damicornis*. Este coral ha demostrado ser hermafrodita, expulsando gametos en los arrecifes del Golfo de California y Panamá. El periodo de producción de gametos se realiza una vez al año durante los meses cálidos. Sin embargo otros estudios realizados en las bahías de Huatulco (Oaxaca) no han mostrado evidencia de reproducción sexual, mientras que en Bahía de Banderas (Nayarit) solo se han registrado estadios I a III pero no ovocitos maduros; por ello han sugerido que las condiciones ambientales de estrés han provocado la re-absorción de gametos o que los gametos no lleguen a su estado de madurez (Carpizo-Ituarte *et al.*, 2011; Rodríguez-Troncoso, 2011). Para *Pocillopora verrucosa* se ha reportado que es hermafrodita, con una alta incidencia de gametos maduros de ambos sexos alrededor de la luna llena. Los gametos (ovocitos y espermatocitos) en estadio IV (maduros) se encontraron presentes en octubre y noviembre, con la mayor abundancia a mediados de la temporada de lluvias (agosto y septiembre) (Glynn *et al.*, 1991).

### 3. JUSTIFICACIÓN

Conocer el ciclo reproductivo nos permite entender la dinámica y evolución de las poblaciones, información crucial para entender el potencial reclutamiento y recuperación de áreas impactadas por fenómenos como el blanqueamiento asociado a eventos oceanográficos como El Niño y La Niña (Glynn *et al.*, 1991; Paz-García *et al.*, 2012), o planes de repoblamiento en áreas afectadas por el hombre.

Bahía de La Paz, en el Golfo de California, es una de las pocas áreas del Pacífico Mexicano donde se ha logrado evidenciar reproducción sexual en una de las especies del género *Pocillopora*. Por lo cual el presente trabajo aportará valiosa información de otro par de especies frecuentes y abundantes que componen la comunidad coralina del Pacífico Mexicano y Golfo de California. La información generada podrá ser utilizada como un insumo básico en futuras medidas de conservación.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Describir el ciclo de reproducción sexual de los corales *Pocillopora meandrina* y *Pocillopora verrucosa* en Isla Gaviota en la Bahía de La Paz, Golfo de California.

#### **4.1 OBJETIVOS PARTICULARES**

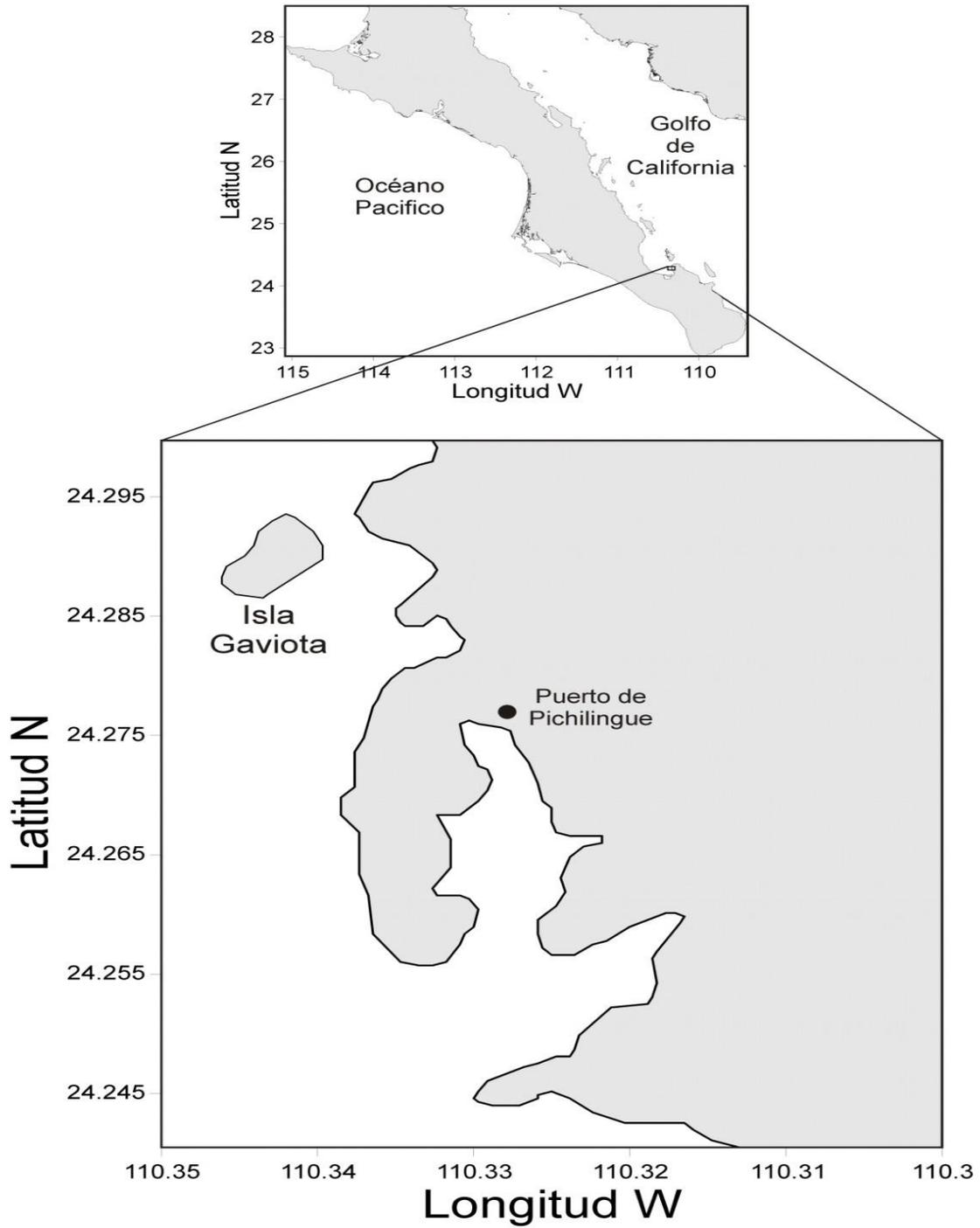
- Caracterizar la gametogénesis de cada una de las especies
- Determinar la presencia de lípidos y su variación durante el proceso reproductivo de cada una de las especies.
- Relacionar los factores ambientales como temperatura superficial, intensidad lumínica y tasa de sedimentación, con el ciclo reproductivo de ambas especies.

## 5. ÁREA DE ESTUDIO

El presente trabajo se realizó en Isla Gaviota, la cual se ubica dentro de La Bahía de La Paz, en la parte sureste de la Península de Baja California. Por ende la isla comparte las características geomorfológicas y está sometida a los regímenes climático e hidrológico que presenta la Bahía.

Sus aguas son someras, con profundidades generalmente menores de 50 m (en el sur), presentan un régimen de marea semidiurno, y los niveles más bajos de marea se observan entre julio y septiembre. La zona de surgencias se ubica en Punta Diablo, y ésta se presenta en el verano y principios del otoño a una temperatura de 24°C y una salinidad entre 34.6 y 36 UPS cuando los vientos provienen del sur (Murillo-Jiménez, 1987) (Figura 2).

El ciclo anual de la temperatura superficial del mar en la cuenca de la bahía presenta dos estaciones bien definidas con respecto al patrón estacional de vientos. Durante invierno-primavera, los menores niveles de insolación junto con la influencia de los vientos del noroeste son los causantes del enfriamiento de las aguas superficiales hasta alcanzar sus mínimos anuales (21° a 24°C), con valores extremos de 18°C. Las temperaturas superficiales del mar más elevadas (27° a 31°C; hasta 34°C en años de Oscilación Sureña de El Niño) se registran durante verano-otoño cuando la insolación es mayor y hay vientos provenientes del sureste, que acarrearán aguas cálidas del trópico hacia el golfo (Bernal *et al.*, 2001).



**Figura 2.** Ubicación geográfica de Isla Gaviota en la Bahía de La Paz, B.C.S.

## 6. MATERIALES Y MÉTODOS

### 6.1 MUESTREO

Con el objetivo de dar seguimiento al estudio de la biología reproductiva de los corales *Pocillopora verrucosa* y *Pocillopora meandrina* en Isla Gaviota, se etiquetaron 10 colonias de cada especie tomando en cuenta los siguientes criterios: a) que las colonias se localizaran a un mínimo de un metro de distancia con el fin de asegurarnos que eran distintas colonias, b) que tuvieran la talla de primera madurez reportada en una de las especies del género (*Pocillopora damicornis*), esto es ramificaciones mayores a los 8.6 cm de altura (Chávez-Romo y Reyes-Bonilla, 2007); y por último c) se consideró una longitud de diámetro mayor a 40 cm como se ha recomendado en otros corales formadores de arrecife (Glynn *et al.*, 1994).

La recolección de muestras se realizó mediante buceo autónomo a 5 m de profundidad. Con la ayuda de un cincel y martillo se recolectó de manera mensual durante quince meses (febrero 2013- mayo 2014) un fragmento de entre 3-6 cm de la parte superior de las ramas (Fadlallah, 1985) de cada una de las colonias previamente marcadas (total de 300 fragmentos).

Cada uno de estos fragmentos fue preservado en solución de Davison (Anexo 1), de acuerdo con la metodología propuesta por Howard y Smith (1983), para posteriormente ser procesados en el laboratorio mediante técnicas histológicas e histoquímicas (Humason, 1979), en el laboratorio de Histología e Histoquímica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR)

## 6.2 MEDICIÓN DE VARIABLES AMBIENTALES

Para entender mejor el ciclo reproductivo de las especies, se llevó a cabo la medición de algunos parámetros ambientales que aparentemente influyen en los procesos biológicos de dichos organismos. Se consideraron la temperatura superficial del mar, la energía solar recibida, y la tasa de sedimentación.

Para medir la temperatura se instalaron dos termógrafos digitales sumergibles (HOBO pendant) a una profundidad aproximada de 3-5 m en la comunidad arrecifal, donde se encontraban las colonias etiquetadas. Los dispositivos cuentan con una precisión de 0.02 °C, lo que permitió obtener registros de la temperatura superficial del mar e intensidad lumínica de manera automática cada treinta minutos. Estos sensores fueron supervisados y limpiados en cada muestreo, y cambiados por periodos no mayores a 4 meses para evitar se descargara la pila (Figura 3).



**Figura 3.** Dispositivo (HOBO®) utilizado para obtener los valores de temperatura e intensidad lumínica a la que están expuestas las colonias.

Ya que los termógrafos suelen ser rápidamente invadidos por algas filamentosas, las cuales impiden el paso correcto de la luz al sensor, solo se tomó en cuenta las mediciones de los primeros 3 días de cada mes. Además, los datos intensidad lumínica fueron complementados con datos del modelo de Jamo Lammi descargados de [http://www.tutiempo.net/silvia\\_larocca/Temas/fotoperiodo.htm](http://www.tutiempo.net/silvia_larocca/Temas/fotoperiodo.htm), el cual calcula el fotoperiodo del día de una coordenada y fecha determinada (Johnson *et al.* 2008). Los datos descargados corresponden a mediciones diarias de la máxima energía solar recibida al medio día, expresados en W/m<sup>2</sup>. Dado que las colonias monitoreadas se encuentran de 3 a 5 metros de profundidad, y la luz tiende

a difractarse, los datos descargados solo representan una aproximación de las condiciones ambientales.

Valores de radiación fotosintéticamente disponible para la fotosíntesis (PAR, Einstein/m<sup>2</sup>/día), y la clorofila a (mg/m<sup>3</sup>) fueron adquiridos del sistema de datos en línea nombrado Giovanni desarrollado por el Goddard (<http://disc.sci.gsfc.nasa.gov/giovanni>, JG Acker y G. Leptoukh, 2007).

Las mediciones mensuales se promediaron en una área aproximada de 10 km<sup>2</sup> alrededor de Isla Gaviotas (110.35 W - 24,25 N).

Se analizó la normalidad de los datos. Posteriormente para probar una asociación entre la reproducción de las colonias de coral y las condiciones ambientales se calculó el valor promedio de cada mes de cada variable ambiental (temperatura superficial, energía solar, tasa de sedimentación, clorofila a, fotosintéticamente disponible para la fotosíntesis) y se correlacionó con el porcentaje de colonias con actividad reproductiva y gametos en estadios maduros. Debido a que los datos no cumplieron el criterio de normalidad se realizó una correlación por rangos de Spearman.

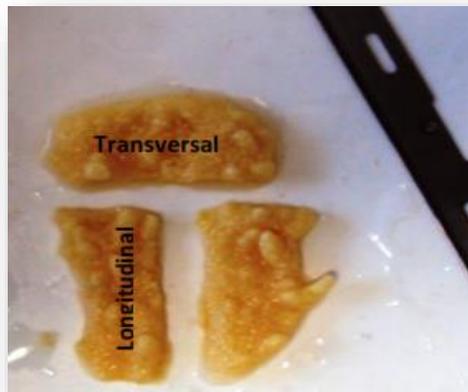
A su vez se decidió calcular la tasa de sedimentación mensual. Para ello se colocaron tres trampas captadoras de sedimentos, estas fueron frascos con aproximadamente 7 cm de diámetro interno y 20 cm de longitud, con un extremo sellado y con posibilidad de taparse debido a que fueron recolectados de manera mensual (Moberg *et al.*, 1999). Las muestras de sedimento recolectadas mensualmente fueron secadas en un horno a 60° C durante 48 horas, y luego el sedimento fue pesado en una balanza con sensibilidad de 1mg. Los datos fueron expresados en gramos por unidad de tiempo (mes) (Vives, 2003).

- **CARACTERIZACIÓN DE LAS ETAPAS DEL CICLO REPRODUCTIVO**

### **Preparación de la muestra**

Una vez fijadas las muestras, fueron transportadas al laboratorio de histología e histoquímica del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. En el laboratorio las muestras fueron lavadas con abundante agua para eliminar la solución de Davidson. Posteriormente cada muestra pasó por un proceso de descalcificación que duró aproximadamente 2 días con el fin de extraer su tejido. El proceso de descalcificación consistió en sumergir la muestra en una solución de ácido clorhídrico (HCl) al 10% con 0.7 g de EDTA, 0.008 g de tartrato de sodio y potasio ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 4\text{HO}_2$ ) y 0.14 g de tartrato de sodio ( $\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6$ ) por cada litro (Chávez-Romo y Reyes-Bonilla 2007; Glynn *et al.*, 1991; Glynn *et al.*, 2012).

Una vez descalcificados los fragmentos, se obtuvo el tejido, el cual fue lavado con agua corriente para quitar rastros de ácido clorhídrico y poder así manipularlo para su posterior disección. El tejido fue cortado de manera longitudinal y transversal con el fin de poder explorar la anatomía del pólipo y observar la mayor cantidad de pólipos presentes en el tejido.



**Figura 4.** Fotografía del tejido *Pocillopora verrucosa*, planos de disección.

## Procesamiento histológico

La descripción de la anatomía del pólipo y descripción del ciclo reproductivo se llevó a cabo mediante técnicas de histología. Este proceso comenzó inmediatamente después de realizar la disección del tejido y consistió de las siguientes etapas:

- **Deshidratación:** El tejido es pasado por una serie de alcoholes en concentraciones ascendentes (70, 80, 90, 96 y 100% de etanol) permaneciendo durante una hora en cada uno de ellos. Posteriormente el tejido fue sumergido en alcohol-xilol durante 15 minutos, y en xilol durante otros cinco minutos con el fin de eliminar toda el agua y poder infiltrarlo con parafina.
- **Inclusión:** El tejido es sumergido en una serie de parafinas (parafina I, II y III) durante una hora, a una temperatura de 65°C con el fin de eliminar la mayor cantidad de xilol. El proceso termina con la inclusión con parafina nueva para formar los bloques de los cuales se obtienen los cortes con el micrótopo.
- **Cortes:** Se realizaron cortes finos de 4 µm de grosor con la ayuda de un micrótopo Leica. Cada corte fue una sección. Se realizaron cuatro secciones de cada muestra, avanzando 200 µm entre cada sección, con el objetivo de analizar el tejido a distintos niveles. Los cortes fueron vertidos en un baño de flotación con glicerina, lo que permite montarlos en portaobjetos para ser teñidos. Tres secciones fueron destinadas para realizar la tinción de observación básica histológica.
- **Tinción:** Los cortes fueron desparafinados, hidratados y teñidos con la técnica de Hematoxilina Férrica-Eosina descrita por Humason (1979), (Anexo 2).

Tras el procesamiento histológico se examinaron un total de 900 preparaciones de Hematoxilina-Eosina. El análisis fue realizado con la ayuda de un microscopio compuesto marca Olympus, modelo BX50. En caso de presentar gametos, se tomaron fotografías a distintos aumentos (4x, 10x, 20x, 40x, 100x) con una cámara CoolSNAP marca Media Cybernetics asociada al microscopio.

- **RELACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE LÍPIDOS CON EL PERIODO REPRODUCTIVO.**

### **Histoquímica**

Para cuantificar los lípidos aproximales presentes en el tejido de las especies se utilizaron cortes de 4  $\mu\text{m}$  de grosor que fueron teñidos con la técnica de Sudan Negro. Esta tinción nos ayudó a detectar la presencia de reservas en forma de lípidos dentro de cada pólipo. A continuación se describe brevemente la técnica.

1. Previo a la tinción, los cortes son desparafinados e hidratados con agua destilada.
2. Luego son sumergidos en alcohol al 70% por cinco minutos para deshidratarlos
3. Posteriormente los cortes se sumergen en solución de Sudan Negro durante 15 a 30 minutos.
4. Para diferenciar estructuras se sumergen en alcohol etílico al 70%.
5. Se quita el exceso de colorante al lavar bien en agua corriente.
6. Luego se mantienen en agua destilada para después montarlos en gelatina glicerizada.

La tinción sudan negro puede tener varios contrastes:

- Azul a negro indica la presencia de ésteres de colesterol y triglicéridos
- Gris indica la presencia de Fosfolípidos, que son lípidos estructurales presentes en cada pólipo.

## TRABAJO DE GABINETE

- **CARACTERIZACION DE LAS ETAPAS DEL CICLO REPRODUCTIVO**

### Histología

Para el análisis, caracterización, y mediciones de las estructuras se utilizaron fotografías de las preparaciones histológicas. Esto ofrece la ventaja de poder trabajar en cualquier PC, observar los detalles con adecuada resolución y al tamaño deseado, permiten utilizar programas de cómputo para las mediciones, y permiten que las observaciones sean validadas por otros observadores calificados. También fueron el material para la descripción de ciclo reproductivo, la cual incluyo criterios cualitativos y cuantitativos.

- Criterios cualitativos

Debido a que la maduración de los pólipos, gónadas, y por ende ovocitos es progresiva y asincrónica, primero se caracterizaron 3 pólipos por colonia con el fin de encontrar algún patrón en la maduración a nivel individuo (pólipo). La clasificación fue de la siguiente manera:

- Pólipos femeninos: Pólipos con mayor número de gónadas con ovocitos.
- Pólipos masculinos: Pólipos con mayor número de gónadas con espermatocitos.
- Pólipos hermafroditas: Pólipos con ambas gónadas.

El análisis cualitativo del desarrollo de los gametos se llevó a cabo clasificando cincuenta gónadas por mes de acuerdo al estadio más frecuente de ovocitos presentes en cada gónada para conocer su periodicidad.

La caracterización de estadio de los gametos se realizó de acuerdo con los conceptos básicos del desarrollo gametogénico, y tomando en cuenta criterios propuestos para la descripción del ciclo reproductivo de *Pocillopora damicornis* por

Glynn *et al.* (1991), Vizcaíno-Ochoa (2003), y Rodríguez-Troncoso *et al.* (2011) (Anexos III, IV, V).

Una vez caracterizados los ovocitos, se construyó una base de datos donde se registró la frecuencia de aparición de ovocitos en sus diferentes estadios. Se revisó el total de gónadas presentes en 3 pólipos distintos de cada una de las colonias analizadas. Tal información nos permitió obtener histogramas de frecuencias.

- **Análisis cuantitativo**

El análisis cuantitativo del desarrollo de los gametos se llevó a cabo mediante la evaluación del crecimiento de los gametos. Se midió la longitud de cincuenta gametos masculinos y cincuenta ovocitos mensualmente. Ya que los gametos femeninos tienen forma de una esfera, se calculó el diámetro teórico (DT) a partir del área (A) total de cada ovocito mediante la siguiente fórmula:  $DT = \sqrt{4A/\pi}$  (Moriarty, 1975; Saout *et al.*, 1999). Se calculó el diámetro teórico del total de los ovocitos presentes en 3 pólipos, sin importar la caracterización cualitativa previa sobre su etapa de desarrollo. Lo anterior fue realizado con la ayuda del programa Image-Pro Plus 7.0.

Se revisó la normalidad de los datos del tamaño de los ovocitos de cada mes. Dado que los datos no fueron normales se transformó a logaritmo base 10. No obstante las medidas de los diámetros de los ovocitos de *Pocillopora verrucosa* no presentaron normalidad. Bajo esos criterios se aplicó una ANOVA para saber si existen diferencias significativas entre las medidas obtenidas entre los meses de *Pocillopora meandrina*, y una prueba de Kruskal Wallis en el caso de *Pocillopora verrucosa*.

- **Relación de la concentración de lípidos con el periodo reproductivo.**

### **Histoquímica**

A las imágenes digitalizadas de las preparaciones histoquímicas se les aplicó un procesamiento para la identificación automática de píxeles. La cual consiste en convertir una imagen de color determinado a píxeles, recordando que la tinción con Sudan Negro tiñe de color negro y gris a los lípidos (Otsun, 1979). La proporción resultante de píxeles en la imagen delimitada (área del pólipo) representa una medida proporcional a los lípidos presentes en la muestra en unidades de micras (Rodríguez-Jaramillo, 2008). No obstante para su manipulación las proporciones de lípidos de cada muestra fueron transformadas a porcentaje por área del tejido de la muestra.

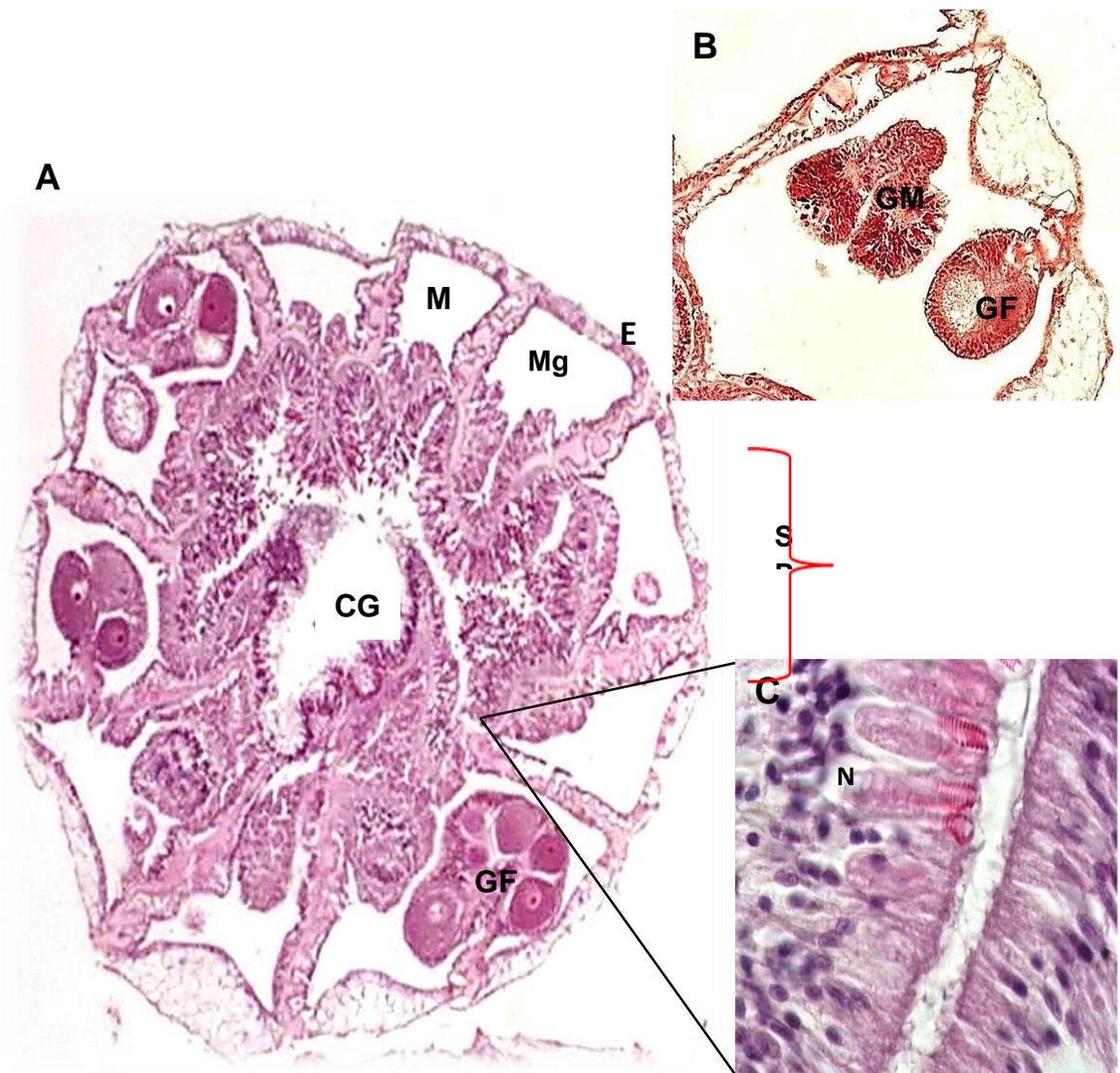
## RESULTADOS

- **Estructura histológica de un pólipo y generalidades.**

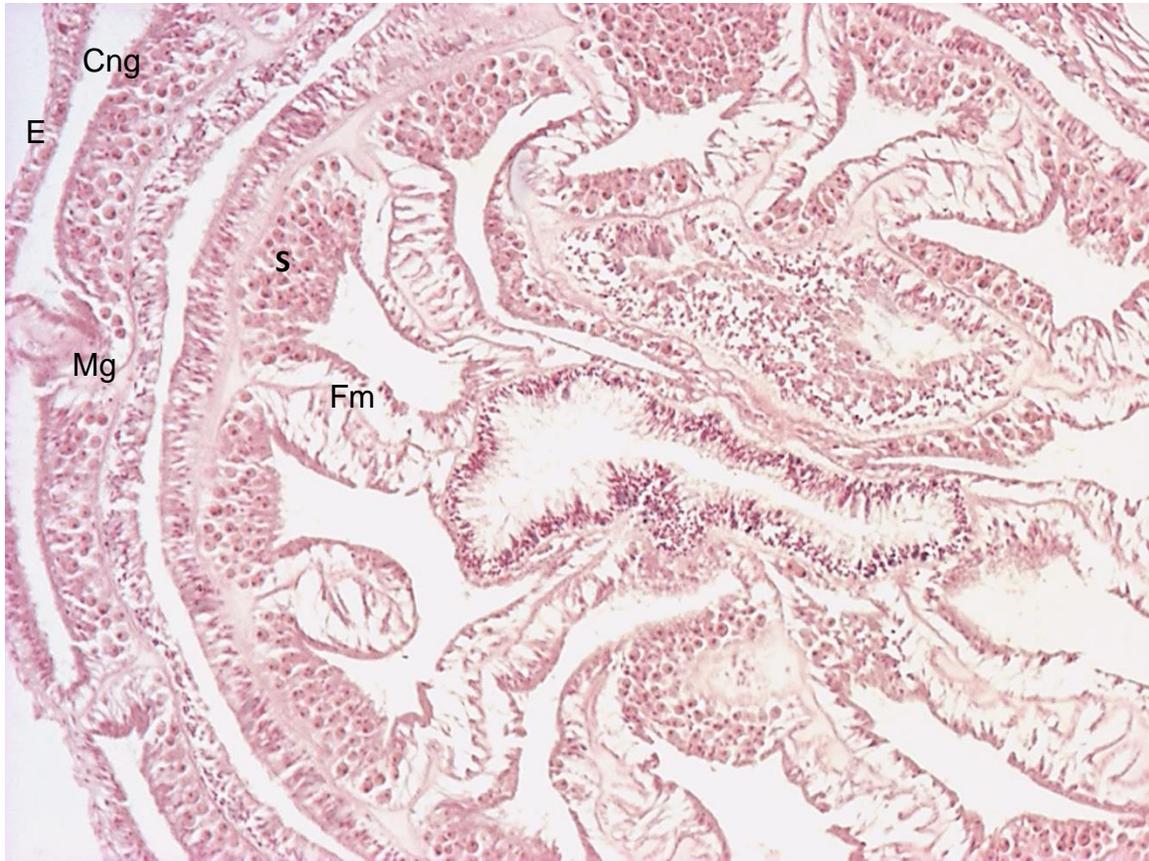
Ya que los pólipos de *Pocillopora verrucosa* y *Pocillopora meandrina* no cuentan con órganos reproductores definidos, desarrollan cystos destinados para la producción de gametos. Estos crecen en la base del epitelio endodermo, hacia la parte media de la mesogléa de cada septo, también llamados mesenterios primarios dando la apariencia de que la gónada es una extensión del mesenterio. Aunque las estructuras reproductivas no son propiamente gónadas se emplea el término ya que cumplen la función de contener los gametos (Figura 5).

Las gónadas no se encuentran de manera permanente en el pólipo, solo están presentes durante el periodo reproductivo. Cada uno de sus pólipos puede llegar a desarrollar desde una hasta doce gónadas. Cada uno de los cystos produce solo un tipo de gametos, por ende podemos referirnos a gónadas femeninas u ovarios si contiene solo ovocitos o gónadas masculinas o espermatario las que desarrollaron solo espermatozoides. En algunas ocasiones ambos tipos de gónadas se encontraron compartiendo el mismo mesenterio. Sin embargo fue más común observar una gónada en cada mesenterio (Figura 5).

Cada pólipo produce en promedio 6 gónadas, sin embargo pueden desarrollar hasta doce. La proporción de gónadas masculinas y femeninas es generalmente uno a uno cuando los gametos alcanzan la madurez. Las gónadas femeninas tienden a desarrollar ovocitos en múltiplos de tres, con un máximo de 18 por gónada en *Pocillopora meandrina* y de 15 en *Pocillopora verrucosa*, pudiendo desarrollar hasta 12 gónadas.



**Figura 5.** A. Estructura Histológica de un pólipo de *Pocillopora verrucosa*. Corte transversal 4x. CG= cavidad gastrovascular del pólipo, Mg= Mesoglea, M= Mesenterio, GF=Gónada con gametos femeninos, E=Epidermis. B. Gónadas compartiendo un mismo mesenterio 10x. GF=Gónada con gametos femeninos, GM=Gónada con gametos masculinos. C. N= Nematocisto fotografía a 100x.



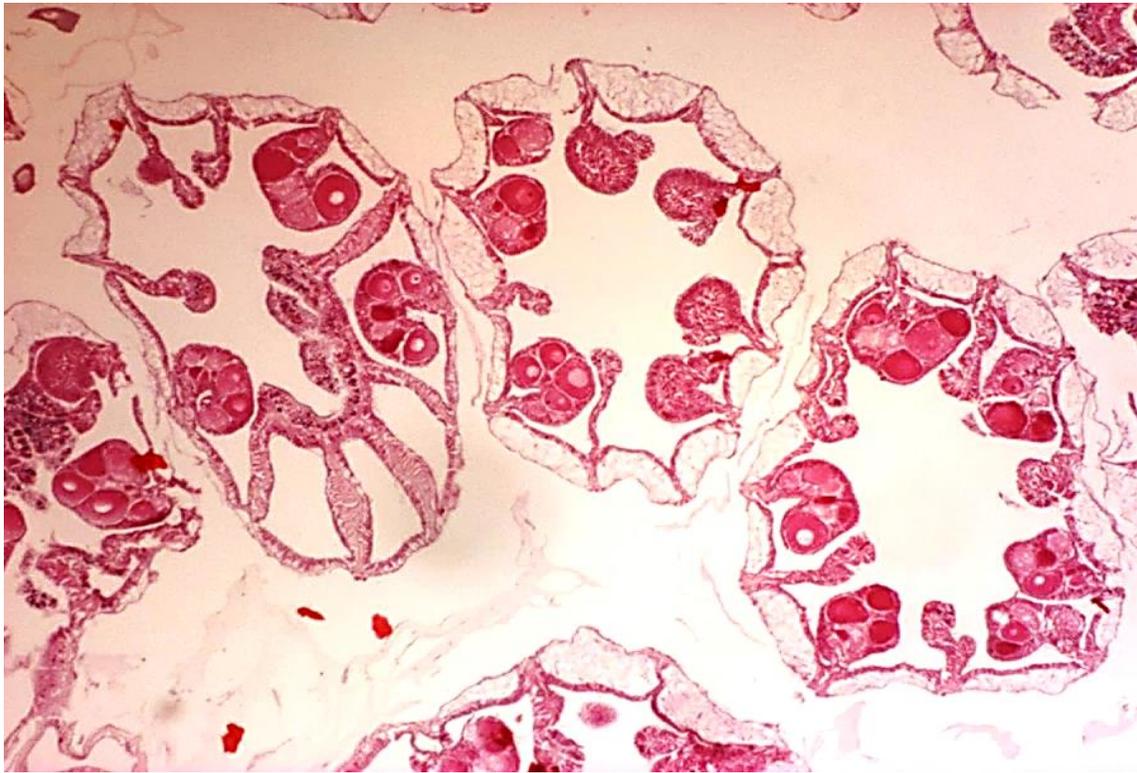
**Figura 6.** Pólipo de *Pocillopora meandrina* fotografía tomada a 10x. E= epidermis. Cng= canal gastrovascular. Mg= Mesoglea, S=simbionte, Fm= Filamento mesentérico. Tinción Hematoxilina-Eosina.

- **Gametogénesis**

### **Generalidades**

- **A nivel pólipo.**

Al caracterizar los pólipos en base al tipo de gónada más frecuente, se observó que hay una preferencia a producir primero ovocitos (Figura 7).



**Figura 7.** Tejido de *Pocillopora verrucosa*. Fotografía tomada a 4x. Muestra un corte transversal de tres pólipos completos donde se observa el desarrollo diferencial de sus gónadas.

El 92% de los pólipos analizados en *Pocillopora meandrina* y un 57% en *Pocillopora verrucosa* solo desarrollaron gónadas femeninas en junio 2013 (Tabla 1).

Después de un mes el 40% de los pólipos analizados en *P. meandrina*, presentaron solo gónadas femeninas, otro 40% presentó ya ambas gónadas y un 20% de los pólipos desarrollaron solo espermatozoides (Tabla 1).

En cambio en *P. verrucosa* la proporción de pólipos con solo gónadas femeninas y pólipos con ambas gónadas fue uno a uno. En septiembre la mayoría de sus pólipos de ambas especies producían ambas gónadas. Alrededor del 80% de los pólipos analizados ya eran hermafroditas (Tabla 1).

Tabla 1. Proporción de pólipos caracterizados en base al desarrollo de sus cystos. n= número de pólipos analizados en el mes.

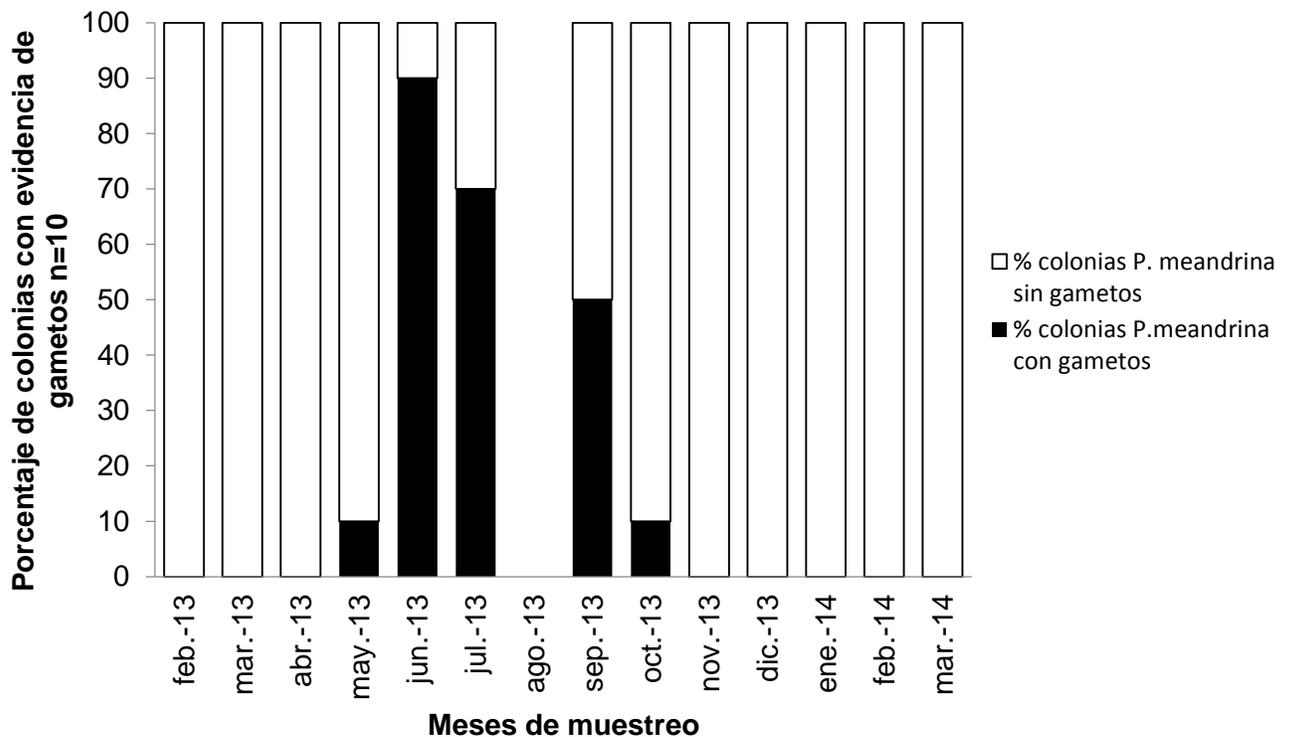
Mes	Junio						Julio						Septiembre								
	n	Pólipos con solo gónadas femeninas	%	Pólipos con solo gónadas masculinas	%	Pólipos con ambas gónadas	%	n	Pólipos con solo gónadas femeninas	%	Pólipos con solo gónadas masculinas	%	Pólipos con ambas gónadas	%	n	Pólipos con solo gónadas femeninas	%	Pólipos con solo gónadas masculinas	%	Pólipos con ambas gónadas	%
<i>P. meandrina</i>	25	23	92	0	0	2	8	20	8	40	4	20	8	40	9	2	22	0	0	7	78
<i>P. verrucosa</i>	14	8	57	1	7	5	36	28	14	50	0	0	14	50	5	0	0	1	20	4	80

- **Por especie**

Ambos corales son hermafroditas funcionales debido a que los pólipos producen gametos masculinos y femeninos. El periodo de gametogénesis comprendió desde finales de la primavera hasta otoño (mayo-septiembre) para *Pocillopora meandrina* y de verano a otoño (junio-septiembre) en *Pocillopora verrucosa*.

- ***Pocillopora meandrina***

La gametogénesis inicio en mayo con el 10% de las colonias, porcentaje que rápidamente ascendió al 90% de las colonias en junio, descendiendo pausadamente a partir de julio (70%) hasta septiembre (50%) y luego baja rápidamente a un 10% en octubre, último mes donde se observó gametogénesis (Figura 8). En noviembre no se encontró la presencia de gametos pero si se observó gónadas con células intersticiales.

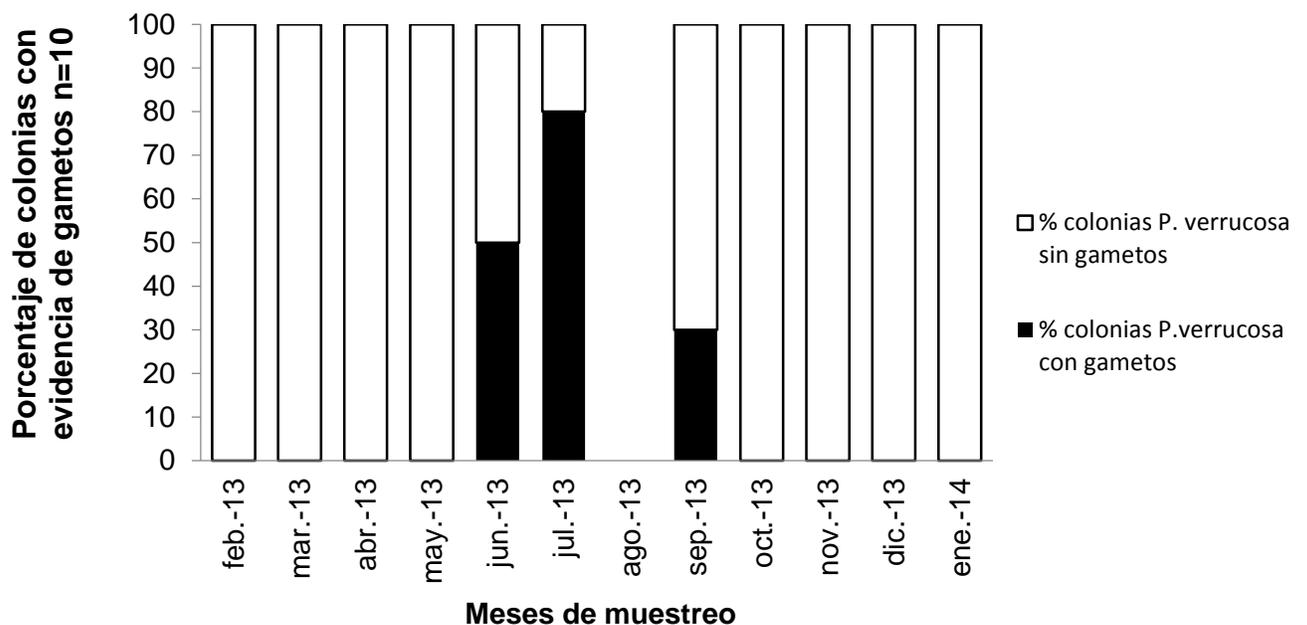


**Figura 8.** Porcentaje de colonias de *Pocillopora meandrina* que presentaron gametos.

El agosto no fue posible realizar el muestreo por cuestiones climáticas y administrativas, pero podría interpolarse un valor del 60% de colonias con producción de gametos.

- ***Pocillopora verrucosa***

A diferencia de *P. meandrina*, en mayo no se observó presencia de gametos en los pólipos de ninguna colonia de *Pocillopora verrucosa*. En junio sin embargo el 50% de las colonias de *P. verrucosa* presentaron gametos, porcentaje que ascendió rápidamente al 80% en julio. En septiembre solo el 40% de las colonias mostraron gametogénesis. En octubre y noviembre se observó la presencia de algunas células intersticiales (Figura 9).



**Figura 9.** Porcentaje de colonias *Pocillopora verrucosa* que presentaron gametos en el periodo de estudio.

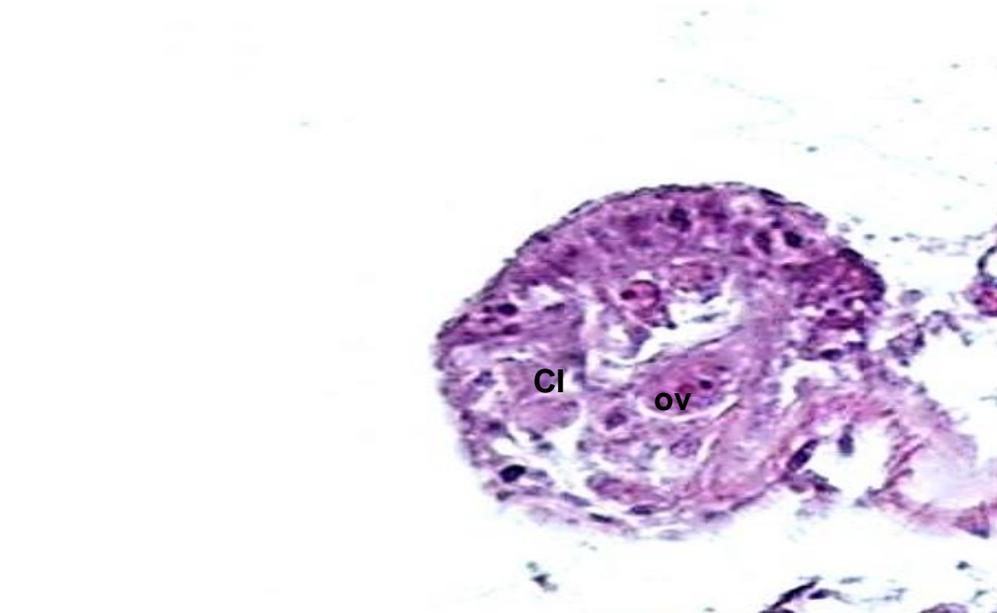
- **Análisis cualitativo**

## **Ovogénesis**

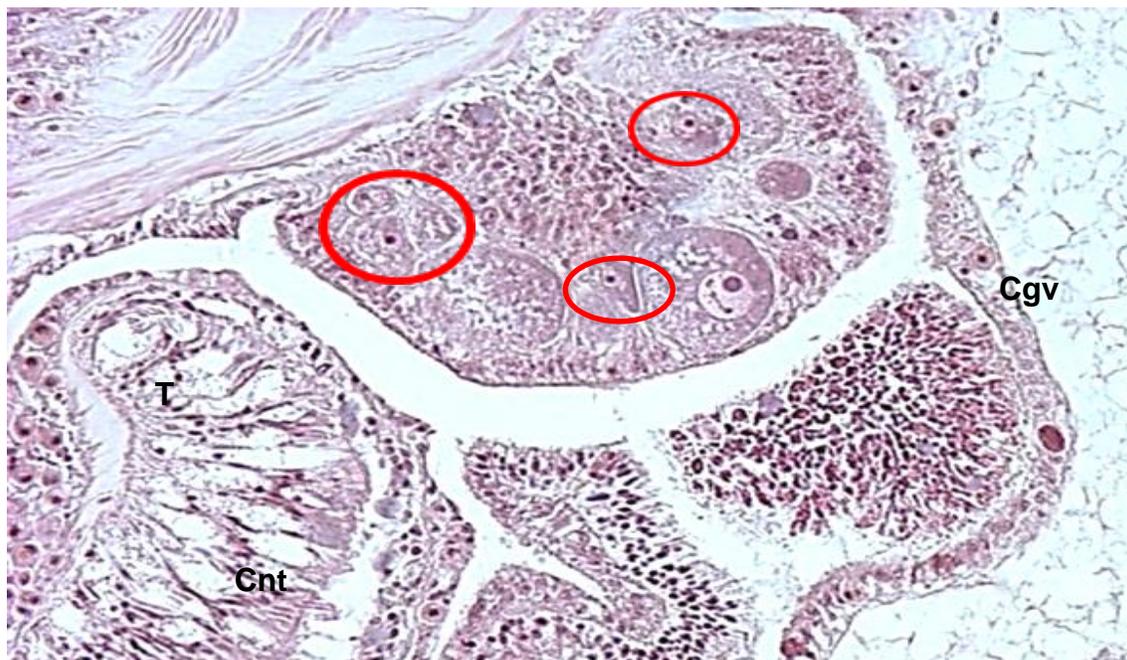
Se determinaron cuatro estadios de desarrollo en ambas especies (I-IV) para caracterizar los gametos femeninos.

**Estadio I.** Se caracteriza por la presencia de células intersticiales, que son aquellas células que puede convertirse en estructuras reproductivas. Aunque pocas fueron observadas (y sólo en *P. meandrina*), marcan el inicio de la actividad reproductiva. Estas células estaban contenidas en un cysto de 55  $\mu$  de diámetro mayor. Las células poseen forma ovalada, núcleo y nucléolo poco visible, y de tamaño de 4 a 12  $\mu$  con un promedio de 5  $\mu$  (Figura 8).

El estadio uno también incluyó la presencia de oogonias en previtelogénesis. Estas células contienen poco citoplasma, núcleo poco visible y de tamaño 15-25  $\mu$  de diámetro para *Pocillopora meandrina*, y de 10-23 $\mu$  en *Pocillopora verrucosa* (figura 11).



**Figura 10.** Gónada de *Pocillopora meandrina*. Fotografía tomada a 60x. Los cirulos rojos encierran las células intersticiales localizadas en la periferia de la gónada Cl= Célula. Se observaron algunos ovocitos en crecimiento Ov= ovocitos. Tinción Hematoxilina-Eosina.



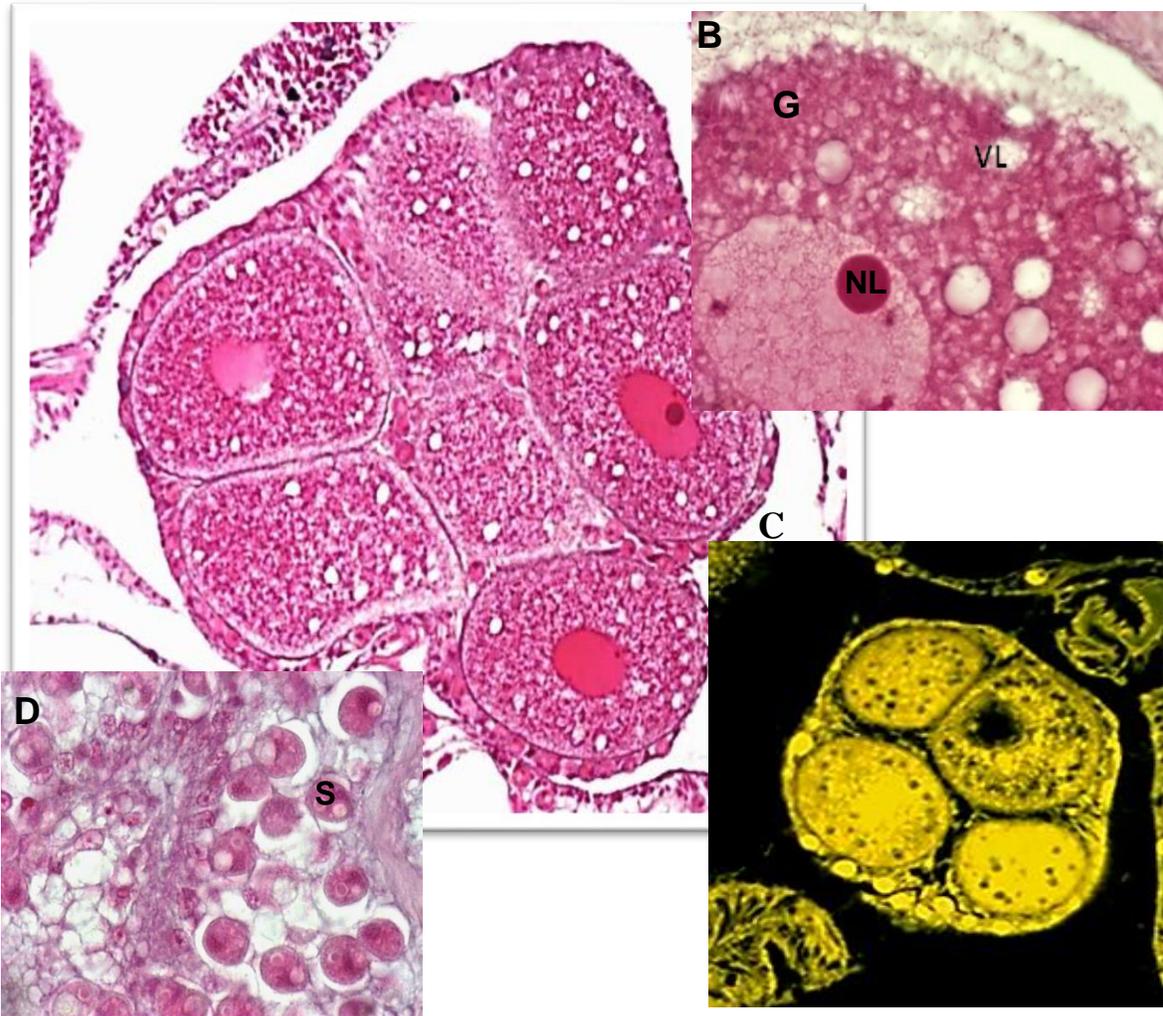
**Figura 11.** Gónada de *Pocillopora verrucosa*. Cv= Cavidad gastrovascular por donde los pólipos estar intercomunicados, T= tentáculo, Cnt= Células nerviosas de los tentáculos. Los círculos rojos marcan los ovocitos en previtelogénesis. Tinción Hematoxilina-Eosina.

**Estadio II.** La gónada presentó mayor cantidad de ovocitos en previtelogénesis, con aumento de citoplasma, con núcleo y nucléolo claramente definido, y presencia de algunas vacuolas lipídicas que marcan el inicio de la vitelogénesis. El tamaño entre 24-40  $\mu\text{m}$  en *P. verrucosa* y 29-46  $\mu\text{m}$  en *P. meandrina* (Figura 12).



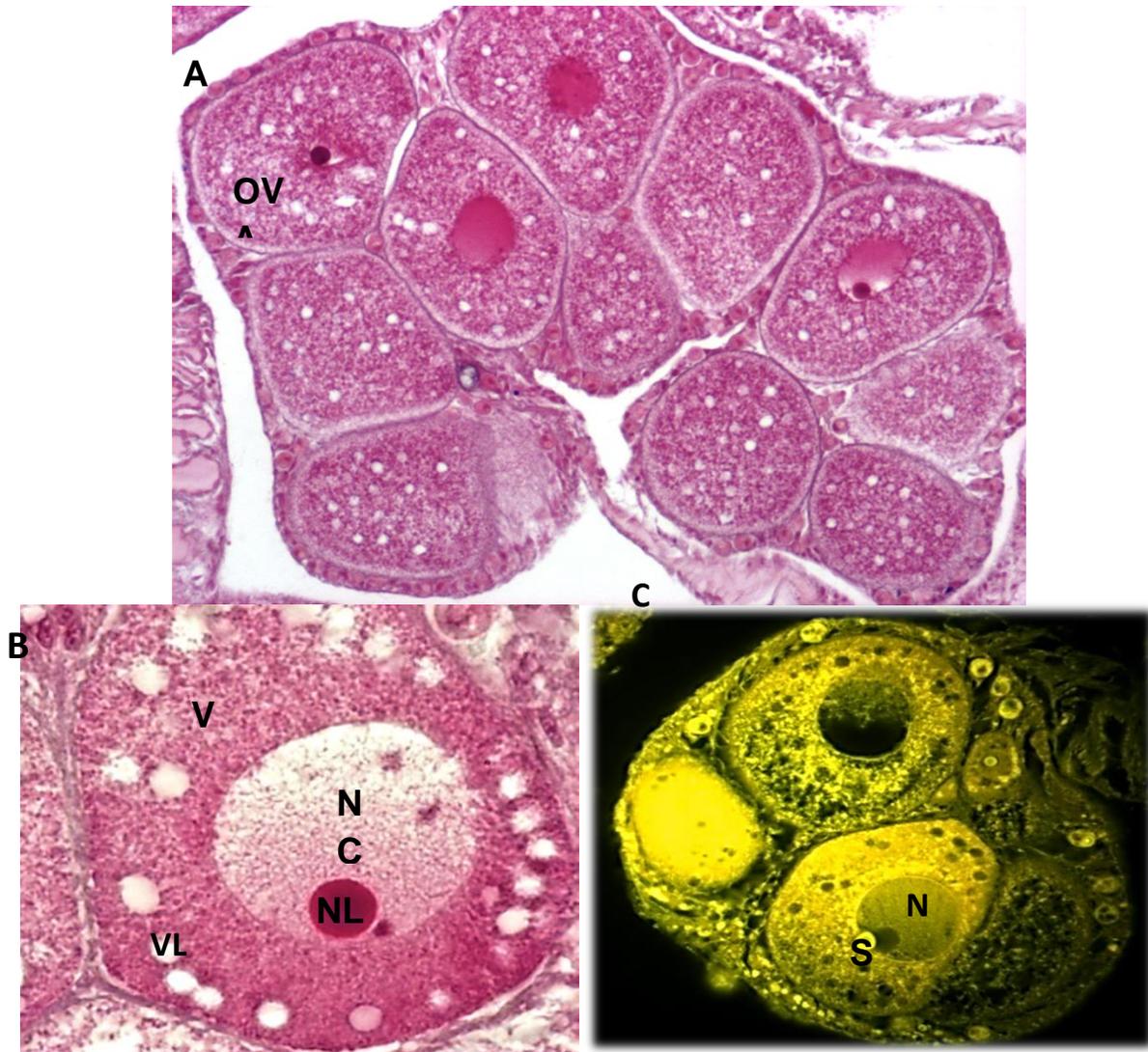
**Figura 12.** Fotografía de un ovario de *Pocillopora verrucosa* estadio II. Tomada a 20x. Contiene ovocitos con algunas vacuolas lipídicas (VL), S= simbioses, Mg= mesoglía, M=mesenterio, =filamento mesentérico, Cg= Canal gastrovascular, Ci= Células intersticiales, =Células digestivas del epitelio, Cme= Células musculares del epitelio. Tinción Hematoxilina-Eosina.

**Estadios III.** Gónada con mayor número de ovocitos en vitelogénesis. Estos se caracterizan por presentar un aumento de vacuolas lipídicas y citoplasma con gran cantidad de vitelo, lo que les da una apariencia granulosa. Tamaño de ovocitos entre 40-80  $\mu\text{m}$  para ambas especies. También se observó que la gónada está rodeada por los simbioses (Figura 13).



**Figura 13.** A. Gónada de *Pocillopora meandrina*. Fotografía tomada a 20x. B. Ovocito estadio III; foto tomada a 100x. VL= vacuolas lipídicas, GV= gránulos de vitelo, NL=nucléolo, Nc=núcleo. C. Evidencia de simbioses rodeando la gónada. Fotografía tomada con microscopio de fluorescencia, D. Simbioses (S); fotografía tomada a 100x. Tinción Hematoxilina-eosina.

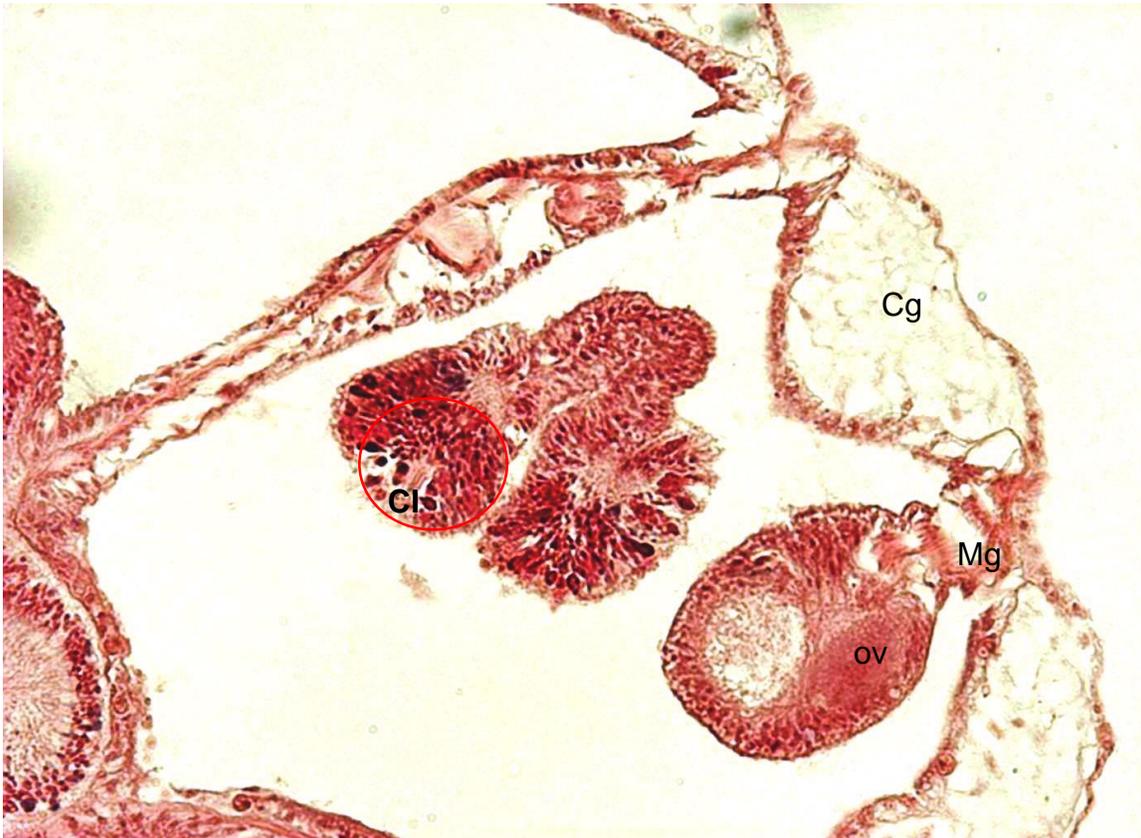
**Estadio IV.** Las gónadas presentan más ovocitos en vitelogénesis avanzada; citoplasma con apariencia granulosa al debido a que contienen una gran cantidad de vitelo, motivo por el que fueron catalogados como maduros. Además en este estadio se observaron simbiontes migrando al nucléolo de los ovocitos. El tamaño de estos ovocitos fue de 86 -100  $\mu\text{m}$  para *Pocillopora meandrina* y de 76 a 85  $\mu\text{m}$  en *Pocillopora verrucosa* (Figura 14).



**Figura 14.** A. Gónada con ovocitos maduros, fotografía a 20x. B. Ovocito maduro a 100x, se observa gran cantidad de vitelo (V) y vacuolas lipídicas (VL). C. fotografía a 60 x migración del simbionte (S) al núcleo del ovocito maduro. Tinción Hematoxilina-Eosina.

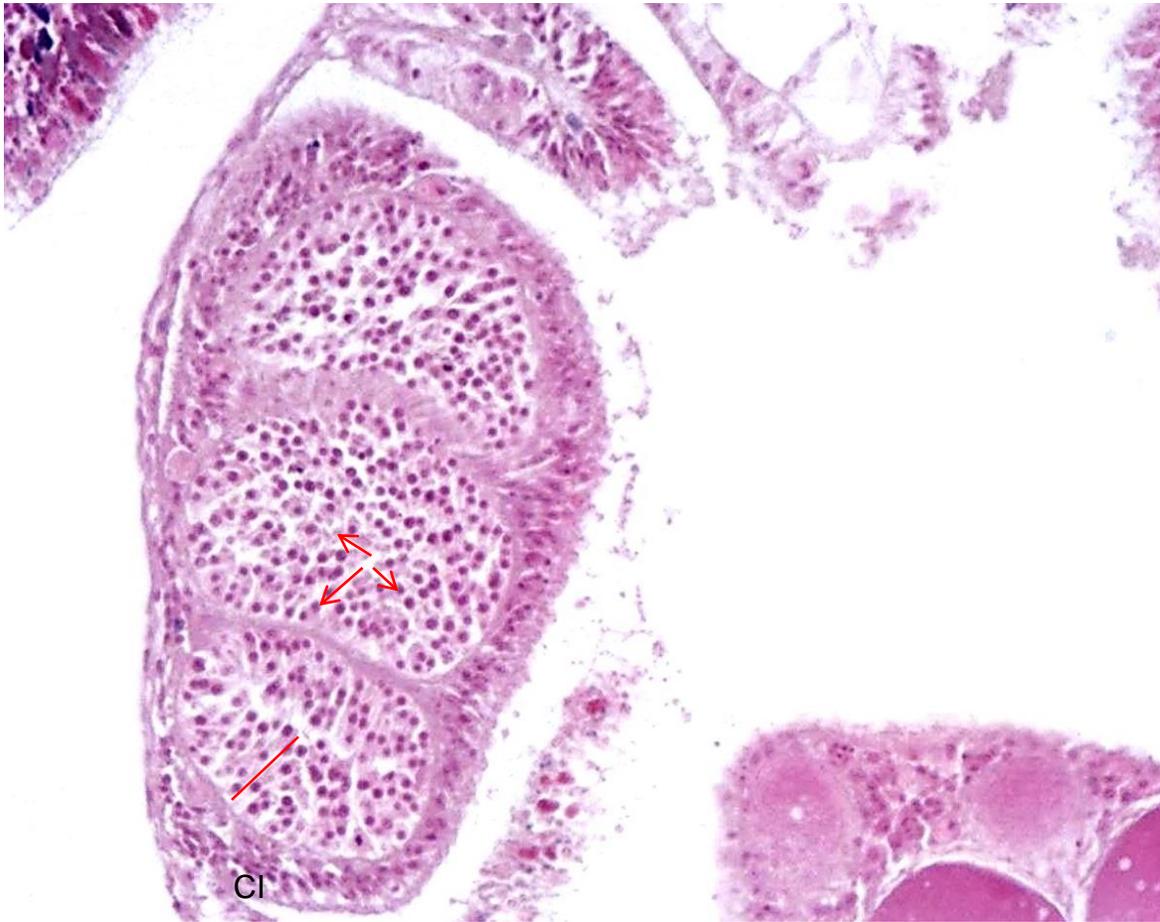
## Espermatogénesis

**Estadio I.** Se caracteriza por la presencia de células intersticiales agrupadas en una estructura en forma de racimo. Las células se caracterizan por ser ovaladas y sin nucléolo y núcleo visible (Figura 15).



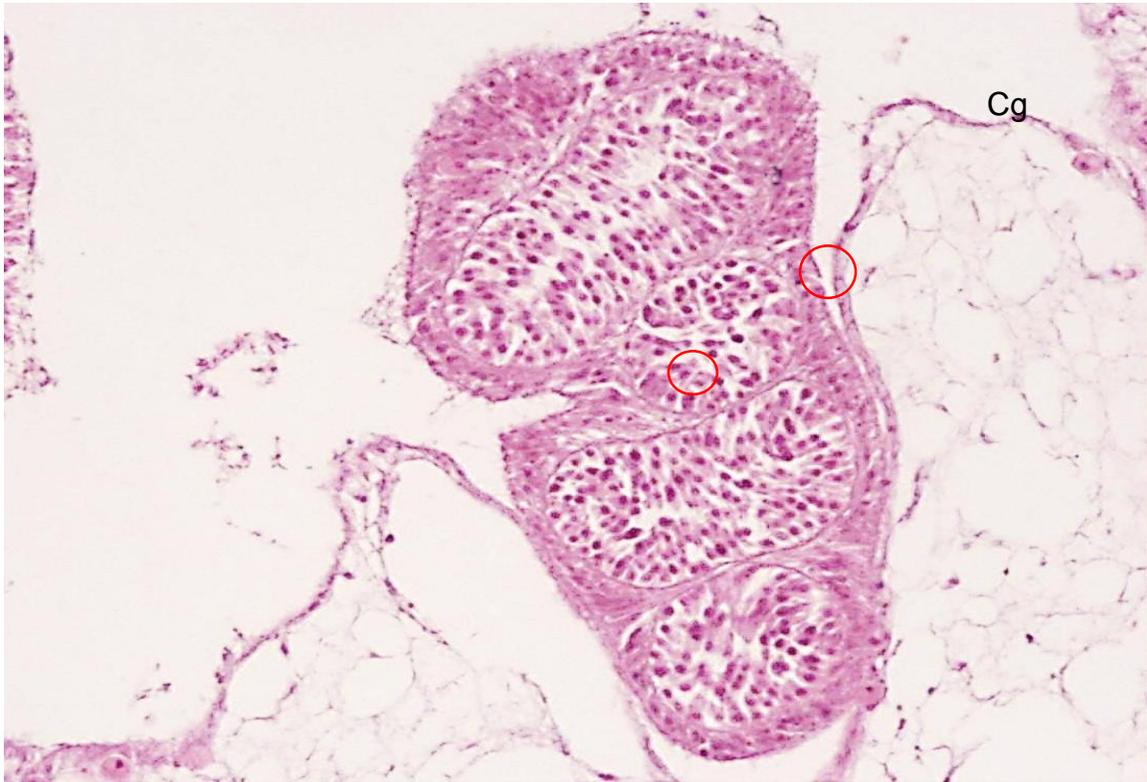
**Figura 15.** Fotografía de *Pocillopora verrucosa* tomada a 20x. Ci= células intersticiales, Ov=Ovocito, Cg= Canal gastrovascular, Mg= Mesoglea se extiende para formar la gónada.

**Estadio II.** Se observó una mayor cantidad de núcleos, de un tamaño menor al de las células intersticiales. Se encuentran agrupadas en forma lineal o tubular, algunas células comienzan a migrar hacia la periferia del espermario, dando espacio para el desarrollo de las nuevas estructuras reproductivas. Estas células aun no presentan flagelos (Figura 16).



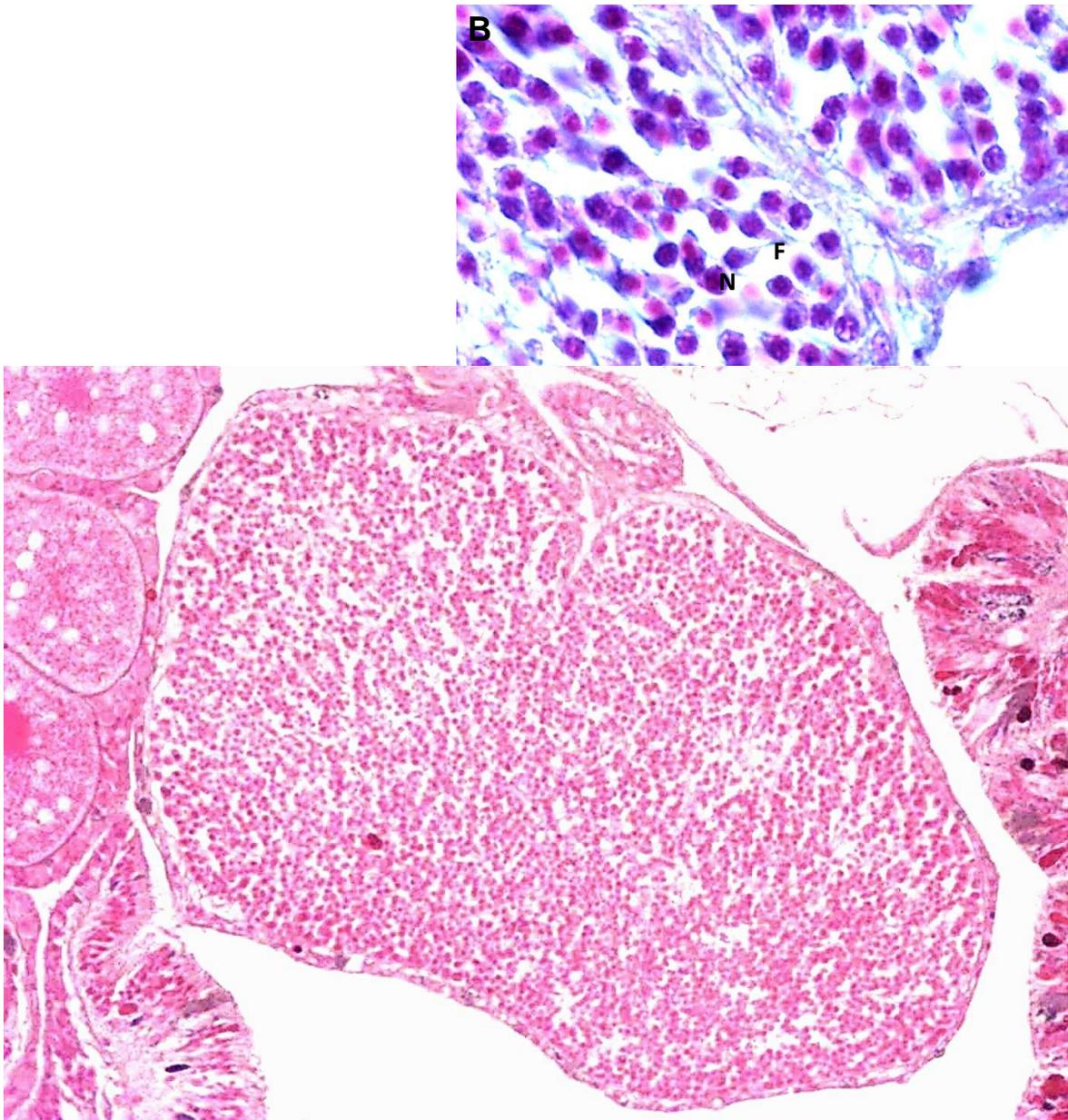
**Figura 16.** Fotografía de *Pocillopora meandrina* tomada a 20x. La línea roja muestra el acomodo tubular de los espermatocitos. Las flechas marcan el inicio la migración hacia la periferia. Se observa una gran cantidad de células intersticiales (CI) rodeando la gónada.

**Estadio III.** Espermarios de mayor tamaño, los cuales contienen una gran cantidad de espermatocitos y escasos espermatozoides (Figura 17).



**Figura 17.** Fotografía de *Pocillopora meandrina* tomada a 20x. Los círculos rojos muestran la presencia de espermatozoides en el espermario. Se observa el canal gastrovascular (Cg), tejido por el cual los pólipos se comunican. Tinción Hematoxilina-Eosina.

**Estadio IV.** Espermatario con gran cantidad de espermatozoides y escasos espermatocitos (Figura 18).



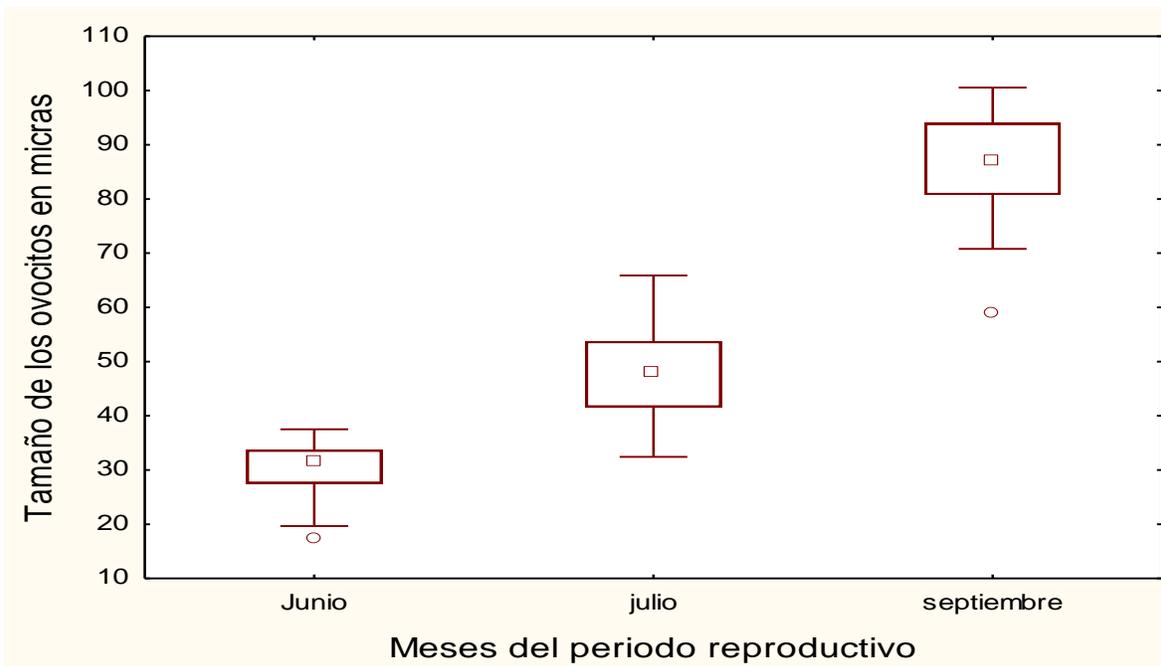
**Figura 18.** A. Espermatario de *Pocillopora meandrina* con gran cantidad de espermatozoides y pocos espermatocitos, fotografía tomada a 20x. B. Fotografía a 100x de espermatozoides, N= Núcleo del espermatozoide, F= flagelo del espermatozoide.

- **Análisis cuantitativo**

### Tamaño de los ovocitos

- ***Pocillopora meandrina***

Debido a que los ovocitos se desarrollaron de manera asincrónica, en un mismo mes encontramos diferentes tamaños de diámetro teórico. La tendencia es al aumento del diámetro con el paso del tiempo (Figura 19). En el mes de junio los ovocitos midieron de 16 a 37.5 $\mu$  con una media de 27 $\mu$ . En julio el tamaño mínimo fue de 19.7  $\mu$ , un máximo de 66 $\mu$  y un promedio de 46.3  $\mu$ . En septiembre se encontraron ovocitos desde 58.8 $\mu$  a 100 $\mu$ .

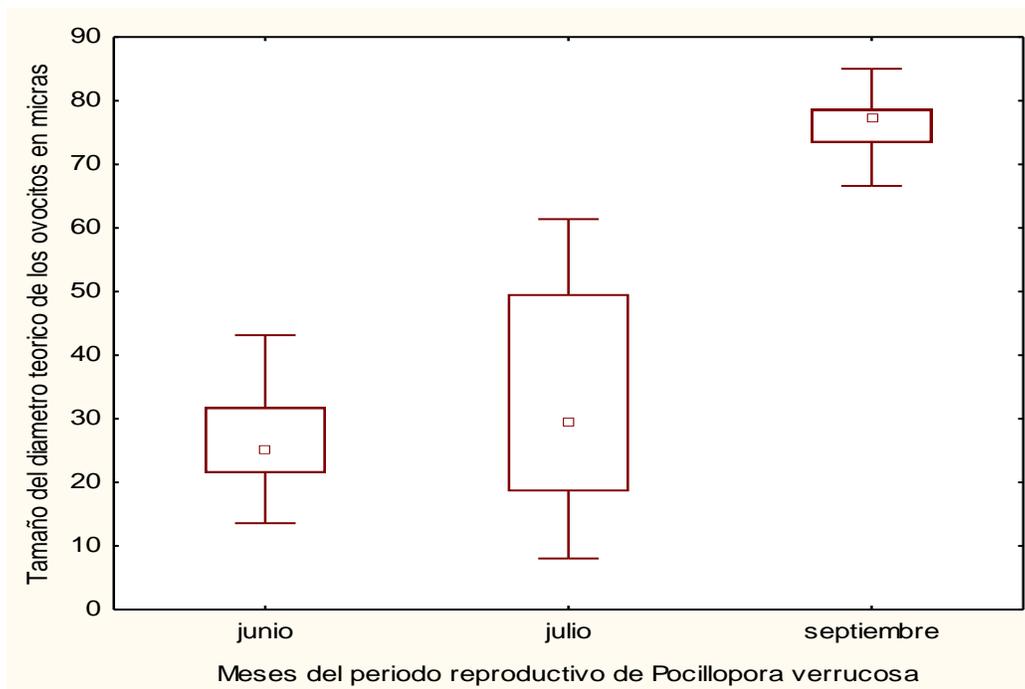


**Figura 19.** Medidas del diámetro teórico de los ovocitos encontrados durante el periodo reproductivo de *Pocillopora meandrina*. Los círculos son datos no frecuentes y fuera del rango de dispersión (outliers). El rectángulo mayor contiene del 25 al 75 % de los datos y el rectángulo pequeño representa la media de los datos en cada mes.

El análisis de variancia dio un valor de  $F(2, 63)=254.69$ , y una  $p<0.05$ , lo que indica que hay diferencias significativas entre las medias de los ovocitos entre los meses. Esto fue reafirmado con la prueba de Tukey.

- ***Pocillopora verrucosa***

También presentaron diferencias entre los tamaños medios del diámetro teórico de los ovocitos. Al iniciar la gametogénesis los ovocitos midieron de 10 a 43  $\mu\text{m}$  con una media de 24.8  $\mu\text{m}$ . Al mes siguiente los ovocitos median de 10  $\mu\text{m}$  a 61  $\mu\text{m}$ . Y en septiembre se encontraron ovocitos de 66-85  $\mu\text{m}$ . (Figura 20).

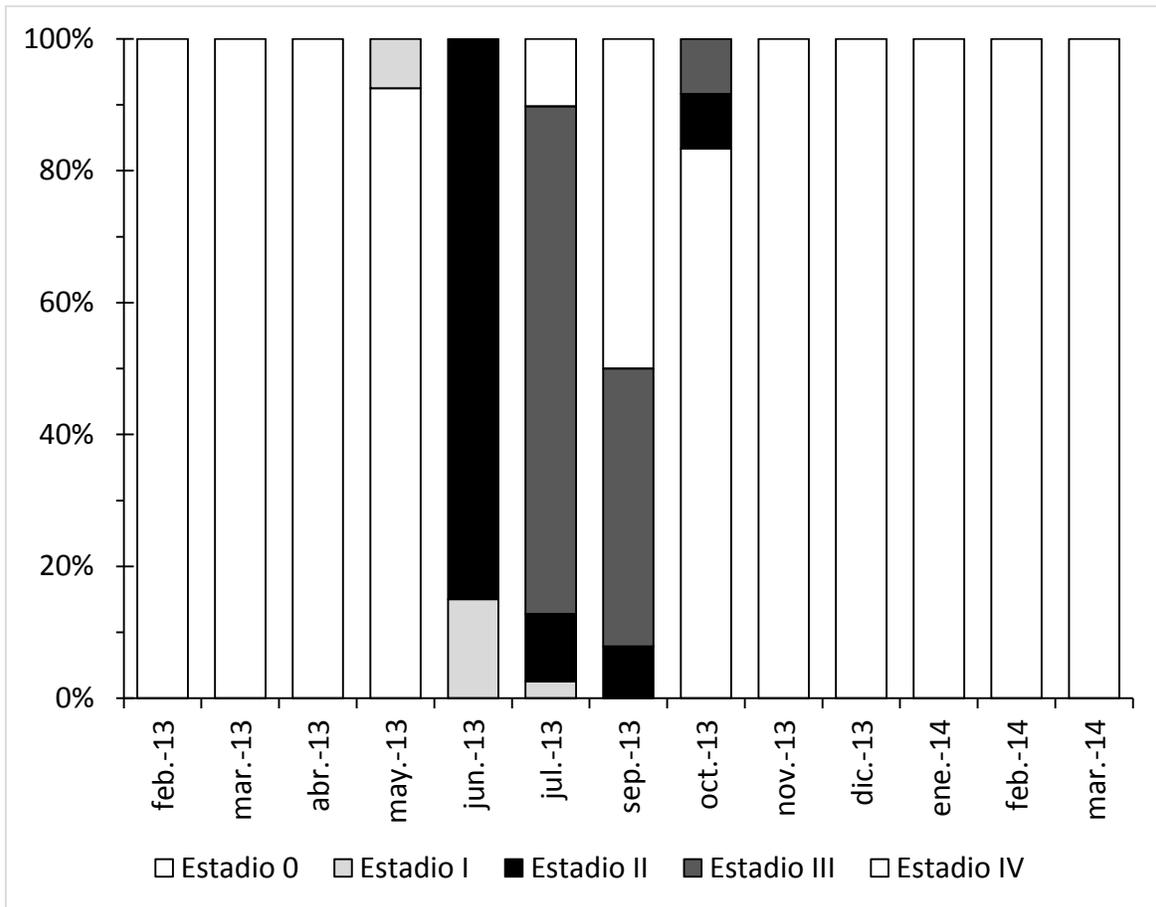


**Figura 20.** Medidas del diámetro teórico de los ovocitos encontrados durante el periodo reproductivo de *Pocillopora verrucosa*. El rectángulo mayor contiene del 25 al 75 % de los datos y el rectángulo pequeño representa la media de los datos en cada mes.

La prueba de Kruskal Wallis indicó que existen diferencias significativas ( $H=67.57$ ,  $p<0.05$ ) entre los tamaños encontrados cada mes. La prueba de Tukey reveló que las diferencias significativas se dan entre los meses más alejados, es decir al iniciar la gametogénesis (junio) y al final del periodo reproductivo (septiembre).

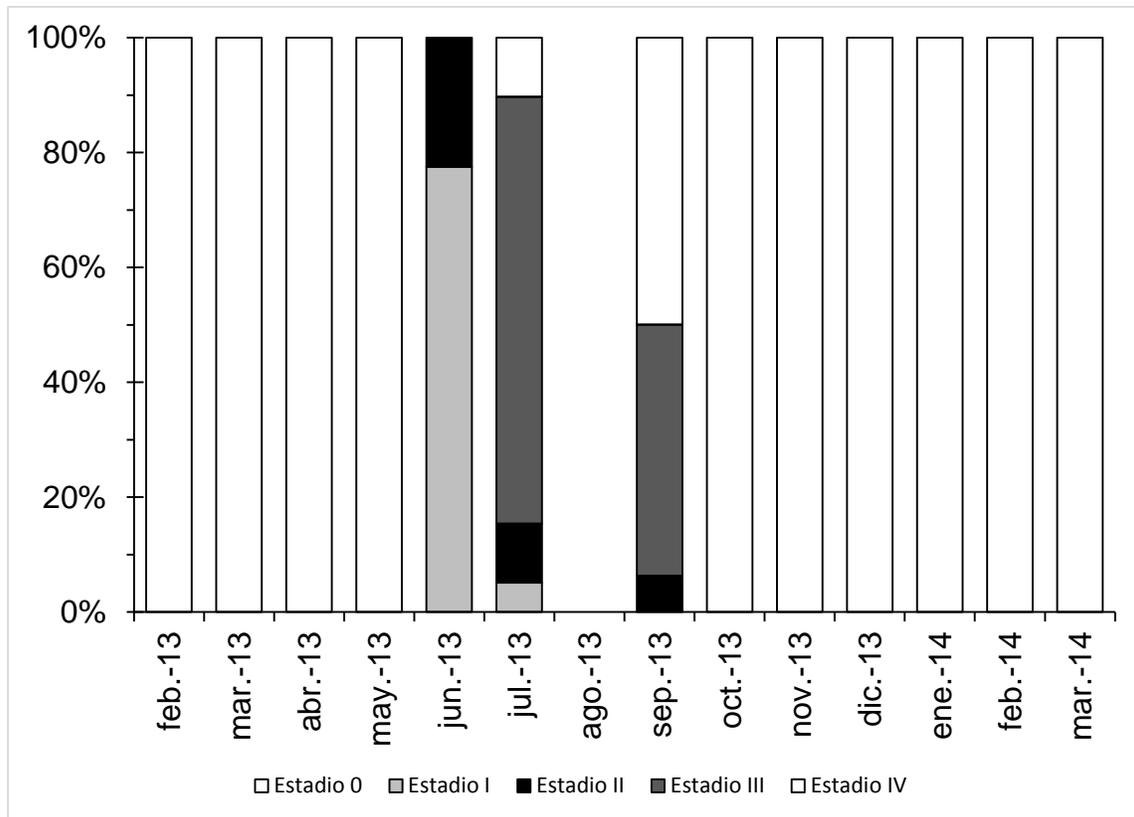
- **Distribución temporal de los estadios**

El análisis cuantitativo de la frecuencia de los estadios indicó lo siguiente: en *Pocillopora meandrina*, ovocitos en estadio I se observaron de mayo a julio. En junio algunos ovocitos ya se encontraron en estadio II. Y a partir de julio comenzaron aparecer ovocitos en estadio III. De julio a septiembre los ovocitos ya se encontraban en estadio III y algunos en estadio IV. Mientras que en octubre solo se encontraron cuatro ovocitos en estadio II. (Figura 21)



**Figura 21.** Distribución temporal de los estadios en *Pocillopora meandrina* durante el periodo de estudio.

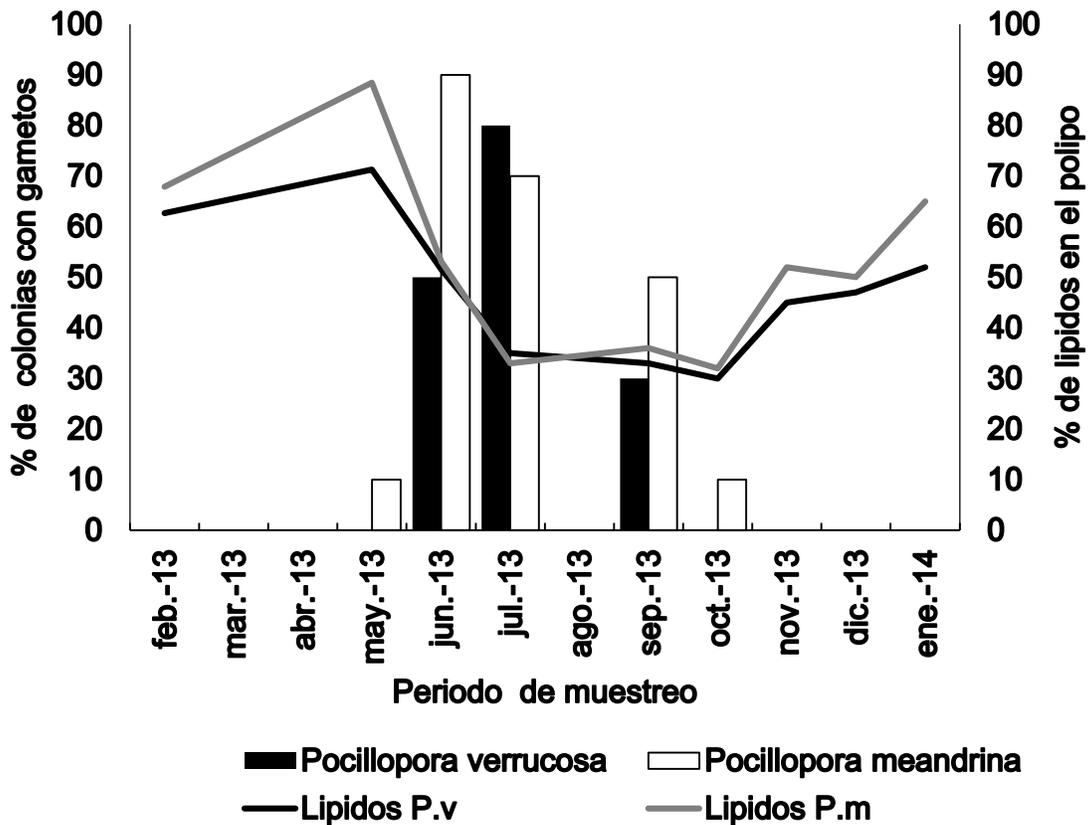
En *Pocillopora verrucosa* los ovocitos en estadio I fueron los más abundantes durante junio, no obstante la presencia de ovocitos en estadio II también fue registrada, y estos fueron observados hasta el final del ciclo reproductivo (septiembre). Los ovocitos en estadio III fueron observados de julio a septiembre, mientras que muy pocos ovocitos en estadio IV fueron vistos en septiembre (Figura 22).



**Figura 22.** Periodicidad de los estadios en *Pocillopora verrucosa* durante un ciclo anual.

- **RELACION DE LOS LIPIDOS CON EL CICLO GAMETOGENICO**

En la Figura 23 se aprecia como el pólipo acumula lípidos antes de la aparición de gónadas (febrero a abril). La gametogénesis en *Pocillopora verrucosa* inició cuando el 70% de su tejido contenía lípidos, y un 90% en el caso de *Pocillopora meandrina*. Una vez terminada la temporada reproductiva los corales comienzan a incrementar paulatinamente las reservas de lípidos para la siguiente temporada reproductiva (figura 23).



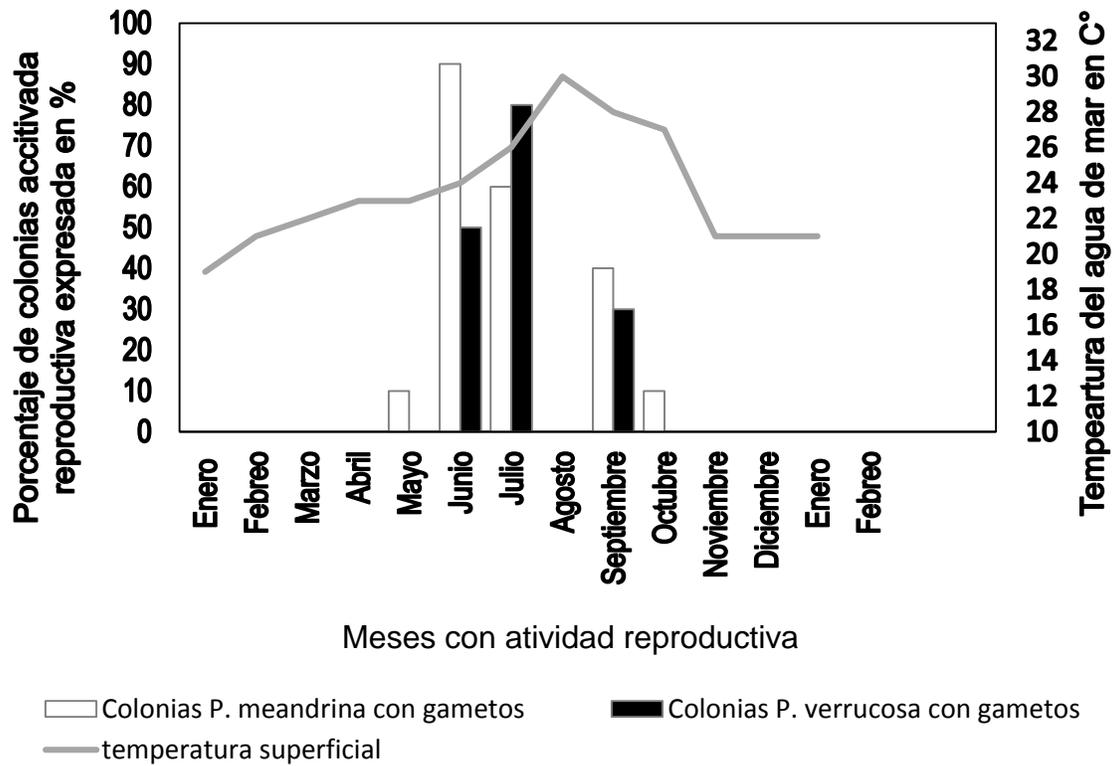
**Figura 23.** Distribución temporal de los lípidos en los pólipos de *Pocillopora meandrina* (P.m) y *Pocillopora verrucosa* (P.v) y su relación con la gametogénesis.

- **RELACION DEL CICLO REPRODUCTIVO CON LA VARIABLES AMBIENTALES.**

Se relacionó el porcentaje de colonias con actividad reproductiva con los factores ambientales (Anexo 4). La correlación del porcentaje de colonias con la cantidad de sedimento no fue significativa, aunque se observa que la tasa de sedimentación fue más baja durante el periodo reproductivo.

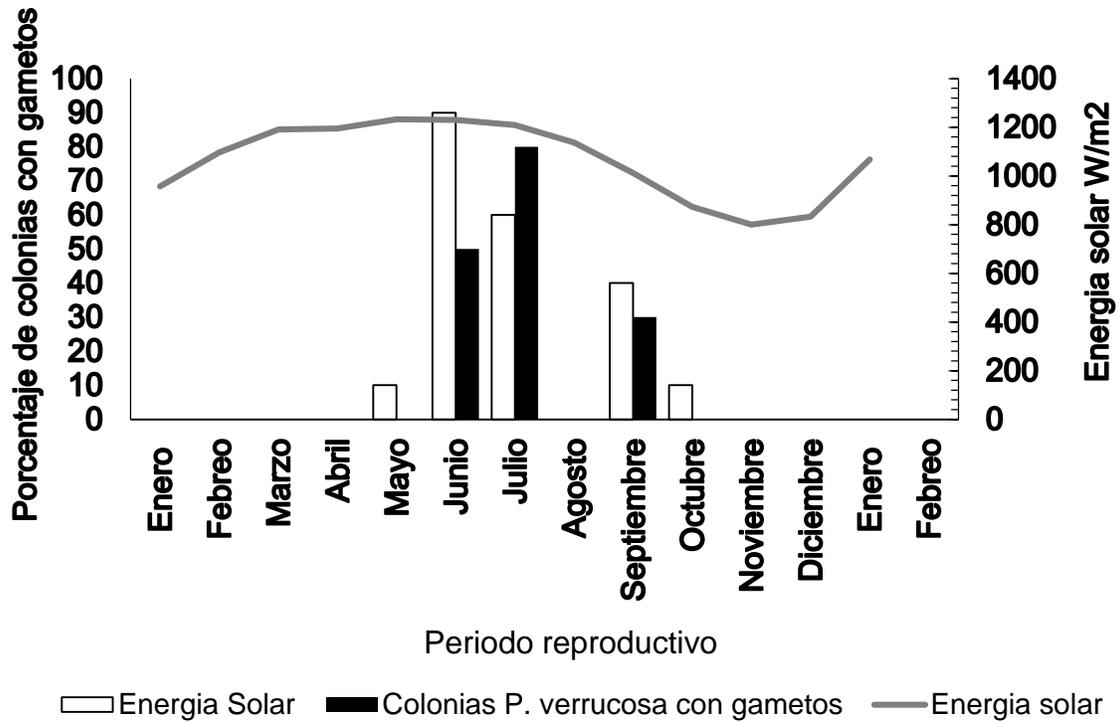
Los valores de luz fotosintéticamente activa (PAR) y los valores de Clorofila amuestran una tendencia relacionada con la producción de gametos. Sin embargo la correlación no fue significativa. A continuación solo se describen las correlaciones que fueron significativas.

El porcentaje de colonias con actividad reproductivas tuvo una correlación positiva con la temperatura en *Pocillopora meandrina* ( $r^2 = 0.621$  y  $P=0.02$ ). Estos resultados nos indican que el 62% de las colonias presentó actividad reproductiva al incrementarse la temperatura. Sin embargo, esta misma correlación no fue significativa para *P. verrucosa*. (Figura 24).



**Figura 24.** Distribución temporal del periodo reproductivo de ambas especies y su relación con la temperatura superficial del mar.

La cantidad de colonias con gametos y cantidad de energía solar emitida fue significativa para ambas especies de coral. En el caso de *Pocillopora meandrina* el valor de  $r^2$  fue de 0.79 con una  $P = 0.001$ , y en *P. verrucosa* la  $r^2$  fue de 0.74 y  $P = 0.004$ .



**Figura 25.** Representación del periodo reproductivo de ambas especies y su relación con la cantidad de energía solar.

## DISCUSION

- **Estructura histológica y generalidades.**

El desarrollo de la gónada en ambas especies, como una extensión del mesenterio, donde cada pólipos puede llegar a desarrollar un máximo de doce gónadas y la proporción de estas suele ser uno a uno cuando alcanzan la madurez es similar a lo descrito para *Pocillopora verrucosa* en el Mar Rojo y Republica de las Malvidas (Fadlallah, 1985; Sier, 1994). Un resultado similar también informaron Ser (1994) y Hirose *et al.* (2000). No obstante se observó que *Pocillopora verrucosa* puede desarrollar ambas gónadas en un mismo mesenterio tal como lo ha reportado Kinzie (1993).

Nosotros encontramos que cada pólipos desarrolla en promedio cinco gónadas en el caso de *P. meandrina* y de 3 a 4 gónadas en *P. verrucosa*. Los ovarios desarrollan ovocitos con múltiplos de tres con un máximo de 18 en *P. meandrina* y un máximo de 15 para *P. verrucosa*. Otros estudios en *P. meandrina* no hacen mención a resultados similares. En cambio en *P. verrucosa* la cantidad de gónadas y ovocitos por pólipos que cuantificamos es mayor a lo reportado por Hirose *et al.* (2000), quien en 1996 encontró que esta especie produce de 3 a 5 gónadas por pólipos y en promedio ocho ovocitos por gónada; en 1999 este mismo autor reportó que cada pólipos contenía en promedio dos gónadas, pero produjeron una mayor cantidad de ovocitos, con un máximo de catorce. Sin embargo nuestros resultados muestran un número menor de ovocitos que lo reportado por Kinzie (1993), quien informó un máximo de veinticuatro ovocitos por ovario.

- **Gametogénesis**

La información generada acerca del ciclo reproductivo de ambas especies fue obtenida de la punta de las ramas de cada colonia. Sin embargo, Kinzie (1993) menciona no haber encontrado desarrollo de gónadas en pólipos localizados en las punta de las ramas de *P. verrucosa* en Okinawa, Japón.

En Bahía de La Paz *P. meandrina* y *P. verrucosa* se reproducen una vez al año de manera sexual, utilizando como estrategia el hermafroditismo simultáneo; de acuerdo con Harrison (1985), el 68% de los corales escleractínios emplean también esta estrategia. Fiene-Severns (1998) y Riddle (2008) reportaron esta estrategia en *P. meandrina* en Hawaïi. En el caso de *P. verrucosa* varios autores ya lo habían reportado, entre ellos Glynn et al. (1991) y Fadlallah (1985) en el Mar Rojo. Kinzie (1993) observó la misma estrategia reproductiva en los corales de las islas de Okinawa, mientras que Ser et al. (1994) lo reportaron para los corales de las Malvidas, y Kruger y Schleyer (1998) informaron resultados similares para los corales de KwaZulu-Natal al sureste de africa.

La hipótesis de que el desove pudo haberse realizado en agosto, en las dos especies estudiadas, no concuerda con lo reportado por Fiene-Severns (1998) y con Riddle (2008) para *P. meandrina*. Fiene-Severns (1998), observó el desove de gametos de esta especie de coral en las costas de Hawaïi durante un periodo de siete años (1991-1998) reportando que el desove se da cinco días después de la luna llena durante la primavera (abril y mayo). Este autor también reportó la presencia de entre once y veintiún plánulas durante todo el año, encontrando una mayor cantidad de octubre a diciembre. Mientras que Riddle (2008) menciona que el desove se lleva a cabo durante mayo y junio en las primaras horas del día.

El periodo de gametogenesis en *P. verrucosa* abarcó de junio a septiembre, encontrando solo gametos, concordando con lo informado por Fadlallah (1985), Kinzie (1993), Ser et al. (1994), Five-Server (1998), y Kruger y Schleyer (1998) quienes solo encontraron evidencia de gametos. No obstante la temporalidad de la etapa de gametogénesis fue distinta; Fadlallah (1985) hizo mención de que esta

especie en el Mar Rojo tiene un periodo de gametogenesis durante la primavera en los meses de marzo a abril, y que el desove fue realizado durante la luna nueva de mayo y la primer semana de junio, mientras que Sier *et al.* (1994) observaron el desove en marzo y abril en 1991 en la Republica de las Malvides. Por otra parte, Kinzie (1993) observó que el desove ocurrió durante mayo y junio y de uno a seis días después de la luna nueva. Contrariamente Kruger y Schleyer (1998) lo reportan de octubre a enero, mientras que Hirose *et al.* (2000) lo observaron durante la luna nueva de julio en 1998.

No fueron encontradas plánulas a pesar de que se muestrearon colonias considerables como maduras (diámetro superior 30 cm). Estos resultados no concuerdan con Stimson (1978) quien menciona encontró plánulas en colonias desde 6 cm de diámetro durante junio y julio. Schleyer y Loya (1995) también reportaron haber encontrado entre 3 a 5 plánulas en julio y agosto de 1981 y 1982.

La ausencia de plánulas en ambas especies puede ser explicada bajo el criterio de Steiner y Cortés (1996) quienes afirmaron que la anatomía del esperma indica la estrategia empleada. Si las células masculinas presentan cabeza en forma de bala, puede ser un indicio de que la especie presenta fecundación interna. Esta característica no fue observada en las células masculinas, lo cual puede deberse solo a la técnica empleada. No obstante en base a la literatura podemos inferir que ambas especies en nuestras costas, así como aparentemente en todo el Pacífico oriental hay desove de gametos al medio y no fecundación interna, como ha sido registrado en otros continentes.

En cuanto al tamaño del diámetro teórico máximo de los ovocitos nosotros obtuvimos una media de 80  $\mu\text{m}$  y un máximo de 116  $\mu\text{m}$  en *Pocillopora meandrina*, en *Pocillopora verrucosa* en promedio 76  $\mu\text{m}$  y un máximo de 85  $\mu\text{m}$ . En *Pocillopora verrucosa* nuestras medidas son superiores a lo encontrado por Sier (1994), quien obtuvo una media de 53.5  $\mu\text{m}$ , cuando los ovocitos se encontraron maduros. No obstante los ovocitos presentaron menor tamaño si los comparamos con Kinzer (1993) quien obtuvo diámetros de 100  $\mu\text{m}$  y 150  $\mu\text{m}$  aún sin la presencia de las zooxantelas. Fadlallah (1985) reportó ovocitos con un tamaño máximo de 148  $\mu\text{m}$  y

Kruger y Schleyer (1998) reportaron ovocitos con promedios de 149  $\mu\text{m}$ , y una desviación estándar de 25  $\mu\text{m}$ . El tamaño de los ovocitos que los autores anteriores han reportado incrementa la incertidumbre de que el desove pudo haberse llevado a cabo en agosto o los gametos se encontraban en un proceso de reabsorción. Esto nos hace sospechar que los ovocitos clasificados como maduros y en demás estadios primarios no se encontraban listos para ser expulsados al medio, o bien el tamaño de los ovocitos solo es un reflejo de las condiciones ambientales a las que están expuestas las colonias y estas varían de acuerdo a la localidad.

- **Comparación con trabajos del Pacífico Oriental**

La presencia de gametos maduros en julio y septiembre en *P. verrucosa* es similar a lo reportado por Glynn et al. (1991), quienes observaron una alta incidencia de gametos maduros en agosto y septiembre. No hay otros reportes para esta especie en todo el Pacífico oriental.

Si comparamos los resultados de las especies estudiadas con el ciclo reproductivo de *Pocillopora damicornis* en el Pacífico Mexicano, encontramos que no todas las colonias muestreadas presentaron evidencia de gametos a pesar de que fueron etiquetadas tomando en cuenta algunos criterios que nos garantizaran eran colonias maduras para la reproducción sexual. Esto difiere con lo que reportan Rodríguez Troncoso (2004), quien indica que todas las colonias de *P. damicornis* presentaron gametos. Por otra parte nuestras colonias presentaron cierta tendencia producir primero los gametos femeninos, pudiendo encontrar pólipos con solo ovarios o con espermatarios. Esto contrasta con lo reportado por Rodríguez Troncoso (2004), quien menciona que las colonias de *P. damicornis* en las costas de Oaxaca presentaron mayor número de gónadas con gametos masculinos y que no fue observada la presencia de pólipos solo con ovarios. Este mismo autor también menciona haber encontrado un máximo de 15 ovocitos, lo cual es similar a lo que se encontró en *P. verrucosa*, pero no en *P. meandrina* quien produjo un máximo de 18 ovocitos por gónada. El periodo de reproducción de *P. meandrina* inicia a la par de *P. damicornis*

pero termina un mes después, en cambio la gametogénesis de *P. verrucosa* inicia un mes después de *P. damicornis* y terminan al mismo tiempo, a pesar de habitar en distintas localidades (Rodríguez Troncoso, 2004).

En nuestro estudio el periodo de gametogénesis fue ligeramente más corto que lo reportado por Glynn *et al.* (1991) y Chávez-Romo (2007), quienes mencionaron haber encontrado evidencia de reproducción sexual de julio a noviembre. A pesar de que el trabajo de Chávez-Romo (2007) fue realizado casi en el mismo sitio que el presente trabajo, nuestros resultados no fueron similares, por lo que probablemente las condiciones ambientales fueron diferentes.

La presencia de gameteos maduros encontrada en este estudio es un acontecimiento que poco se ha documentado, con excepción de lo encontrado por Chávez-Romo y Reyes Bonilla (2007), esto es un punto favorable ya que otros estudios realizados en Nayarit por Carpizo-Ituarte *et al.* (2011) o Rodríguez-Troncoso, (2011) no encontraron evidencia de gametos maduros en *Pocillopora damicornis*.

- **Relación de los lípidos con el ciclo reproductivo**

En ambas especies los valores de lípidos más altos fueron encontrados durante la primavera y el invierno. Esto permitió que durante el verano y otoño, los lípidos fueran empleados en la producción de gónadas y gametos. Probablemente las condiciones ambientales fueron favorables para que los corales emplearan la reproducción sexual. De acuerdo con Davies (1984), en condiciones normales, usualmente el simbiote provee de más del 90% de sus requerimientos energéticos diarios al hospedero, recursos que se utilizan principalmente para la respiración, el excedente de energía es almacenada en forma de lípidos. De esta manera, el organismo mantiene productos energéticos que son utilizados en los periodos donde las condiciones del medio ambiente no son las idóneas (Fitt *et al.*, 2000; Baird *et al.*, 2009) o bien durante el periodo reproductivo. No obstante, Stimson (1987), plantea que los lípidos presentan fluctuaciones estacionales, donde los

valores más bajos suelen presentarse en invierno y los más altos en verano, esta periodicidad es opuesta a lo encontrado en el presente estudio.

Algunos autores como Okut *et al.* (2003), mencionan que valores altos de lípidos durante el verano están relacionados con una mayor actividad fotosintética debido a valores altos de luz. A pesar de que nosotros obtuvimos niveles de energía solar más altos durante el verano, los niveles de lípidos no se encuentran relacionados con esta variable.

Nuestros valores altos de lípidos durante el invierno y primavera concuerdan con lo reportado por Stimson (1978) y Fitt *et al.* (2000) han reportado que los niveles más altos de zooxantelas y concentraciones de clorofila a, se presentan durante la temporada fría. Por lo que durante este periodo el coral tiene mayor posibilidad de incrementar sus reservas energéticas. Esta información coincide con nuestros resultados, nuestros valores de clorofila a más altos fueron registrados durante el invierno y primavera.

Hernández-Urraca (2010), determinó la cantidad de lípidos de *Pocillopora damicornis* en Bahía de Huatulco, Guerrero, encontró valores que oscilan entre el 25 y 43%, esto es inferior a nuestros valores máximos obtenidos un 90% en *Pocillopora meandrina* y un 70% en *Pocillopora verrucosa*, estas diferencias pueden ser explicadas por las condiciones ambientales distintas que prevalecen en cada localidad.

- **Relación del evento reproductivo con las variables ambientales**

La reproducción de estos corales (scleractinios) está mediada por factores endógenos y exógenos, los primeros se basan en señales proporcionadas por los sistemas endocrinos y/o neuroendocrinos (cambios hormonales), mientras que el segundo se refieren a los cambios en las condiciones ambientales (Giese y Pearse, 1974) dichos factores pueden actuar solos o en combinación (Harrison y Wallace, 1990; Glynn *et al.*, 1994; 1996; Vizcaíno-Ochoa, 2003).

En este estudio el periodo de gametogénesis de ambos corales solo tuvo una correlación significativa con la energía solar y la temperatura superficial del mar. La correlación de la energía solar obtuvo un valor más alto ( $r^2= 0.79$  y  $P = 0.001$  en *Pocillopora meandrina* y  $r^2= 0.74$  y  $P = 0.004$  en *Pocillopora verrucosa*), que la temperatura superficial del mar ( $r^2$  de 0.621 y  $P = 0.02$  en *Pocillopora meandrina*). La correlación con la temperatura ya había sido reportada en algunos otros trabajos que estudiaron ciclo reproductivo en especies del género (Glynn *et al.*, 1991 y Vizcaíno-Ochoa, 2003).

El alto valor de la correlación de la energía solar con el ciclo reproductivo puede ser fácilmente explicado si pensamos que la intensidad lumínica está ligada al proceso fotosintético de *Symbiodinium*, por lo cual el coral recibe la mayor parte de los nutrientes (Glynn 1996). Seguramente esto se encuentra relacionado con la tasa de sedimentación en el sitio, aparentemente baja, lo que no interfiere en los procesos biológicos del coral. Cabe mencionar que aunque la correlación del ciclo con la tasa de sedimentación no fue estadísticamente significativa si se aprecia una correlación negativa entre las variables, esto es, a mayor tasa de sedimentación menor actividad gametogénica. Lo anterior puede ser reafirmado si partimos de la información que Richmond (1987) y Fabricius (2005), quienes mencionan que las tasas altas de sedimentación disminuyen la intensidad lumínica y por ende la producción de nutrientes producidos mediante fotosíntesis, estos son indispensables para que el coral crezca, se desarrolle y reproduzca de manera exitosa.

Nosotros observamos que la gametogénesis se presentó a una temperatura promedio mensual de 23 a 28 °C en *Pocillopora meandrina* y de 24 a 30 °C en *Pocillopora verrucosa*. Lo anterior difiere con lo reportado en Fadlallah (1985) para *Pocillopora verrucosa* quien relacionó la gametogénesis de esta especie con un rango de temperatura de 26 a 29 °C. Sin embargo nuestros resultados tienen mayor similitud con lo informado por Chávez-Romo (2007), quien estudio a *Pocillopora damicornis* muy cerca de área de estudio del presente trabajo, e hizo mención de que la gametogénesis comienza a una temperatura superior a los 24 °C.

## I. CONCLUSIONES

- Ambas especies son hermafroditas debido a que presentan desarrollo de gónadas femeninas y masculinas las cuales maduran simultáneamente.
- Los corales liberan solo gametos a la columna de agua para su fertilización ya que no se encontró evidencia de embriones o plánulas desarrolladas.
- La gametogénesis en *Pocillopora meandrina* ocurre durante un periodo de seis meses que abarca desde la primavera al otoño (mayo-octubre). Mientras que en *Pocillopora verrucosa* la gametogénesis duró solo cuatro meses (junio-septiembre).
- El desarrollo de los gametos es asincrónico, es decir que podemos observar ovocitos en diferentes estadios dentro de una misma gónada.
- Las reservas en forma de lípidos son empleadas durante la gametogénesis en ambas especies. Ya que la cantidad de lípidos en el pólipo disminuye hasta un 40% durante el proceso.
- Los factores ambientales que más influencia tuvieron con el ciclo reproductivo fueron la energía solar recibida y la temperatura superficial del mar.

## ANEXOS

### Anexo I. Formula de solución Davidson

La preparación del fijador lleva acabo mezclando las siguientes sustancias:

Por cada litro.

- 330 ml de alcohol etílico al 96%
- 220 ml de formol al 100%
- 115 ml de ácido acético glacial
- 335 ml de agua destilada

### Anexo II. Técnica de Tinción de Hematoxilina de Mayer/Floxina-Eosina de Humason (1979)

#### 1. Desparafinación:

- Hemo-De o Xilol por 15 min ( Repetir 3 veces)

- Lavado en agua – 10 min.

- Floxina/Eosina – 5 min.

#### 2. Hidratación.

- EtOH al 100% 5 min
- EtOH al 95% 5 min.
- EtOH al 80% -5 min
- EtOH al 50% 5 min.
- Agua destilada por 10 min. (Cambiar el agua por cada lavada)

#### 4. Deshidratación

- EtOH al 95% 5 min  
EtOH al 100% 5 min

#### 5. Aclaramiento:

- Hemo-De 5 min ( Repetir 2 veces)

#### 3. Tinción:

- Hematoxilina 15 min.



**Anexo III.** Características de gametos en el género *Pocillopora* en sus diferentes estadios propuesta por Glynn *et al.* (1991).

OVOGENESIS			ESPERMATOGENESIS	
Estadio	Tamaño $\mu\text{m}$	Descripción.	Tamaño $\mu\text{m}$	Descripción.
I	10-20	Células intersticiales con núcleos alargados y muy poco citoplasma. Se encuentran en el endodermo de los mesenterios o en la mesogléa	4	No se reconoce la migración de las células intersticiales
II		El núcleo continúa alargándose antes del inicio de la vitelogénesis.		En algunas ocasiones se observan como una extensión de la mesogléa.
III	40-80	Los ovocitos con núcleo muy evidente.		Más numerosos que en estadios anteriores, núcleos muy pequeños que se tiñen de magenta.
IV	100	El núcleo aparece condensado y en algunas ocasiones puede estar separado del material de la vitelogénesis, incremento de vacuolas de lípidos en el citoplasma. Presencia de zooxantelas.		Estadios equivalentes. Esperma aproximadamente de la mitad que en el estadio III y más densos, se tiñen de magenta. Generalmente se observan ramilletes de espermatozoides.

**Anexo IV.** Características de los gametos de *Pocillopora damicornis* Vizcaíno Ochoa (2003).

Estadios	Características	Meses	Observaciones
<b>Ovogénesis</b> <b>Estadio I</b>	Células pequeñas (<20 $\mu\text{m}$ ), aparecen al final de los mesenterios en la parte media de los pólipos.	mayo, junio 2002	
<b>Ovogénesis</b> <b>Estadio II</b>	Células con núcleos y nucléolos visibles (< 60 $\mu\text{m}$ ), membranas bien definidas y gran cantidad de vacuolas lipídicas	mayo, junio, julio y julio II	En los ovocitos de este estadio fue común observar atresias.
<b>Ovogénesis</b> <b>Estadio III</b>	Células > de 60 $\mu\text{m}$ , con gran cantidad de vitelo	junio , julio y julio II	
<b>Ovogénesis</b> <b>Estadio IV</b>	No fue posible observar gametos en este estadio.		
<b>Espermatogénesis</b> <b>Estadio I</b>	No fue posible observar gametos en este estadio		
<b>Espermatogénesis</b> <b>Estadio II</b>	Células agrupadas en el espermario,	junio y julio II	

---

con núcleos  
pequeño

**Espermatogénesis** Células más junio, julio y julio

**Estadio III** pequeñas II

que en el estadio  
anterior, agrupadas  
en la periferia del  
espermario, aún sin  
flagelos

**Espermatogénesis** No fue posible

**Estadio IV** observar gametos

en  
este estadio

---

**Anexo V.** Valor promedio mensual de los factores ambientales.

Mes	Temperatura	Sedimento	Energía Solar Recibida	PAR	CLA
<b>Enero</b>	20°C		956 W/m <sup>2</sup>	38.541	1.713
<b>Febrero</b>	19°C		1097 W/m <sup>2</sup>	46.847	1.461
<b>Marzo</b>	21°C		1190 W/m <sup>2</sup>	55.298	0.793
<b>Abril</b>	22°C		1194 W/m <sup>2</sup>	57.074	0.838
<b>Mayo</b>	23°C	0.5 g	1232 W/m <sup>2</sup>	59.405	1.137
<b>Junio</b>	24°C	0.3 g	1230 W/m <sup>2</sup>	56.143	0.953
<b>Julio</b>	24°C	0.4 g	1209 W/m <sup>2</sup>	52.280	0.749
<b>Agosto</b>	26°C	0.6 g	1136 W/m <sup>2</sup>	48.962	0.254
<b>Septiembre</b>	30°C	1.3 g	1011 W/m <sup>2</sup>	40.025	0.269
<b>Octubre</b>	28°C	1.8 g	873 W/m <sup>2</sup>	33.422	0.324
<b>Noviembre</b>	27°C	1.0 g	799 W/m <sup>2</sup>	29.446	0.811
<b>Diciembre</b>	21°C	3.1 g	833 W/m <sup>2</sup>	33.695	1.027
<b>Enero</b>	21°C	0.8 g	839 W/m <sup>2</sup>	40.920	0.606
<b>Febrero</b>	21°C	0.6 g	961 W/m <sup>2</sup>		
<b>Marzo</b>	21°C	0.5 g	1068 W/m <sup>2</sup>		

## BIBLIOGRAFÍA

- Aranceta-Garza F**, Cruz-Hernández P, Balart E. F, Reyes-Bonilla H. 2012. Effect of tropical storms on sexual and asexual reproduction in coral *Pocillopora verrucosa* subpopulations in the Gulf of California. *Coral Reefs* 31:1157–1167.
- Baird AH**, Guest JR, Willis BL. 2009. Systematic and Biogeographical Patterns in the Reproductive Biology of Scleractinian Corals. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:551–571.
- Baird AH**, Marshall PA. 2002. Mortality, growth and reproduction in Scleractinian corals following bleaching on the Great Barrier Reef. *Marine Ecology Progress Series*. 237: 133–141.
- Bernal**, G. P. Ripa y J. C. Reguera. 2001. Variabilidad oceanográfica y climática en el Bajo Golfo de California: influencias del trópico y Pacífico norte. *Ciencias Marinas* 27 (4): 595-617.
- Brusca R. C.** y G. J. Brusca. 1990. *Invertebrates*. Sinauer, Sunderland. 921 pp.
- Carpizo-Ituarte E**, Vizcaíno-Ochoa V, Chi-Barragan G, Tapia-Vázquez O, Cupul-Magaña AL, Medina-Rosas P. 2011. Evidence of sexual reproduction in the hermatypic coral *Pocillopora damicornis*, *Porites panamensis*, and *Pavona gigantea* in Banderas Bay, Mexican Pacific. *Ciencias Marinas* 37:97–112.
- Chávez-Romo E**, Reyes-Bonilla H. 2007. Reproducción sexual del coral *Pocillopora damicornis* al sur del Golfo de California, México. *Ciencias Marinas* 33:495–501.
- Fabricius KE**. 2005. Effects of terrestrial runoff on the ecology of corals and coral reefs: review and synthesis. *Marine Pollution Bulletin* 50: 125–146.

- Fadlallah YH.** 1985. Reproduction in the coral *Pocillopora verrucosa* on the reefs adjacent to the industrial city of Yanbu (Red Sea, Saudi Arabia). *Proceedings of the 5th International Coral Reef* 4:313–318.
- Fautin DG.** 2002. Reproduction of Cnidaria. *Canadian Journal of Zoology* 80:1735–1754.
- Fiene-Severns P.** 1998. A note on synchronous spawning in the reef coral *Pocillopora meandrina* at Molokini Islet, Hawai'i. Pp. 22-24. In: Cox E.F, Krupp D.A. & Jokiel P.L (Eds.): *Report the reproduction in Reef Corals: Results of the 1997 Edwin W. Pauley Summer Program in Marine Biology*. Hawaii Institute of Marine Biology. Technical Report 42.
- Fitt W.K.** McFarland F.K, Warner M.E, Chilcoat G.C. 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology Oceanographic*. 45: 677–685.
- Giese A C y J S Pearse.** 1974. Introduction. In: Giese, A. C. y J. S. Pearse (eds.) *Reproduction of marine invertebrates, Vol. I. Acoelomate and Pseudocoelomate Metazoans*. Academic Press New York and London, 1-49.
- Glynn PW,** Colley SB, Maté JL, Baums IB, Feingold JS, Cortés J, Guzmán HM, Afflerbach JC, Brandtneris VW, Ault, JS. 2012. Reef coral reproduction in the equatorial eastern Pacific: Costa Rica, Panamá, and the Galápagos Islands (Ecuador). VII. Siderastreidae, *Psammocorastellata* and *Psammocoraprofundacella*. *Marine Biology* 159:1917–1932.
- Glynn PW,** Gassman N, Eakin CM, Cortes J. 1991. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panama, and Galapagos Islands (Ecuador). *Marine Biology* 368:355–368.
- Glynn PW,** SB Colley, NJ Gassman, K Black, J Cortés y JL Maté. 1996. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panamá, and Galápagos

Islands (Ecuador) III. Agariciidae (*Pavona gigantea* and *Gardineroseris planulata*). *Marine Biology* 125: 579-601.

**Glynn, P. W.**, S.B. Colley, C. M. Eakin, D. B. Smith, J. Cortés, N. J. Gassman, H. M. Guzmán, J. B. Del Rosario y J. S. Feingold. 1994. Reef coral reproduction in the eastern Pacific: Costa Rica, Panamá and Galápagos Island (Ecuador). II. Poritidae. *Mar. Biol.* 118:191-208

**Grant A y P A Tyler.** 1983. The analysis of data in studies of invertebrates reproduction. II. The analysis of oocytes size/frequency data, and comparison of different types of data. *International Journal of Invertebrate Reproduction*, 6:259-269.

**Harland A, Davies P, Fixter L.** 1992. Lipid content of some Caribbean corals in relation to depth and light. *Marine Biology* 361:357–361.

**Harrison P.** 2011. Sexual Reproduction of Scleractinian Corals. Pp 59-85. In: Dubinsky, Z Stambler, N (Eds): *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition* book. Elsevier Publishers, Amsterdam, 562 pages.

**Harrison PL,** Wallace CC. 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. In: Dubinsky Z (ed) *Coral reef ecosystems. An Ecosystem in transition* boock. Elsevier Publishers, Amsterdam, pages 133–20.

**Hernández Urraca.** 210. Determinación de biomasa, lípidos totales, pigmentos y densidad de zooxanelas en colonias de *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758) en Bahías de Huatulco. Tesis para obtener el grado de licenciatura. Universidad del Mar. Puerto Ángel Oaxaca, México.

**Highsmith R.** 1982. Reproduction by Fragmentation in Corals. *Marine Ecology Progress Series*. Vol. 7: 207-226.

- Hirose M**, Hidaka M. 2002. Reduced reproductive success in scleractinian corals that survived the 1998 bleaching in Okinawa. *Galaxea, JCRS*, 2: 17 – 21.
- Howard DW**, Smith CS. 1983. Hystological techniques for marine bivalve mollusks. NOAA Technical Memorandum NMFS-F/NEC-25 US. Department of Commerce Woods Hole, Massachusetts, 97 p.
- Hughes T P**, D Ayre y JH Connell. 1992. The evolutionary ecology of corals. *TREE* 7(9): 292-295.
- Humason GL**. 1979. Animal tissue techniques. W. H. Freeman. U.S.A. 417 661p
- J. G. Acker and G**. Leptoukh 2007, "Online Analysis Enhances Use of NASA Earth Science Data", *Eos, Trans. AGU*, Vol. 88, No. 2, pages 14 and 17.
- Johnson CL**, Leising AW, Runge JA, Head EJH, Pepin P, Plourde S, Durbin EG (2008) Characteristics of *Calanus finmarchicus* dormancy patterns in the Northwest Atlantic. *ICES Journal of Marine Science* 65:339 – 350
- Kinzie RA**. 1993. Spawning in the reef corals *Pocillopora verrucosa* and *P. eydouxi* at Sesoko Island, Okinawa. *Galaxea*: 93–105.
- Kruger A**, Schleyer M. 1998. Sexual reproduction in the coral *Pocillopora verrucosa* (Cnidaria: Scleractinia) in KwaZulu-Natal, South Africa. *Marine Biology*: 703–710.
- Maragos JE**. 1997. Order Scleractinia, stony corals, En: D.M. Devaney y Eldredge(Eds). Reefs and shore fauna of Hawái. Section 1. Protozoa through Ctenophora. Bishop Museum Spec. Publ. 64, Honolulu. 154-241.
- Moberg F**, Folke C. 1999. Ecological goods and services of coral reef ecosystems. *Ecological Economics* 29:215–233.
- Murillo JYM**. 1987. Algunas características paleoceanográficas y cuerpos de agua inferidos a partir del registro micropaleontológico (Radiolaria), en Bahía de La

Paz, Baja California Sur, México. Tesis profesional de Geología Marina, Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, B.C.S., México. 68 pp.

Oku H, H. Yamashiro, K. Onaga, K. Sakia & H. Iwaski. 2003 Season changes in the content and composition of lipids in the coral *Goniastrea aspera*. Coral Reefs 22:83-85.

Otsu N. 1979. A threshold selection method from grey-level, histograms IEEE.Trurl.Sys.Man. Cyher.9:62-66. In: Rodríguez-Jaramillo C, Hurtado M. A, Romero-vivas E, Ramírez J. L, Manzano M. 2008. Gonadal development and histochemistry of the tropical oyster, *Crassostrea corteziensis* (Hertlein, 1951) during an annual reproductive cycle. Journal of Shellfish Research. Vol. 27(5):1129-114.

Paz-García DA, Chávez-Romo HE, Correa-Sandoval F, ReyesBonilla H, López-Pérez A, Medina-Rosas P, Hernández-Cortés MP. 2012b. Genetic connectivity patterns of corals *Pocillopora damicornis* and *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) along the west coast of Mexico. Pacific Sci. 66: 43–61. <http://dx.doi.org/10.2984/66.1>.

**Pérez-Vivar TL**, Reyes-Bonilla H, Padilla C. 2006. Corales pétreos (Scleractinia) de las Islas Marías, Pacífico de México. Ciencias Marinas 32:259–270.

**Permatav WD**, Kinzie RA. 2000. Histological studies on the origin of planulae of the coral *Pocillopora damicornis*. 200:191–200.

**Reyes-Bonilla H**, López-Pérez A. 1998. Biogeografía de los corales Pétreos (Scleractinia) del Pacífico de México. Ciencias Marinas 24:211–224.

**Richmond R**, Hunter C. 1990. Reproduction and recruitment of corals: comparisons among the Caribbean, the Tropical Pacific, and the Red Sea. Marine Ecology Progress Series 60:185–203.

**Richmond R,** Jokiel P. 1984. Lunar periodicity in larva release in the reef coral *Pocillopora damicornis* at Enewetak and Hawaii. *Bulletin of Marine Science* 34:280–287.

Richmond R. 1987. Energetic relationships and biogeographical differences among fecundity, growth and reproduction in the reef coral *Pocillopora damicornis*. *Bulletin of Marine Science* 41:594–604.

**Richmond R.** 1997. Reproduction and recruitment in corals: critical links in the persistence of reefs. Pp 175-197. In *Life and death of coral reefs*. Chapman & Hall.

**Riddle D. 2008.** Feature Article: Coral Reproduction, Part One: A Natural Coral Spawning in Hawai'i, The Cauliflower Coral (*Pocillopora meandrina*). *Advance Aquarist* .Volumen VII.

**Rodríguez Jaramillo C,** Hurtado M. A, Romero Vivas E, Ramírez J. L, Manzano M & Palacios E. 2008. Gonadal development and histochemistry of the tropical oyster, *Crassostrea corteziensis* (Hettlein, 1951) during an annual reproductive cycle. *Journal of Shellfish Research*, Vol. 27, No. 5, 1129-1 141

**Rodríguez Trocoso AP.** 2004. Caracterización del ciclo reproductivo de *Pocillopora damicornis* (Linnaeus, 1758), en el arrecife de La Entrega, Oaxaca, México.” Tesis de Licenciado en Biología Marina, Universidad del Mar. Puerto Ángel Oaxaca.

**Rodríguez-Troncoso AP,** Carpizo-Ituarte E, Leyte-Morales GE, Chi-Barragán, Tapia-Vázquez O. 2011. Sexual reproduction of three coral species from the Mexican South Pacific. *Marine Biology* 158:2673–2683.

**Rupert EE.** y Barnes RD. 1996. *Zoología de Invertebrados*. Mc Graw-Hill. México.114 pp.

**Schmidt-Roach S,** Miller KJ, Woolsey E, Gerlach G, Baird AH. 2012. Broadcast spawning by *Pocillopora* Species on the Great Barrier Reef. *PLoS ONE* 7(12):e50847.

**Schubert R**, H.J. Schellnhuber, N. Buchmann, A. Epiney, R. Griebhammer, M. Kulesa, D. Messner, S. Rahmstorf, J. Schmid. 2006. The future ocean warming up, Rising high, Turning sour. Special Report German Advisory Council on Global Change (WBGU), 1-123.

Shlesinger Y, Goulet TL, Loya Y (1998) Reproductive patterns of scleractinian corals in the northern Red Sea. *Mar. Biol.* 132:691–701

Shlesinger Y, Loya Y (1985) Coral community reproductive patterns: Red Sea versus the Great Barrier Reef. *Science* 228: 1333±1335

**Sier C**, Olive P. 1994. Reproduction and reproductive variability in the coral *Pocillopora verrucosa* from the Republic of Maldives. *Marine Biology* 722:713–722.

**Stimson J**. 1978. Mode and timing of reproduction in some common hermatypic corals of Hawaii and Enewetak. *Marine Biology* 184:173–184.

**Stimson J**. 1987. Location, quantity and rate of change in quantity of lipids in tissue of Hawaiian hermatypic corals. *Bulletin of Marine Science* 41:889–904.

**Tanner J**. 1996. Seasonality and lunar periodicity in the reproduction of Pocilloporid corals. *Coral Reefs*. Vol. 15:59-66.

**Tung-yung F**, Jan-jung L, Sheng-xi I, Lee-shing F. 2002. Lunar Periodicity of Larval Release by Pocilloporid Corals in Southern. *Zoological Studies* 41:288–294.

**Vives De Andrés JB**. 2003. Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos (aguas, sedimentos y organismos). Programa de Calidad Ambiental Marina – CAM del Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (INVEMAR).

**Ward S**. 1992. Evidence for broadcast spawning as well as brooding in the scleractinian coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology* 646:641–646.

**Wijgerde T**. 2009. Coral reproduction - part I: Biology .Coral science.org. 10 Pp.

**Zakai D**, Levy O, Chadwick-Furman N. 2000. Experimental fragmentation reduces sexual reproductive output by the reef-building coral *Pocillopora damicornis*. *Coral Reefs* 185–188.