

Ostreobium* en el coral de profundidad *Thalamophyllia riisei

Ana María Trujillo Ortegón

Dirigido por

Juan Armando Sánchez Ph.D.

Universidad de los Andes

Facultad de Ciencias

Departamento de Ciencias Biológicas

Bogotá D.C.

2020

Resumen

Este estudio es el primer reporte de la aparición de una simbiosis entre el alga endolítica *Ostreobium* y el coral de profundidad *Thalamophyllia riisei* en el Caribe Colombiano, el cuál se creía ausente de cualquier asociación mutualista con algas fotosintéticas. A partir de individuos de las especies *Thalamophyllia riisei*, *Caryophyllia berteriana* y *Desmophyllum riisei* que registraban bandas de color verde en sus esqueletos, similares a las que genera *Ostreobium* en corales de las zonas someras de la isla de San Andres, se plantea la posibilidad de una nueva relación simbiótica. Por medio de una extracción, amplificación y secuenciación del gen *rbcL* se evalúan las muestras, para así hallar una muestra positiva en el coral de la especie *T. riisei*. A pesar de que las relaciones filogenéticas no son claras, se verifica la nueva simbiosis, no registrada en otros estudios, entre el alga endolítica y el coral de profundidad.

Introducción

Los corales de la clase Scleractinia, pertenecientes al phylum Cnidaria, son conocidos comúnmente como corales pétreos. Estos corales son holobiontes que normalmente requieren de distintas asociaciones con distintas clases de simbiontes para su supervivencia. Los simbiontes de corales incluyen protistas, bacterias, arqueas, hongos, algas y hasta virus (del Campo et al., 2017; Quintanilla et al., 2018). Estos microorganismos mutualistas han evolucionado en conjunto con los cnidarios, lo que ha permitido que los corales mejoren en la respiración, el metabolismo y la tasa de crecimiento (Stanley & Swart, 1995). Sin embargo, no todos los corales poseen los mismos tipos de simbiontes, lo que les brinda ciertas ventajas unos sobre otros en distintos ecosistemas. Por ejemplo, cuando los corales poseen simbiontes de tipo zooxantelas, dinoflagelados fotosintéticos que se albergan en el tejido vivo del coral, se aumenta la tasa de calcificación, pero requieren de una alta luminosidad para obtener fotosintatos (Stanley & Swart, 1995; Taylor et al., 2008). Por el contrario, los corales azooxantelados son capaces de vivir sin protistas que realicen fotosíntesis para su alimentación y la calcificación de su esqueleto (Stanley & Swart, 1995), lo que les permite vivir a mayores profundidades que una colonia de corales zooxantelados. Además de esto, tienen la capacidad de tener un estilo de vida solitario (Stolarski et al., 2011), por lo que se les puede encontrar a lo largo del lecho marino en forma de individuos ahermatípicos. En este estudio se explora la posibilidad de que éstos corales tengan simbiontes con otros organismos fotosintéticos, como las algas.

La simbiosis entre corales mesofóticos y algas mutualistas está determinada principalmente por la profundidad, ya que afecta la cantidad de alimento disponible, las condiciones climáticas y la viabilidad de su relación simbiótica (Gonzalez-Zapata et al., 2018). El límite

de profundidad en el que se han encontrado relaciones de simbiosis coral-alga en el Caribe se encuentra a los 77 metros de profundidad, gracias a que el punto compensatorio entre la fotosíntesis y la respiración en las zonas tropicales es alcanzada en este límite de profundidad (Gonzalez-Zapata et al., 2018). La profundidad también afecta la diversidad de simbiontes en un coral, ya que se ha encontrado variación de especies endolíticas dependiendo de las localidades, latitudes y gradientes batimétricos en los que se encuentre el individuo o colonia (Gutner-Hoch & Fine, 2011).

El alga endosimbionte más estudiado a nivel mundial pertenece a la familia Symbiodinacea, gracias a las funciones fotosintéticas clave que desempeña en el holobionte y por la fragilidad de su simbiosis (del Campo et al., 2017). Sin embargo, existen otros géneros endolíticos y fotosintéticos como *Ostreobium*, un alga verde multicelular, el cual es más adaptable en términos de fotosíntesis y requiere de menor cantidad de luz para producir e intercambiar nitrógeno, carbono y fotosintatos con el coral hospedero (Gutner-Hoch & Fine, 2011). Por otro lado, es el alga endolítica que contribuye en mayor instancia a la bioeroción del esqueleto del coral, debido a los canales formados por sus estructuras filamentosas (Massé et al., 2018). Estas características implican un rol potencial en la alimentación y calcificación del coral en el que habite.

Ostreobium se puede encontrar comúnmente asociado a los esqueletos de carbonato de calcio en zonas inferiores al cáliz, donde se ubica el pólipo, formando bandas visibles de color verde, gracias a su alta densidad de tejidos. Se sabe que *Ostreobium* reside en zonas marinas tropicales y templadas, pero todavía no se conoce la totalidad de corales en los que habita como zooxantela (del Campo et al., 2017). Se estima que el alga se encuentra en el 85% de las especies coralinas a nivel mundial, en un amplio rango batimétrico (Gutner-Hoch & Fine, 2011).

Los rangos batimétricos permiten clasificar los lechos marinos que se encuentran a distintas profundidades con respecto al nivel del mar (National Oceanic and Atmospheric Administration, s. f.). En la plataforma continental, por encima de los 150 metros de profundidad, se puede dividir el océano en dos amplias zonas: la zona somera; que se encuentra entre los 0 y 30 metros de profundidad, y la zona mesofótica; que se ubica entre los 30 y 150 metros de profundidad (Sánchez et al., 2019). Existen los individuos que solo habitan en una de las dos zonas batimétricas, como también los que se adaptan a ambas condiciones ambientales. Este es el caso del coral *Thalamophyllia riisei* (Duchassaing & Michelotti, 1860), perteneciente a la familia Caryophylliidae, que habita entre los 4 y 914 metros de profundidad (Reyes et al., 2009).

La familia de corales pétreos Caryophylliidae es una de las más diversas, conteniendo más de 300 especies. Esta familia tiene un origen polifilético, y más del 90% de sus especies son azooxanteladas (Reyes et al., 2009). Entre estas especies está *T. riisei*, un coral solitario, de sustratos blandos, que se encuentra en la zona tropical-este del Atlántico (Reyes et al., 2009; Barbeitos et al., 2010), entre otras (Reyes et al., 2005). En las costas colombianas se ha reportado en la barrera coralina perteneciente a la reserva Sea Flower, en las Islas del Rosario y en el Archipiélago San Bernardo, entre los 22 y 265 metros de profundidad (Sánchez et al., 2019; Reyes et al., 2009).

Los reportes que existen de esta especie en el Caribe lo habían clasificado como azooxantelado (Barbeitos et al., 2010; Santodomingo et al., 2007; Reyes et al., 2005; Fenner, 1993; Reyes et al., 2009), hasta que en el 2015 se encontró a 70 metros de profundidad, cerca a la isla de San Andrés, en la barrera coralina de la locación marina conocida como Trampa Tortuga, individuos de la especie *T. riisei* que registran claras bandas de color verde en sus esqueletos, similares a las que genera la zooxantela del género *Ostreobium* (Sánchez et al., 2019). Es por este descubrimiento que se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Existe presencia del alga *Ostreobium* como endosimbionte en los corales de profundidad que se creían carentes de algas asociadas de la isla de San Andrés?

Métodos

Colecta de muestras

En el año 2015 se colectaron corales de distintas especies en la locación Trampa Tortuga, donde se encuentra una barrera coralina de fácil acceso y con altas profundidades. Esta colecta hizo parte de un proyecto del laboratorio BIOMMAR, de la Universidad de los Andes, que tenía como objetivo contribuir al entendimiento de los corales encontrados en zonas mesofóticas en la isla de San Andrés (Sánchez et al., 2019). Para realizar este estudio se tomaron 5 individuos de la familia Caryophylliidae, dos pertenecientes a la especie *Thalamophyllia riseii*, dos a la especie *Caryophyllia berteriana* y un solo espécimen de *Desmophyllum riisei*. Todas las muestras se encontraban desde su colecta almacenadas individualmente en tubos con DMSO a -80°C. Las muestras de *T. riisei* ya registraban claras bandas verdes en sus esqueletos, sin embargo, se decidió evaluar las muestras conservadas de *Caryophyllia berteriana* y *Desmophyllum riisei* debido a que también han sido reportadas como especies azooxanteladas, son ahermatípicos, se encuentran en zonas mesofóticas (Reyes et al., 2005; Reyes et al., 2009), y las muestras colectadas presentaban colores verdosos en sus esqueletos.

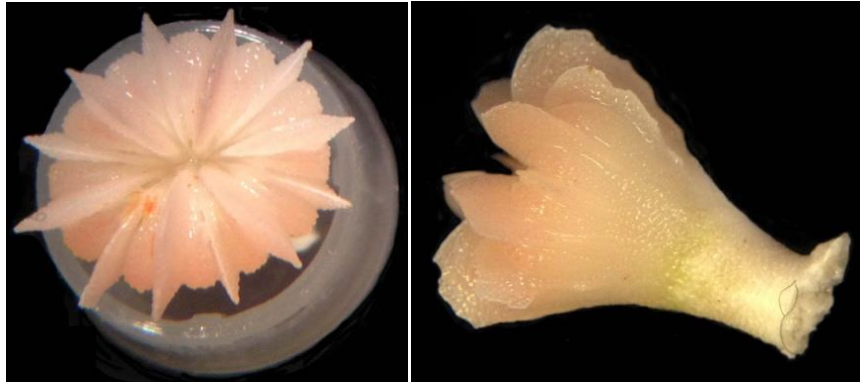


Figura 1. Fotografía de individuo de la especie *T. riisei* con bandas en esqueleto de color verde proporcionada por estudio realizado por Sánchez y colaboradores (2019).

Extracción, amplificación y secuenciación ADN

Para definir la presencia o ausencia de *Ostreobium* en los esqueletos de las tres especies coralinas, se realizó una extracción del ADN en el esqueleto de cada individuo. Primero, se descartó el tejido vivo del coral con la ayuda de un waterpik, para eliminar cualquier rastro de ADN que no se encuentre en el esqueleto. La extracción de ADN se efectuó siguiendo el protocolo CTAB (Coffroth et al., 1992) para las 5 muestras, con réplica para tres muestras. Se hizo una electroforesis con un gel de agarosa al 1% para verificar la presencia de ADN, para posteriormente cuantificar el ADN por el método de Nanodrop y realizar las diluciones necesarias.

Se selecciona el gen *rbcl* de *Ostreobium* para ser amplificado, gracias a que se ha comprobado su éxito para determinar las relaciones filogenéticas en este género (Gutner-Hoch & Fine, 2011). Este gen codifica para la subunidad grande de la enzima rubisco y se encuentra en el ADN del cloroplasto de *Ostreobium*. La amplificación por PCR se ejecutó siguiendo el protocolo realizado por Gonzalez-Zapata y colaboradores en el 2018. La secuenciación tipo Sanger de las muestras en las que se encontró ADN se realizó en el Laboratorio de Secuenciación de la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de los Andes, con los primers *rbcLF* y *rbcLR* (Gonzalez-Zapata et al., 2018).

Análisis filogenético

Para entender las relaciones filogenéticas de las muestras en los distintos clados de *Ostreobium*, se alinean por medio del programa Geneious (Kearse et al., 2012) 28 muestras encontradas del mismo gen *rbcl* de *Ostreobium* en corales de la especie *Agaricia undata* (Gonzalez-Zapata et al., 2018), y de 7 muestras pertenecientes a los 7 clados de *Ostreobium* encontrados en el Mar Rojo, hallados en los corales *Porites lutea* y *Goniastrea perisi*

(Gutner-Hoch & Fine, 2011). Las secuencias se pueden encontrar en el portal NCBI. Posteriormente, se realizan dos árboles filogenéticos por medio de inferencia bayesiana (IB) con el programa Beast (Bouckaert et al., 2014), y el método de máxima verosimilitud (MV) con el programa CIPRES versión 3.3 (Miller, Pfeiffer & Schwartz, 2010), paquete RAxML. Ambos árboles presentan una topología similar al reportado por Gonzalez-Zapata y colaboradores (2018), por lo que se escogen ambos árboles para entender las relaciones filogenéticas del género *Ostreobium* en el coral *T. riisei*. Se muestran los valores de bootstrap generados por Neighbor joining mayores al 70%.

Resultados

A partir de las 5 muestras de corales azooxantelados que se creía contenían *Ostreobium* en sus esqueletos, solo 2 muestras resultaron positivas posterior a la electroforesis de la extracción de ADN. Estas dos muestras corresponden a los géneros *Thalamophyllia* y *Caryophyllia*. Al realizar la secuenciación Sanger (), sólo se obtuvo 1 muestra con suficiente resolución para realizar el análisis filogenético. Esta muestra se encontraba en el esqueleto de la especie *T. riisei*, colectado en la isla de San Andrés, Colombia. El consenso de la única secuencia de *Ostreobium* encontrada en este estudio es comparada con otras 35 muestras (Figura 2) ya registradas en publicaciones anteriores (Gutner-Hoch & Fine, 2011; Gonzalez-Zapata et al., 2018), con el objetivo de comprender las relaciones filogenéticas de la especie.

En los dos árboles generados por IB y MV se encuentra como outgroup el alga *Caulerpa webbiana*, los clados que se encuentran indicados con una estrella son los hallados cerca a la isla de San Andrés (Gonzalez-Zapata et al., 2018). Los árboles son clasificados por colores, dependiendo de la posición batimétrica en la que se haya registrado el coral con el alga. El color verde corresponde a clados generalistas del gradiente batimétrico (0 a 90 m de profundidad), el color naranja a muestras exclusivamente mesofóticas (>30 m de profundidad), y el color amarillo a muestras exclusivamente someras (0 – 30 m de profundidad). Se han tenido en cuenta estas convenciones únicamente para las muestras de *Ostreobium* en *A. undata* (Gonzalez-Zapata et al., 2018), esto debido a que son los individuos que se encuentran en el Caribe, junto con la muestra de *T. riisei*.

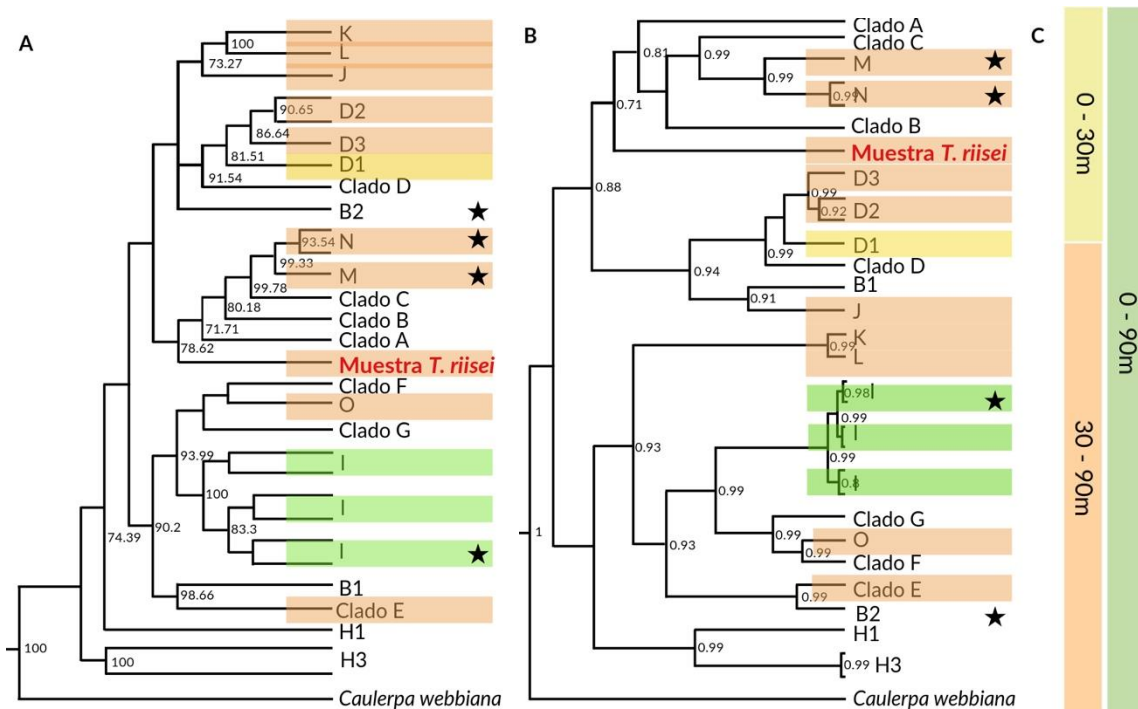


Figura 2. Árboles filogenéticos generados por máxima verosimilitud e inferencia bayesiana de filoespecies del género *Ostreobium* en muestras de *Agaricia undata*, *Porites lutea*, *Goniastrea perisi* y *Thalamophyllia riisei* del Caribe Colombiano y el Mar Rojo. Como outgroup se encuentra el alga *Caulerpa webbiana*. Los que se indican con una estrella son los clados que fueron encontrados cercanos a la isla de San Andrés (po).

Al comparar los árboles filogenéticos realizados mediante los métodos IB (Figura 2A), MV (Figura 2B) y el árbol realizado por Gonzalez-Zapata y colaboradores (2018), se presentan diferencias en cómo se relacionan filogenéticamente sus secuencias, como por ejemplo el clado E, y el K-J-L. Sin embargo, también se pueden observar clados altamente conservados en los tres árboles, como el clado I, junto con el clado G-O-F (Figura 2A y 2B). En referencia a la clasificación por gradientes batimétricos (Figura 2C), se evidencia un clado (I) que se encuentra en todo el gradiente, una filoespecie (D1) que se encuentran en la zona somera, y la mayoría de clados que se especializan en zonas mesofóticas.

La muestra de *Ostreobium* que se hallaba en simbiosis con el coral de profundidad *T. riisei* se encuentra relacionado en mayor instancia al grupo filogenético de la isla de San Andrés exclusivo de la zona mesofótica (de los 30 a los 90 m de profundidad). Este grupo está conformado por las filoespecies M y N. Además, se encuentran tres clados pertenecientes a zonas someras del mar rojo (clados A, B, C).

Discusión

Se logró obtener una secuencia del gen *rbcL*, perteneciente al alga *Ostreobium*, encontrada en el coral *T. riisei*. Este coral también poseía claras marcas verdes en su esqueleto, confirmando la presencia de un alga endolítica asociada al carbonato de calcio de este coral ahermatípico. La muestra se encuentra relacionada en mayor instancia a un grupo de *Ostreobium* que se ha registrado tanto en el mar Caribe como en el mar Rojo (Figura 2), a pesar de que los árboles generaran diferencias en las topologías.

Presencia de endosimbiontes

La especie azooxantelada *T. riisei* posee un ancestro zooxantelado, lo que indica una pérdida de la simbiosis en el coral a lo largo del tiempo (Barbeitos et al., 2010). La pérdida de endosimbiontes se da principalmente para generar la diversificación de la especie a través del gradiente batimétrico, lo que evita en gran medida la extinción de la familia (Barbeitos et al., 2010). Este escenario de pérdida y ganancia de simbiontes es bastante común en distintos clados coralinos (Barbeitos et al., 2010); por lo que la reaparición de zooxantelas en un coral azooxantelado no es algo extraordinario. No obstante, este es un proceso lento y continuo, lo que implica que el resurgimiento de la asociación de endosimbiontes en *T. riisei* puede haberse dado desde hace años sin haber sido registrado.

El proceso de restablecimiento de una simbiosis tiene un desarrollo arduo y costoso para el hospedero, sobretodo si la simbiosis ocurre en tejido vivo (Colley & Trench, 1985). Es por esta razón que la simbiosis entre individuos de *Ostreobium* y el esqueleto calcáreo de un coral puede ocurrir con mayor agilidad, comparado con zooxantelas que se albergan en el pólipo directamente; como *Symbiodinium* (Colley & Trench, 1985). La reaparición de una simbiosis puede implicar nuevas ventajas adquiridas sobre sus parientes azooxantelados, como la capacidad de aumentar la tasa de calcificación y un aumento en la diversificación de su linaje (Stanley & Swart, 1995). Es por esta razón que es necesario entender y registrar los cambios fisiológicos que se presenten en los corales de *T. riisei* posterior a la aparición de la simbiosis con algas como *Ostreobium*, para así comprender las repercusiones futuras a nivel de individuo, de población y en el ecosistema.

Diferencias entre árboles filogenéticos

Con respecto a las diferencias encontradas en las topologías de los árboles hechos por IB y MV, se pueden asociar con problemas a nivel de las secuencias, del gen, ó, de la información extra. En referencia a la secuencias, las diferencias se pueden dar por errores en el reconocimiento de nucleótidos y sus sustituciones en cada secuencia, o porque no todas las secuencias tienen caracteres congruentes entre sí, lo que afecta las relaciones al

realizar el alineamiento (Russo et al., 1996; Morrison, 1996). Como segunda fuente de problemas, está la posibilidad de que el gen escogido para el estudio no sea el más adecuado para realizar árboles filogenéticos, o no sea suficiente, ya que se ha comprobado que en varios casos los árboles generados a partir de un solo gen son malos indicadores de los árboles del genoma completo (Russo et al., 1996). Como tercer problema, se encuentra la imposibilidad de complementar el registro filogenético con características morfológicas y fósiles, que representan información clave al momento de escoger la topología más acertada (Russo et al., 1996).

Teniendo en cuenta la anterior información, no se considera la posibilidad de que los problemas topológicos se deban a la escogencia del gen, ya que en literatura se explica que el gen *rbcl* es apto para determinar la diversidad genotípica entre clados de *Ostreobium*, además de que ya se han generado árboles consistentes en otros estudios (Gutner-Hoch & Fine, 2011; Gonzalez-Zapata et al., 2018). Es por esto que se infiere que las razones por las que se expresaron variaciones filogenéticas entre los árboles de este estudio, se den por el error en el análisis de nucleótidos que no fue corregido gracias a la falta de más de una secuencia, que hubiera permitido la comparación entre estas. También, a la variación en el número de nucleótidos entre la nueva secuencia y las anteriores, lo que produjo la inconsistencia en el alineamiento de las secuencias.

A pesar de encontrar diferencias en las topologías de los árboles generados, si se encuentran clados conservados junto con valores bootstrap altos (Clado I, K-L, M-N-A-B-C, Clado D; Figura 2A y 2B), lo que indica una relación filogenética consistente entre la mayoría de las secuencias pertenecientes al gen *rbcl* de *Ostreobium*.

Relaciones filogenéticas

Como se puede observar en la Figura 2, en ambos árboles filogenéticos, la muestra de *Ostreobium* del coral de profundidad *T. riisei* se encuentra fuertemente relacionada a dos filo-especies encontradas en la isla de San Andrés (Gonzalez-Zapata et al., 2018), y a tres clados que fueron hallados en el mar rojo (Gutner-Hoch & Fine, 2011). La relación de los clados mesofóticos M y N con la muestra de *T. riisei* en la zona de San Andrés concuerdan con la afirmación de que las relaciones filogenéticas de zooxantelas dependen tanto de la zona geográfica, como del gradiente batimétrico en el que se encuentren (Gutner-Hoch & Fine, 2011). La muestra de *T. riisei* en simbiosis con *Ostreobium* se encontró en las zonas mesofóticas (70 metros de profundidad) de la isla de San Andrés, lo que obedece también al límite registrado de asociaciones simbióticas con algas en el trópico (Gonzalez-Zapata et al., 2018).

Como segunda instancia se revisa el porqué se encuentra fuertemente relacionado a clados registrados en el Mar Rojo. Se cree que esta relación ocurre gracias a la conectividad

existente entre mares, en este caso, es el mar del Mediterraneo quien conecta el mar Atlántico y el Mar Rojo (Heras et al., 2019). Se han registrado distintas especies de animales, como las coralinas, que pueden ser encontradas en ambos mares gracias a las corrientes frías que brindan conectividad entre ambientes profundos (Boavida et al., 2019). La relación entre corales mesofóticos del Caribe y corales someros del Mar Rojo puede que sean en parte explicada por medio de la diferencia entre las características físicas de sus cuerpos de agua. La salinidad, temperatura, corrientes marinas, los eventos de surgencia y la interacción con la atmósfera varían entre océanos, lo que afecta la distribución de especies marinas como corales con sus respectivos simbioses (Connell, 2018).

Conclusiones

A partir de varias muestras coralinas pertenecientes a tres especies, se descubrió la ganancia de una simbiosis en *T. riisei* con el alga endolítica *Ostreobium*. El simbiote se encuentra relacionado a clados tanto del Caribe, como del mar Rojo, específicamente en el Caribe a un clado de corales que habitan la zona mesofótica de San Andrés. La especie *T. riisei* posee un ancestro zooxantelado, lo que indica la capacidad de perder y ganar relaciones simbióticas a lo largo del tiempo, sin embargo, gracias a los pocos estudios en este coral, la reaparición de zooxantelas puede haberse dado desde hace años sin haber sido registrado. Las relaciones filogenéticas entre los clados de *Ostreobium* no se terminan de comprender gracias a variaciones producidas por distintos métodos en el análisis filogenético, para lo que se recomienda seguir evaluando secuencias de ADN de más individuos de esta especie.

Finalmente, es posible afirmar este estudio es un primer reporte de la aparición de una simbiosis con el alga *Ostreobium* en un coral que se creía totalmente azooxantelado en el Caribe Colombiano, lo que puede implicar un cambio en la ecología del coral en los próximos años, para lo que se requiere mayor investigación a nivel poblacional. Sin embargo, debido a que se encontró solo una secuencia con la suficiente pureza para identificar el tipo de *Ostreobium* que habita el coral solitario, no es posible afirmar que se este presentando un cambio a nivel poblacional o de especie en los individuos de *T. riisei* en el Caribe Colombiano, por lo que se requiere seguir investigando las relaciones simbióticas de estos corales a profundidad.

Agradecimientos

Le quiero agradecer a todo el equipo de BIOMMAR, sobretodo a Andrés Chilma, Adriana Rodríguez, Sandra Montaña, Sebastián Giraldo, Diana Vergara, Adriana Sarmiento, Laura Rodríguez, y a Juan Armando Sánchez por todas las ayudas y conocimientos proporcionados. Al igual agradecer al convenio entre Uniandes y DFG (Alemania) por la financiación parcial del estudio. Por último, a mis padres, familia y a mis amistades por el apoyo.

Referencias

- Barbeitos, M. S., Romano, S. L., & Lasker, H. R. (2010). Repeated loss of coloniality and symbiosis in scleractinian corals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *107*(26), 11877-11882. <https://doi.org/10.1073/pnas.0914380107>
- Boavida, J., Becheler, R., Choquet, M., Frank, N., Taviani, M., Bourillet, J.-F., Meistertzheim, A.-L., Grehan, A., Savini, A., & Arnaud-Haond, S. (2019). Out of the Mediterranean? Post-glacial colonization pathways varied among cold-water coral species. *Journal of Biogeography*, *46*(5), 915-931. <https://doi.org/10.1111/jbi.13570>
- Coffroth, M. A., Lasker, H. R., Diamond, M. E., Bruenn, J. A., & Bermingham, E. (1992). DNA fingerprints of a gorgonian coral: A method for detecting clonal structure in a vegetative species. *Marine Biology*, *114*(2), 317-325. <https://doi.org/10.1007/BF00349534>
- Colley, N. J., & Trench, R. K. (1985). Cellular events in the reestablishment of a symbiosis between a marine dinoflagellate and a coelenterate. *Cell and Tissue Research*, *239*(1), 93-103. <https://doi.org/10.1007/BF00214908>
- Connell, D. W. (2018). *Pollution in Tropical Aquatic Systems*. CRC Press.
- del Campo, J., Pombert, J.-F., Šlapeta, J., Larkum, A., & Keeling, P. J. (2017). The 'other' coral symbiont: *Ostreobium* diversity and distribution. *The ISME Journal*, *11*(1), 296-299. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.101>
- Fenner, D. P. (1993). Some reefs and corals of Roatan (Honduras), Cayman Brac, and Little Cayman. *Atoll Research Bulletin*, *388*, 1-30. <https://doi.org/10.5479/si.00775630.388.1>
- Gonzalez-Zapata, F. L., Gómez-Osorio, S., & Sánchez, J. A. (2018). Conspicuous endolithic algal associations in a mesophotic reef-building coral. *Coral Reefs*, *37*(3), 705-709. <https://doi.org/10.1007/s00338-018-1695-9>
- Gutner-Hoch, E., & Fine, M. (2011). Genotypic diversity and distribution of *Ostreobium quekettii* within scleractinian corals. *Coral Reefs*, *30*(3), 643-650. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0750-6>
- Heras, S., Planella, L., García-Marín, J.-L., Vera, M., & Roldán, M. I. (2019). Genetic structure and population connectivity of the blue and red shrimp *Aristeus antennatus*. *Scientific Reports*, *9*(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-49958-5>
- Massé, A., Domart-Coulon, I., Golubic, S., Duché, D., & Tribollet, A. (2018). Early skeletal colonization of the coral holobiont by the microboring Ulvophyceae *Ostreobium* sp. *Scientific Reports*, *8*(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20196-5>
- Morrison, D. A. (1996). Phylogenetic tree-building. *International Journal for Parasitology*, *26*(6), 589-617. [https://doi.org/10.1016/0020-7519\(96\)00044-6](https://doi.org/10.1016/0020-7519(96)00044-6)
- Quintanilla, E., Ramírez-Portilla, C., Adu-Oppong, B., Walljasper, G., Glaeser, S. P., Wilke, T., Muñoz, A. R., & Sánchez, J. A. (2018). Local confinement of disease-related microbiome facilitates recovery of gorgonian sea fans from necrotic-patch disease. *Scientific Reports*, *8*(1), 14636. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33007-8>
- Reyes, J., Santodomingo, N., & Cairns, S. (2009). Caryophylliidae (Scleractinia) from the Colombian Caribbean. *Zootaxa*, *2262*(1), 1-39. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.2262.1.1>
- Reyes, J., Santodomingo, N., Gracia, A., Borrero-Pérez, G., Navas, G., Mejía-Ladino, L. M., Bermúdez, A., & Benavides, M. (2005). Southern Caribbean azooxanthellate coral communities off Colombia. En A. Freiwald & J. M. Roberts (Eds.), *Cold-Water Corals and Ecosystems* (pp. 309-330). Springer. https://doi.org/10.1007/3-540-27673-4_15
- Russo, C. A., Takezaki, N., & Nei, M. (1996). Efficiencies of different genes and different

tree-building methods in recovering a known vertebrate phylogeny. *Molecular Biology and Evolution*, 13(3), 525-536. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025613>

Sánchez, J. A., González-Zapata, F. L., Dueñas, L. F., Andrade, J., Pico-Vargas, A. L., Vergara, D. C., Sarmiento, A., & Bolaños, N. (2019). Corals in the Mesophotic Zone (40–115 m) at the Barrier Reef Complex From San Andrés Island (Southwestern Caribbean). *Frontiers in Marine Science*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00536>

Santodomingo, N., Reyes, J., Gracia, A., Martínez, A., Ojeda, G., & García, C. (2007, noviembre). *Azooxanthellate Madracis coral communities off San Bernardo and Rosario Islands (Colombian Caribbean)* [Text]. <https://www.ingentaconnect.com/content/umrsmas/bullmar/2007/00000081/A00103s1/art00024>

Stanley, G. D., & Swart, P. K. (1995). Evolution of the coral-zooxanthellae symbiosis during the Triassic: A geochemical approach. *Paleobiology*, 21(2), 179-199. <https://doi.org/10.1017/S0094837300013191>

Stolarski, J., Kitahara, M. V., Miller, D. J., Cairns, S. D., Mazur, M., & Meibom, A. (2011). The ancient evolutionary origins of Scleractinia revealed by azooxanthellate corals. *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), 316. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-316>

Taylor, F. J. R., Hoppenrath, M., & Saldarriaga, J. F. (2008). Dinoflagellate diversity and distribution. *Biodiversity and Conservation*, 17(2), 407-418. <https://doi.org/10.1007/s10531-007-9258-3>

US Department of Commerce, N. O. and A. A. (s. f.). *What is bathymetry?* Recuperado 10 de enero de 2020, de <https://oceanservice.noaa.gov/facts/bathymetry.html>