

**DISTRIBUCIÓN Y RELACIONES SIMBIÓTICAS DE LAS ZOOXANTELAS
(*Symbiodinium* spp.) ASOCIADAS A OCTOCORALES (Cnidaria: Octocorallia)
EN ARRECIFES ALDEAÑOS A CARTAGENA**

MARIA PAULA ROZO GÓMEZ

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
BOGOTÁ D.C.**

2006

**DISTRIBUCIÓN Y RELACIONES SIMBIÓTICAS DE LAS ZOOXANTELAS
(*Symbiodinium* spp.) ASOCIADAS A OCTOCORALES (Cnidaria: Octocorallia)
EN ARRECIFES ALDEAÑOS A CARTAGENA**

MARIA PAULA ROZO GÓMEZ

**Trabajo de grado presentado como requisito para optar por el título de
MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS**

Director

JUAN ARMANDO SÁNCHEZ

Biólogo Marino M.Sc., Ph.D.

Codirector

EMILIO REALPER.

Biólogo M.Sc.

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
BOGOTÁ D.C.**

2006

CONTENIDO

pp.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Especies de octocorales colectadas en las localidades muestreadas en el Caribe colombiano (Cartagena).....	11
Tabla 2. Tipos de asociación entre zooxantelas y especies de octocorales del Caribe colombiano.....	13
Tabla 3. Distribución de los clados según la profundidad.....	15
Tabla 4. Distribución de los clados según la localidad.....	16

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Relaciones filogenéticas entre los clados mayores de <i>Symbiodinium</i>	3
Figura 2. Mapa de los arrecifes aledaños a Cartagena (Colombia).....	10
Figura 3. Patrón de bandeo de RFLP para <i>Symbiodinium</i> spp.....	9
Figura 4a. Fragmentos de RFLP generados por <i>Taq-I</i> del gen 18s-ADNr para <i>Symbiodinium</i> spp. asociados a octocorales de este estudio.....	14
Figura 4b. Fragmentos de RFLP generados por <i>Taq-I</i> del gen 18s-ADNr para <i>Symbiodinium</i> spp. asociados a octocorales de este estudio.....	14
Figura 5. Distribución batimétrica de los clados de <i>Symbiodinium</i>	16
Figura 6. Distribución espacial de los clados de <i>Symbiodinium</i>	21

LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1A. Distribución y asociación de los diferentes clados de <i>Symbiodinium</i> entre géneros de octocorales	
ANEXO 1B. Distribución y asociación de los diferentes clados de <i>Symbiodinium</i> entre géneros de octocorales, eliminando al clado A y al género <i>Erythropodium</i>	
ANEXO 2. Distribución y asociación de los diferentes clados de <i>Symbiodinium</i> entre profundidades	
ANEXO 3A. Distribución y asociación de los diferentes clados de <i>Symbiodinium</i> entre localidades influenciadas por el Canal del Dique	
ANEXO 3B. Distribución y asociación de los diferentes clados de <i>Symbiodinium</i> entre arrecifes con distintas características	

AGRADECIMIENTOS

RESUMEN

1. INTRODUCCION.....	1
2. METODOS.....	8
<i>2.1 Muestras de octocorales.....</i>	<i>8</i>
<i>2.2 Extracción de ADN, PCR y fragmentos de restricción.....</i>	<i>8</i>
<i>2.3 Análisis estadístico de las diferentes asociaciones.....</i>	<i>9</i>
3. RESULTADOS.....	12
4. DISCUSIÓN.....	17
5. CONCLUSIONES.....	22

BIBLIOGRAFIA.....	23
--------------------------	-----------

ANEXOS

AGRADECIMIENTOS

A mi familia por el apoyo durante mi maestría

A Juan Armando Sánchez, por la oportunidad y la inmensa paciencia

A Emilio Realpe, Marta Cárdenas y Nestor Ardila, por las correcciones y asesoría

A Carlos Mora, por todo el conocimiento transmitido

A todos los miembros de BIOMMAR por la ayuda prestada

A Daniel Dorado, Carlos Umaña y Carolina Camargo por su amistad

A Astrid Muñoz, por su gran apoyo durante el transcurso de esta maestría

A Fernando Muñoz por creer en mi y por su incondicional ayuda

A COLCIENCIAS y la Universidad de los Andes por la financiación que hizo posible la realización de esta tesis que se encuentra enmarcada dentro del proyecto “Ecología molecular y del paisaje aplicados al diseño de áreas protegidas marinas en los arrecifes coralinos aledaños a Cartagena, Colombia.” (120409-16825), cuyo investigador principal es Juan Armando Sánchez M.

RESUMEN

De entre los cuatro clásicos órdenes de dinoflagelados, ocho géneros son reconocidos como endosimbiontes de invertebrados y protistas marinos (Banaszak *et al.*

1993, Trench 1997). *Symbiodinium* es el género más estudiado de este grupo parafilético y el más comúnmente encontrado en cnidarios de aguas someras tropicales y subtropicales (Baker, 2003). La simbiosis entre *Symbiodinium* (también llamado zooxantelas) e invertebrados es una importante característica de los arrecifes coralinos. (Van Oppen *et al.* 2005).

Los octocorales son, después de los corales escleractíneos, los segundos macro-invertebrados más abundantes de los arrecifes coralinos Indopacíficos y Caribeños, contribuyendo con su complejidad estructural y biodiversidad (Van Oppen *et al.* 2005). Muchos octocorales de aguas someras hospedan zooxantelas, aunque el aporte energético de estas es menor que en los corales escleractínios (Fabricius & Klumpp, 1995)

La importancia de los arrecifes coralinos para la salud del ecosistema y como provisión marítima de la nación (Birkeland, 1997) y el rápido declive de estos, que se estima en un 30% en la actualidad y un 60% para el año 2030 (Reaka-Kudla, 1997); hace ver la importancia del estudio de los componentes arrecifales como una unidad funcional. Y ya que la asociación entre octocorales y *Symbiodinium* ha recibido poca atención en comparación con los corales escleractínios, hace de vital importancia establecer la diversidad de zooxantelas en octocorales del Caribe colombiano (Cartagena) y determinar su distribución y tipo de relación con su hospedero.

Para esto se colectaron muestras de octocorales en arrecifes aledaños a Cartagena (Colombia) por medio de SCUBA. Los muestreos se realizaron en 11 arrecifes localizados en cinco localidades. Se realizó la extracción de ADN de acuerdo con el protocolo de Coffroth *et al.* (1992). La subunidad pequeña del gen ribosomal (18S-ADNr) fue amplificada y digerida con enzimas de restricción (*Taq-I*).

La evidencia aportada en este estudio: (1). La alta diversidad de zooxantelas simbiotes y su particular frecuencia (A, 0.02; B, 0.48; C, 0.50), (2) Presencia de dos tipos de

asociación, “monotípica” y “politépica”, (3) No especificidad aparente por parte del hospedero, (4) Una posible distribución batimétrica de clados de zooxantelas, (5) Baja influencia de las características y condiciones del arrecife en la distribución de los diferentes clados, y (6) La particular asociación por parte de *P. nina*; hacen de los arrecifes del Caribe colombiano un interesante modelo de estudio para profundizar en las relaciones mutualistas entre octocorales.

Palabras clave: *Symbiodinium*, zooxantela, octocoral, simbiote, Caribe colombiano, arrecife, Cartagena, clado, PCR, RFLP, *Taq*-I.

1. INTRODUCCIÓN

En su tratado de 1883 “*On the morphological and physiological importance of chlorophylls in animals*” Kart Brandt sugiere que las misteriosas “clorofilas animales” encontradas en radiolarios son de hecho algas mutualistas viviendo en asociación con sus hospederos protistas (Brandt, 1883). Antes de esto, consideradas generalmente parásitos, estas algas mutualistas llegaron a ser la clave para entender la biodiversidad potencial de los ecosistemas marinos en el planeta (Baker, 2004). Brandt acuñó el término *Zooxantela* (Gr. *Zoo* animal + Gr. *Xanth* amarillo + Gr. *Ella* diminuto = “célula animal amarilla”) para referirse a éstas algas (Brandt, 1883). Este término se aplica al grupo parafilético de microalgas endosimbiontes amarillas, pero en la actualidad es comúnmente usado (aunque incorrecto) para referirse exclusivamente a simbiontes dinoflagelados (y en particular al género *Symbiodinium*) (Baker, 2004).

Para la diversidad y ecología de los protistas unicelulares los dinoflagelados son uno de los grupos más importantes, ya que algunas de sus especies son los mayores componentes fotosintéticos o heterotróficos del plancton, mientras otras especies son consideradas agentes causantes de mortalidad de peces (Santos y Coffroth, 2003) y algunos son capaces de formar simbiosis mutualista con invertebrados marinos (Taylor, 1974). De entre los cuatro órdenes de dinoflagelados, ocho géneros son reconocidos como endosimbiontes de invertebrados y protistas marinos (Banaszak *et al.*, 1993; Trench, 1997). El género *Symbiodinium* Freudenthal es el más estudiado de este grupo parafilético y representa uno de los grupos más diversos (Baker, 2003) y comunes de endosimbiontes fotosintéticos; su presencia contribuye substancialmente en la productividad, sobrevivencia y éxito de sus hospederos (Muscatine y Porter, 1977) realizando simbiosis con varios grupos de invertebrados marinos, incluyendo foraminíferos, esponjas, cnidarios y moluscos (Glynn, 1996); siendo ésta una importante característica de los arrecifes coralinos (Van Oppen *et al.*, 2005).

La contribución fisiológica de éstos dinoflagelados a la simbiosis, incluye la translocación de carbón fijado fotosintéticamente y la asimilación y conservación del nitrógeno, jugando un papel vital en la nutrición del hospedero (Davies, 1993). Estas poblaciones simbiotas pueden llegar a tener densidades de varios millones por cm² de tejido de hospedero, niveles que no existen en el medio externo pobre en nutrientes (LaJeunesse, 2002).

Los primeros estudios asumían que todas las zooxantelas provenían de una única especie pandémica, *Symbiodinium microadriaticum* (Freudenthal) (Taylor, 1974). Sin embargo, en los 80's, se realizaron trabajos con cultivos de zooxantelas en bioquímica (Schoenberg y Trench, 1980a), morfología (Schoenberg y Trench, 1980b; Trench y Blank, 1987), infectividad (Schoenberg y Trench, 1980c), patrones de movilidad (Fitt *et al.*, 1981), cariotipos (Blank y Huss, 1989) y composición de bases de ADN (Blank *et al.*, 1988), demostrando que las zooxantelas comprenden un grupo heterogéneo de muchas especies (Trench, 1993; Rowan, 1998). Actualmente se han reconocido por métodos moleculares al menos ocho clados principales (A-H) de *Symbiodinium*, todos con múltiples "taxa" (Pawlowski *et al.*, 2001; Pochon *et al.*, 2001; Baker, 2003; LaJeunesse *et al.*, 2003).

Rowan y Powers (1991) fueron los primeros en analizar la subunidad pequeña del ADN ribosomal (n18s-ADNr) de *Symbiodinium* usando RFLP (Polimorfismos Largos de los Fragmentos de Restricción) y secuencias de ADN. Datos de otros marcadores nucleares de ADNr han sido aplicados para filogenias de *Symbiodinium*, incluyendo la subunidad grande de ADN ribosomal (n28s-ADNr) (Wilcox, 1998; Baker, 1991; Pawlowski *et al.*, 2001; Pochon *et al.*, 2001) y el espaciador interno transcrito (ITS)-ADNr (Hunter *et al.*, 1997; Baillie *et al.*, 2000; LaJeunesse, 2001). Basados en estos datos y en la confirmación con secuencias parciales de cloroplasto de la subunidad grande del ribosoma (Santos *et al.*, 2002), se han diferenciado ocho clados filogenéticos (A-H; Pochon *et al.*, 2001, 2004; Rodríguez-Lanetty, 2003), cinco de los cuales (A-D, F) son conocidos como formas asociadas a corales (Van Oppen, 2005) (Figura 1).

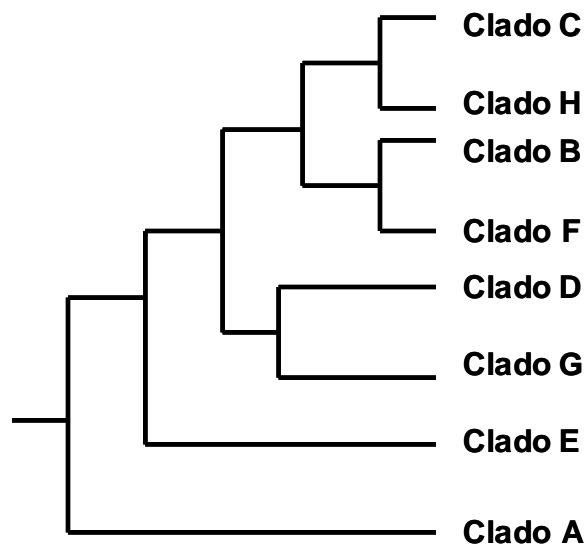


Figura 1. Relaciones filogenéticas entre los clados mayores de *Symbiodinium*. La topología es el cladograma consenso de Pochon *et al.*, 2004 y otras referencias citadas en Coffroth y Santos, 2005

La diversidad ecosistémica y ecológica de la comunidad de estos simbioses es poco entendida (Baker y Rowan, 1997). Se han realizado estudios moleculares que evalúan los patrones de diversidad y distribución poblacional de especies de *Symbiodinium* en simbiosis con grupos particulares de hospederos tales como corales escleractínios y octocorales (Cnidaria: Octocorallia) (Baker y Rowan, 1997; Rowan *et al.*, 1997; Baker, 1999; LaJeunesse y Trench, 2000).

Los octocorales caribeños de aguas someras (pertenecientes todos al orden Alcyonacea) son cnidarios modulares que están compuestos por pólipos que constan de ocho tentáculos monomórficos pinados conectados entre sí por el eje axial (Bayer, 1973) cada uno capaz de cumplir con todas las funciones fisiológicas del organismo (reproducción, alimentación, excreción, defensa, etc). Poseen un tejido semi-suave llamado cenémquima que contiene cristales microscópicos de calcita de magnesio, llamados escleritos (Bayer, 1992). Los escleritos son el carácter más importante para la actual taxonomía y clasificación de los octocorales (Sánchez *et al.*, 2003). La gran mayoría son coloniales y sus formas van desde simples hasta redes complejas (e.g. Bayer, 1973; Kaandrop y

Kübler, 2001; Lasker y Sánchez, 2002; Sánchez y Lasker, 2003), las especies coloniales pueden medir desde pocos centímetros hasta tres metros de altura. Se distribuyen desde el Ártico hasta el Antártico en hábitats que van desde intersticios a abismos profundos (Bayer, 1961).

Se conocen dos tipos básicos de reproducción sexual en octocorales: (1) desoves masivos con fertilización y desarrollo en la columna de agua y (2) fertilización externa o interna en la colonia madre y la subsiguiente liberación de embriones. La fertilización externa ocurre en todos los miembros del Orden Coenothecalia (Babcock, 1990) y es común en el orden Alcyonacea (Alino y Coll, 1989; Brazeau y Lasker, 1989, 1990; Coma *et al.*, 1995; Grigg, 1977; Goldberg y Hamilton, 1974; Kinzie, 1970) pero es desconocido para el orden Pennatulacea para los cuales solo se conoce el desove masivo (Rice *et al.*, 1992; Tyler *et al.*, 1995; Eckelbarger *et al.*, 1998). Entre los octocorales alcyonáceos el tipo de reproducción varía según el grupo (“corales suaves” vs. “tipo gorgónidos”) y el medioambiente (tropical vs. templado). Sin embargo estas generalizaciones están basadas en el poco conocimiento de la reproducción de este orden (Simpson, 2006). Coll *et al.* (1995) consideran que el desove masivo es la estrategia de reproducción sexual más común de los alcyonáceos pero los corales del tipo gorgónido presentan generalmente fertilización interna.

Los arrecifes tropicales poseen la más alta diversidad y abundancia de invertebrados epibentónicos que contienen zooxantelas (LaJeunesse, 2002). Los octocorales son, después de los corales escleractínios, los segundos macroinvertebrados más abundantes de los arrecifes coralinos Indopacíficos y Caribeños. En el Caribe se pueden observar más de 40 especies coexistiendo en una misma área contribuyendo con la complejidad estructural y biodiversidad del arrecife (Santos, 2004; Van Oppen *et al.*, 2005)

El Caribe suroccidental se distingue por el desarrollo significativo de arrecifes coralinos tanto en el sector costero continental como en el oceánico (Díaz-Pulido *et al.*, 2004). Los arrecifes continentales son en su mayoría franjeantes o de

plataforma, localizados principalmente en ensenadas y bahías formando pequeños archipiélagos cerca de la costa (Wells, 1988). Estas áreas continentales están marcadas por eventos geológicos específicos de la plataforma como el diapirismo (e.g. Sánchez, 1995), la forma de las bahías y otros procesos sedimentarios (Vernnetto, 1986, 1989). Aunque el Caribe sur, incluida la costa colombiana, ha sido considerado como oligotrófico, tiene la influencia constante de cerca del 20% de la descarga mundial anual de aguas ribereñas (ríos Amazonas, Orinoco, Magdalena y Atrato) aportando una mayor oferta de alimento suspendido para los organismos epibentónicos marinos.

Los arrecifes de Isla Barú e Islas del Rosario de Cartagena son el complejo arrecifal más desarrollado en la costa colombiana, consta de más de 20 km de arrecifes franjeantes y otros complejos arrecifales, sobre una de las geologías más particulares del Mar Caribe (diapirismo arcilloso: Vernnetto, 1989) presentando una de las más altas diversidades octocoralinas (e.g., Sánchez, 1995, 1999; Díaz *et al.*, 2000; Cendales *et al.*, 2002). Aunque las formaciones calcáreas de Barú y de Islas del Rosario datan de distintas épocas, Plio-Pleistoceno las primeras y Holoceno las segundas, buena parte de ellas resultaron emergidas en el Holoceno, 5000 años atrás, y constituyen el sustrato actual del litoral (Vernnetto, 1985, 1989). Al interior de la bahía de Cartagena y en torno a Tierra Bomba existían grandes formaciones coralinas que actualmente han desaparecido o se encuentran en avanzado estado de deterioro debido a la apertura del Canal del Dique (hace tres siglos) que comunica el Río Magdalena con las bahías de Cartagena y Barbacoas, vertiendo aguas dulces con alta carga de sedimentos (Alvarado *et al.*, 1986).

Actualmente, las formaciones coralinas vivas se encuentran bordeando el flanco noreste de la península de Barú, en torno a las Islas del Rosario y formando varios bancos sobre alto-relieves de la plataforma continental a cierta distancia de la costa. La irregularidad del relieve y su localización privilegiada con respecto al régimen de vientos y corrientes han dado lugar a variados ambientes y asociaciones bióticas que hacen que se trate de una de las áreas coralinas más

desarrolladas geomorfológica y estructuralmente del Caribe colombiano. Los fondos submarinos de toda el área y la porción emergida de la Isla del Rosario están cobijados legalmente para su protección como parte del Parque Nacional Corales del Rosario y San Bernardo. Las formaciones coralinas actuales están edificadas sobre terrazas disectadas durante transgresiones marinas y sus bordes se hacen a veces evidentes a profundidades entre 8-12m y 21-25m respectivamente (Díaz, 2000).

Las terrazas de barlovento al costado norte de las Islas Tesoro y frente a Punta Barú se caracterizan por ser de poca amplitud y cortadas súbitamente por una vertiente con pendiente pronunciada, que generalmente exhibe un exuberante crecimiento coralino hasta mas allá de los 40 m de profundidad (Díaz, 2000). La composición y estructura de la comunidad coralina en el área muestran una zonación vertical que responde a los gradientes de profundidad y turbulencia.

Por otro lado, el bajo de tipo banco, Las Palmas, es un domo o altorrelieve que se levanta desde profundidades cercanas a 35 m hasta 5 m por debajo de la superficie, se localiza en la parte mas occidental del área y esta separado de otros arrecifes por fondos sedimentarios de más de 30m de profundidad. Los bajos de Salmedina se localizan aproximadamente a 6 km al occidente de la ciudad de Cartagena, y son de origen diapírico sin porción emergida (Vernette, 1985). Reciben la influencia de las descargas continentales del río Magdalena durante la época de los vientos Alisios del noreste (diciembre-abril) y se ven afectados casi constantemente por los flujos de sedimentos y aguas servidas (industriales y domésticas) de la bahía de Cartagena en la segunda parte del año, cuando los Alisios se debilitan y predomina la Contracorriente del Darien hacia el noreste (Díaz, 2000).

La importancia de los arrecifes coralinos para la salud del ecosistema, como para la provisión marítima de la nación (Birkeland, 1997), además del rápido declive de estos, estimado en la actualidad en un 30% y para el año 2030 en un 60% (Reaka-Kudla, 1997); hace ver la importancia del estudio de los componentes

arrecifales como una unidad funcional. Ya que la asociación entre octocorales y *Symbiodinium* ha recibido poca atención en comparación con los corales escleractínios, se hace de vital importancia establecer la diversidad de zooxantelas en octocorales del Caribe colombiano (Cartagena) y determinar su distribución y tipo de relación con su hospedero.

2. METODOLOGÍA

2.1. Muestras de octocorales

Se colectaron muestras frescas (199 muestras en total) pertenecientes a 10 géneros (27 especies) de 3 familias de octocorales (Tabla 1). Las muestras fueron colectadas en arrecifes aledaños a Cartagena (Colombia) posicionados mediante GPS portátil, durante los meses de mayo-junio de 2005 por medio de SCUBA. Los muestreos se realizaron en 11 arrecifes localizados en cinco localidades, tratando de colectar en áreas someras (≤ 14 m) y profundas (≥ 18 m) (Figura 2. Tabla 1).

Inmediatamente después de la colección las muestras fueron preservadas en etanol al 95% (EtOH) o sal saturada DMSO (Seutin *et al.*, 1991) y posteriormente congeladas a -70°C . La identificación de todas las muestras se realizó en campo utilizando la clave de Sánchez y Wirshing del 2005 y en laboratorio mediante la diferenciación de escleritos con la clave de Bayer (1961).

2.2. Extracción de ADN, PCR (Reacción en cadena de la Polimerasa) y fragmentos de restricción

El ADN total fue extraído de fragmentos de 0.5cm^3 de acuerdo con el protocolo de Coffroth *et al* (1992). Este método extrae el ADN tanto del hospedero como de la población de simbiontes de *Symbiodinium*. El producto final de extracción para cada muestra fue diluido 1:20 y se usó $1\ \mu\text{l}$ como template para amplificación. La subunidad pequeña del gen ribosomal (18s-ADNr) fue amplificada y digerida con enzimas de restricción (*Taq*-I). Se usaron los primers ss5z y ss3z de Rowan y Powers (1991) para la amplificación llevada a cabo mediante las siguientes condiciones: un paso inicial de denaturación de 2 min a 94°C seguido por 30 ciclos de 30 s a 94°C , 1 min a 61.6°C , y 1 min a 72°C , seguido por una extensión final de 2 min a 72°C . Los fragmentos de restricción de los productos amplificados se generaron por incubación con 1 unidad de *Taq* I (Promega) a 65°C por 3 a 5 horas. Los productos de digestión fueron separados por electroforesis en gel de poliacrilamida al 7% a un voltaje constante de 150 por 50

min, el gel fue teñido en una solución de 5mg/ml de bromuro de etidio por 30 minutos y fotografiado con luz UV (Chemidoc XRS, BioRad). Los resultados fueron comparados con los patrones de *Symbiodinium* spp. A, B, C y D publicados por Santos *et al.* (2002) (Figura 3).

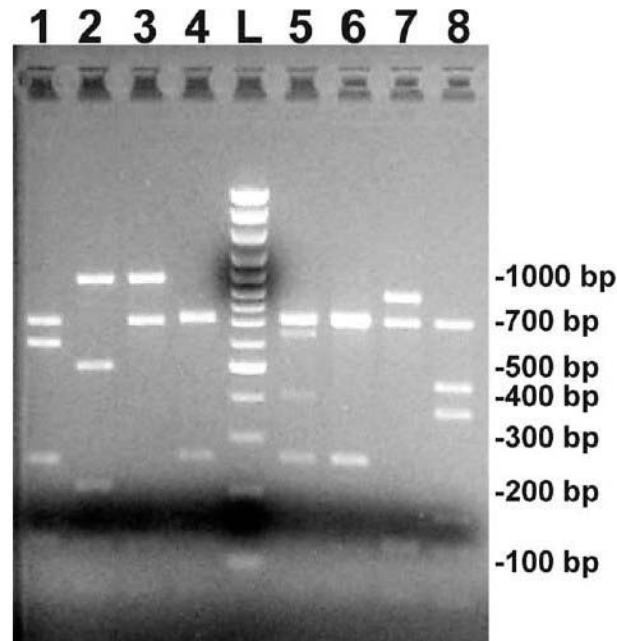


Figura 3. Patrón de bandeado de RFLP para *Symbiodinium* spp. Gen 18s-ADNr obtenido por Santos *et al.*, 2002 para el clado A (Columna 1), clado B (Columna 2), clado C (Columna 3), clado D (Columnas 4, 5 y 6) y clado E (Columna 7)

2.3. Análisis estadístico de las diferentes asociaciones

Con el fin de establecer algún tipo de especificidad entre los clados de zooxantelas y octocorales, se realizó una prueba de bondad de ajuste (X^2) entre clados de *Symbiodinium* y géneros de octocorales. Se utilizó este mismo estadístico (X^2) para determinar la existencia de algún tipo de asociación entre la profundidad (9, 10, 12, 14, 18 y 20m), localidad, cercanía al Canal del Dique, características del arrecife (Bajos o Franjeantes) y la distribución de los diferentes clados. Todas las comparaciones fueron analizadas a un nivel de significancia de 0.05, con el software estadístico Statistix 8.0.

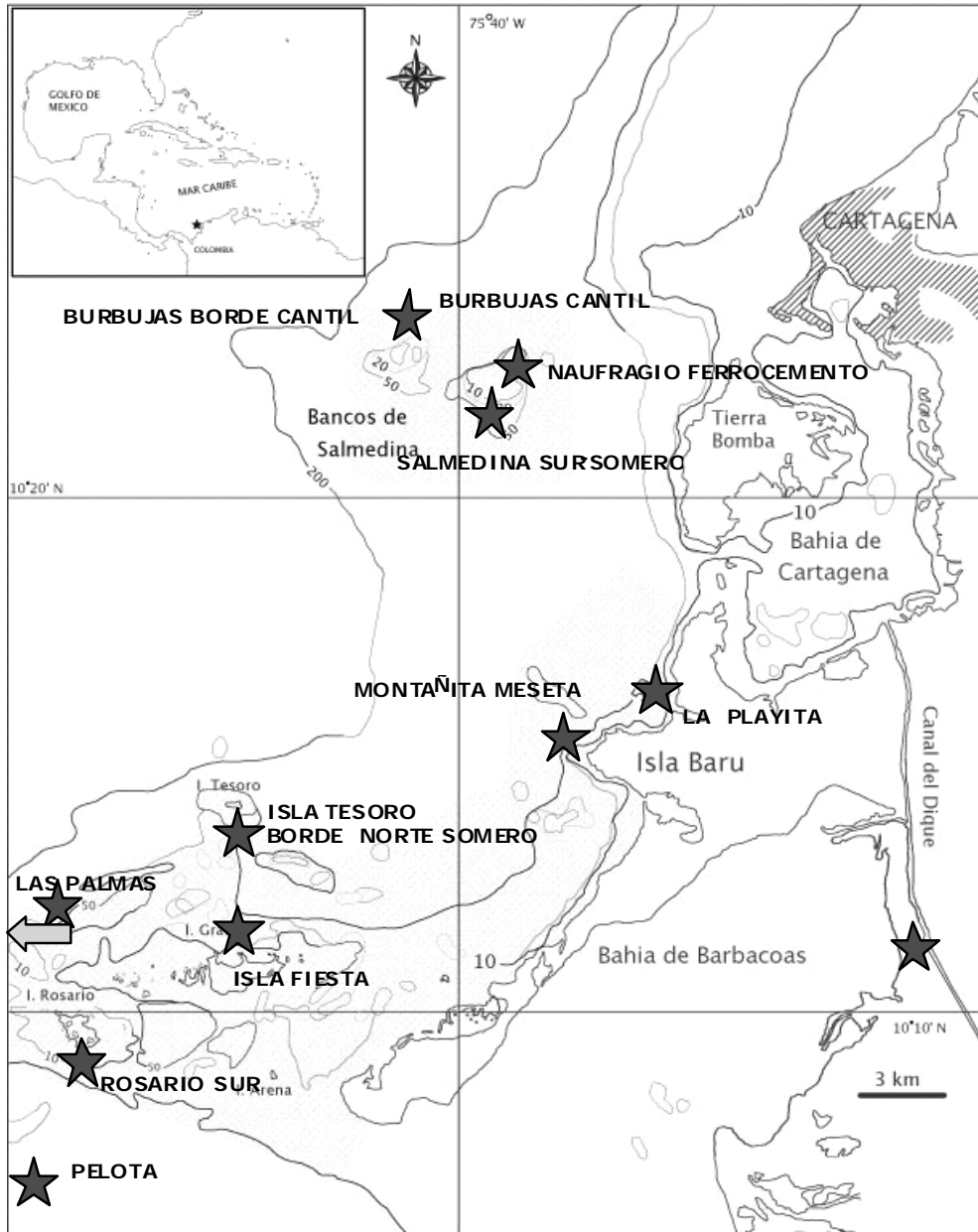


Figura 2. Mapa de los arrecifes aledaños a Cartagena (Colombia). Las estrellas rojas representan los sitios de muestreo de este estudio (BIOMMAR)

Tabla 1. Especies de octocorales colectadas en las localidades muestreadas en el Caribe colombiano (Cartagena)

LOCALIDAD	ARRE CIFE	PROFUNDIDAD (m)	POSICIÓN GE OGRÁFICA	ESPE CIE
Burbujas	Borde cantil	12.2	10° 23'1,9"N 75°41'13,2"W	<i>Eunicea mammosa</i>
				<i>Plexaurella grisea</i>
				<i>Pseudoplexaura flagellosa</i>
				<i>Pseudopteroqorgia rigida</i>
				<i>Pterogorgia anceps</i>
	Cantil	19.81		<i>Pterogorgia guadalupensis</i>
				<i>Muricea atlantica</i>
				<i>Muriceopsis flavida</i>
				<i>Pseudopteroqorgia rigida</i>
				<i>Pterogorgia citrina</i>
Isla Barú	Montañita Meseta	14	10°15'71"N 75°37'12" W	<i>Erythropodium caribaeorum</i>
				<i>Eunicea asperula</i>
				<i>Muricea laxa</i>
				<i>Muricea pinnata</i>
				<i>Plexaurella nutans</i>
	<i>Pseudopteroqorgia rigida</i>			
	Playita	9.14	10°15'47,7" N 75°35'50,1" W	<i>Erythropodium caribaeorum</i>
Isla Tesoro	Borde norte-somero	12.2	10°13'50" N 75°44'20" W	<i>Erythropodium caribaeorum</i>
				<i>Eunicea flexuosa</i>
				<i>Eunicea lacinia</i>
				<i>Muricea atlantica</i>
				<i>Plexaura kuna</i>
				<i>Plexaura nina</i>
				<i>Pseudoplexaura porosa</i>
Isla Tierra Bomba	Salmedina Naufragio ferrocemento-profundo	18.3	10°22'39" N 75°38'39,6" W	<i>Eunicea colombiana</i>
				<i>Eunicea lacinia</i>
				<i>Muricea laxa</i>
				<i>Muricea pinnata</i>
				<i>Plexaura nina</i>
	Salmedina Naufragio ferrocemento-somero	9.14		<i>Pseudoplexaura porosa</i>
				<i>Pseudopteroqorgia americana</i>
				<i>Pterogorgia guadalupensis</i>
	Salmedina sur-somero	10.67		<i>Eunicea succinea</i>
				<i>Erythropodium caribaeorum</i>
				<i>Eunicea clavigera</i>
				<i>Plexaura kukenthalii</i>
Islas del Rosario	Isla Fiesta	9.14	10°11'23" N 75°44'24,2" W	<i>Erythropodium caribaeorum</i>
	Las Palmas	18.3	10°9'30" N 75°51'2,1" W	<i>Gorgonia ventalina</i>
				<i>Pseudopteroqorgia bipinnata</i>
	Pelota	18.3	10°8'39,6" N 75°46'16,5" W	<i>Briareum asbestinum</i>
Rosario Sur	12.2	10°9'12" N 74°47'5,2" W	<i>Erythropodium caribaeorum</i>	

3. RESULTADOS

De un total de 199 muestras extraídas de octocorales, se obtuvieron 73 productos de amplificación por PCR del gen 18s-ADNr, los cuales se fragmentaron con la enzima *Taq-I* con un éxito del 61.6% (45 muestras de 73). Los patrones mostraron la presencia de los clados de *Symbiodinium* A, B y C con una frecuencia en el muestreo de 0.02, 0.48 y 0.5 respectivamente. Dos tipos de asociaciones entre *Symbiodinium* spp. y su hospedero fueron observadas, en la primera un solo clado de *Symbiodinium* fue encontrado por individuo (“monotípico”), mientras que en la segunda aparecen dos clados de manera simultánea en un mismo individuo (“politépica”) (Tabla 2).

De los patrones encontrados para los octocorales de los arrecifes aledaños a Cartagena (Caribe colombiano), 10 de las 27 especies muestreadas hospedan *Symbiodinium* del clado B, 10 el clado C y una el clado A. Seis especies presentaron asociación simultánea con dos tipos de zooxantela del clado B y C (B+C). Las especies *Pseudopterogorgia rigida*, *Pterogorgia guadalupensis* y *Muricea pinnata* presentaron los dos tipos de asociación, “monotípica” con el clado C ó B y “politépica” con los clados B y C. No se encontró clado D o E en ninguna de las especies de octocorales muestreadas (Tabla 2).

Solo un individuo de *Plexaura nina* presentó simbiosis con *Symbiodinium* del clado A, el otro individuo de esta especie se encontró asociado con el clado B. Zooxantelas del clado B se observaron como “monotípicas”, en tejidos de miembros de las especies *Briareum asbestinum*, *Eunicea colombiana*, *E. laciniata*, *Muricea laxa*, *M. pinnata*, *Plexaura kuna*, *P. nina*, *Plexaurella grisea*, *Pseudopterogorgia americana*, *P. bipinnata* y *Pterogorgia guadalupensis*. Se encontró el clado C asociado con las especies *Erythropodium caribaeorum*, *Eunicea asperula*, *E. clavigera*, *E. flexuosa* (sinonimia de *Plexaura flexuosa*), *E. succinea*, *Muriceopsis flavida*, *Plexaura kukenthalii*, *Plexaurella nutans*, *Pseudoplexaura flagellosa* y *Pseudopterogorgia rigida*. Los patrones de bandeó

de RFLP característicos de estos tres clados de zooxantelas pueden ser observados en la Figura 4a y 4b.

Tabla 2. Tipos de asociación entre zooxantelas y especies de octocorales del Caribe colombiano. Las letras en la tabla representan el clado de *Symbiodinium* asociado. Las especies *Muricea pinnata*, *Pseudopteroqorgia rigida* y *Pterogorgia guadalupensis* presentan tanto asociación del tipo “monotípica” como “politépica”.

ESPECIE	TIPO DE ASOCIACIÓN	
	MONOTÍPICA	POLITÉPICA
<i>Briareum asbestinum</i>	B	
<i>Erythropodium caribaeorum</i>	C	
<i>Eunicea asperula</i>	C	
<i>Eunicea clavigera</i>	C	
<i>Eunicea colombiana</i>	B	
<i>Eunicea flexuosa</i>	C	
<i>Eunicea laciniata</i>	B	
<i>Eunicea mammosa</i>		B+C
<i>Eunicea succinea</i>	C	
<i>Gorgonia ventalina</i>		B+C
<i>Muricea atlantica</i>		B+C
<i>Muricea laxa</i>	B	
<i>Muricea pinnata</i>	B	B+C
<i>Muriceopsis flavida</i>	C	
<i>Plexaura kukenthali</i>	C	
<i>Plexaura kuna</i>	B	
<i>Plexaura nina</i>	A ó B	
<i>Plexaurella grisea</i>	B	
<i>Plexaurella nutans</i>	C	
<i>Pseudoplexaura flagellosa</i>	C	
<i>Pseudoplexaura porosa</i>		B+C
<i>Pseudopteroqorgia americana</i>	B	
<i>Pseudopteroqorgia bipinnata</i>	B	
<i>Pseudopteroqorgia rigida</i>	C	B+C
<i>Pterogorgia anceps</i>		B+C
<i>Pterogorgia citrina</i>		B+C
<i>Pterogorgia guadalupensis</i>	B	B+C

Adicionalmente, las especies *Eunicea mammosa*, *Gorgonia ventalina*, *Muricea atlantica*, *M. pinnata*, *Pseudoplexaura porosa*, *Pseudopteroqorgia rigida*, *Pterogorgia anceps*, *P. citrina* y *P. guadalupensis*, mostraron la presencia de dos tipos de *Symbiodinium* simultáneamente, los que coinciden con los patrones de bandeo que se ajustan a los de los clados B y C, (e.g. Figura 4b). Cabe resaltar que los clados de zooxantelas asociados a las especies *E. colombiana*, *M.*

pinnata, *P. kukenthali*, *P. nina* y *P. guadalupensis* no habían sido anteriormente reportados para octocorales del Caribe.

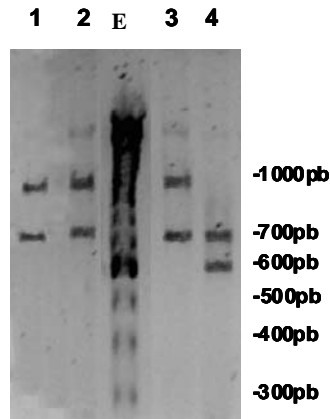


Figura 4a. Fragmentos de RFLP generados por *Taq-I* del gen 18s-ADNr para *Symbiodinium* spp. asociados a octocorales de este estudio. 1. *Eunicea flexuosa* (C); 2. *Erythropodium caribaeorum* (C); E. Escalera de 100pb; 3. *Erythropodium caribaeorum* (C); 4. *Plexaura nina* (A). Las letras entre paréntesis representan el clado de *Symbiodinium* según RFLP del 18s-ADNr

A pesar de haber encontrado una alta diversidad de clados de zooxantelas asociadas a octocorales en el Caribe colombiano, al analizar los datos sin tener en cuenta el clado A (por presentarse en una solo muestra) y el género *Erythropodium* (por presentarse en altas cantidades en el muestreo) no se observó una especificidad por parte de los géneros de octocorales hospederos con un simbiote determinado ($P>0.05$, Anexo 1B).

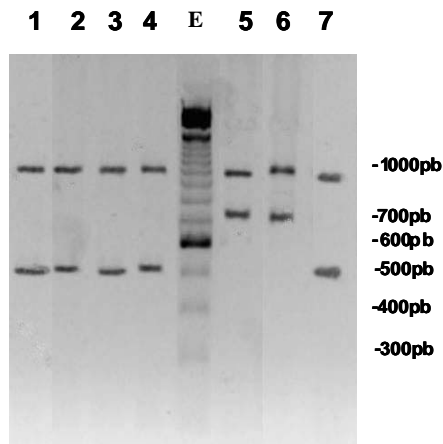


Figura 4b Fragmentos de RFLP generados por *Taq-I* del gen 18s-ADNr para *Symbiodinium* spp. asociados a octocorales de este estudio. 1. *Plexaura nina* (B); 2. *Eunicea colombiana* (B); 3. *Pseudopterogorgia americana* (B); 4. *Pterogorgia guadalupensis* (B); E. Escalera de 100pb; 5. *Erythropodium caribaeorum* (C); 6. *Erythropodium caribaeorum* (C); 7. *Muricea laxa* (B) Las letras entre paréntesis representan el clado de *Symbiodinium* según RFLP del 18s-ADNr

Examinando el tipo de zooxantela a diferentes profundidades (9, 10, 12, 14, 18 y 20 m) se observó una tendencia significativa en la distribución de los clados de zooxantela en función de la profundidad ($P < 0.05$). A profundidades menores de 10 m ($n=6$), únicamente se encontraron simbiontes del tipo C. A los 12 m ($n=15$) se colectó el individuo de *Plexaura nina* que se asoció con *Symbiodinium* clado A y se observó en alto porcentaje (40%) la asociación con la mezcla de clados B+C. A profundidades de 14 m ($n=8$) se presentó el clado C como mayoritario observándose en el 62.5% de las muestras. Las muestras colectadas a 18 m ($n=11$) mostraron únicamente la presencia del clado B y la mezcla B+C, siendo el primero mayoritario (81.81%). Finalmente a 20 m ($n=5$) se encontró clado C y la mezcla B+C en las siguientes proporciones 40% y 60% respectivamente (Tabla 3 y Figura 5).

Tabla 3. Distribución de los clados según la profundidad

Profundidad (m)	Nº de colonias	Clados			
		A	B	C	B+C
9 a 10	6	0	0	6	0
12	15	1	4	4	6
14	8	0	1	5	2
18	11	0	9	0	2
20	5	0	0	2	3

Adicionalmente, para esclarecer la asociación encontrada entre la profundidad y el tipo de zooxantela, se realizó una prueba de asociación en la que se agruparon las profundidades en “someras” (≤ 14 m) y “profundas” (≥ 18 m), la cual mostró que el clado C prevalece en profundidades menores o iguales a 14 m mientras el tipo B lo hace en profundidades mayores o iguales de 18 m ($P < 0.05$, Anexo 2 y Figura 5).

La distribución de los tipos de zooxantelas en las diferentes localidades se muestra en la Tabla 4, y presenta un comportamiento aleatorio ($P > 0.05$). Este mismo comportamiento fue observado al agrupar estas localidades entre aquellas que están bajo la influencia del Canal de Dique (Burbujas y Isla Tierra Bomba) y las que no (Isla Barú, Isla Tesoro e Islas del Rosario), así como por la característica

del arrecife (Bajos: Burbujas, Isla Tierra Bomba, Las Palmas y Pelota; Arrecifes franjeantes: Isla Barú, Isla Tesoro, Isla Fiesta y Rosario Sur. Anexo 3)

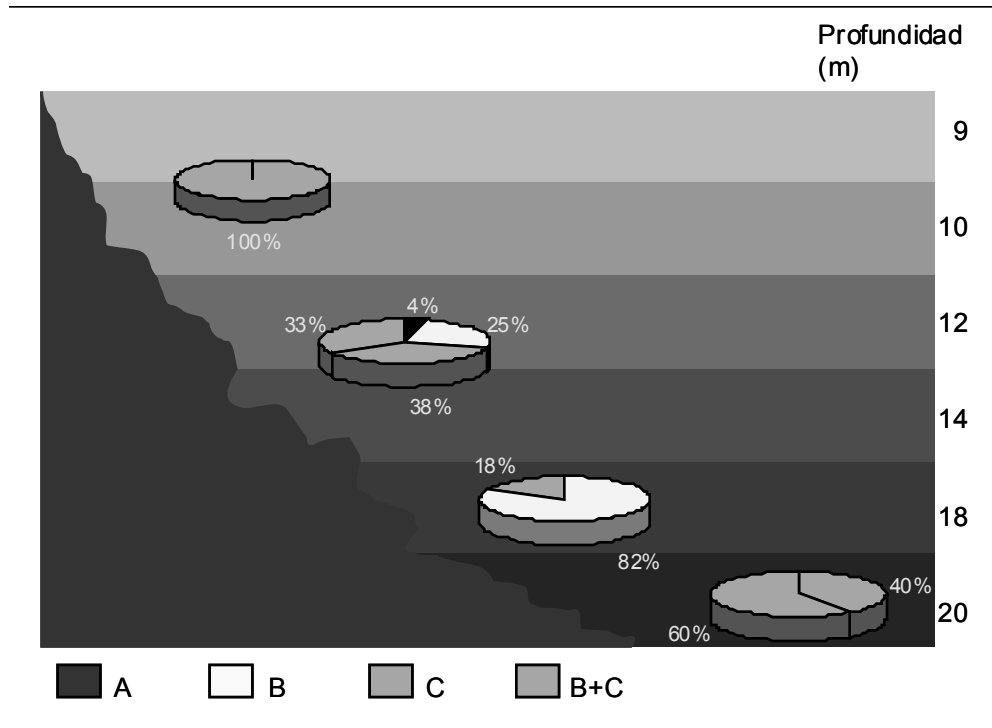


Figura 5. Distribución batimétrica de los clados de *Symbiodinium*

Hay que resaltar que las tres especies de octocorales que presentaron los dos tipos de asociación (*P. rigida*, *P. guadalupensis* y *M. pinnata*) mostraron una distribución característica, a menor profundidad (< 14m) su asociación es con la mezcla B+C y a profundidad mayor es “monotípica”. Por otro lado, se observó que *Plexaura nina* presentó una asociación con el clado A a una profundidad de 12 m, mientras que se asoció con el clado B a profundidades de 18 m (Tabla 1).

Tabla 4. Distribución de los clados según la localidad

Localidad	Nº de colonias	Clados			
		A	B	C	B+C
BURBUJAS	11	0	1	3	7
BARU	1	0	1	6	2
TESORO	8	1	3	2	2
T.BOMBA	12	0	7	4	1
ROSARIO	5	0	2	2	1

4. DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que examina la diversidad y estructura de la comunidad de las poblaciones de *Symbiodinium* spp. asociadas a octocorales del Caribe colombiano. Estos datos indicaron que la diversidad de simbioses es alta (clados A, B y C) y que esta diversidad coincide con las comunidades de zooxantelas de vida libre reportados en previos estudios para esta misma área del Caribe colombiano (clados B y C: Porto, 2006:). La permanencia y dominancia de dichos tipos de zooxantelas, con B y C dominantes en iguales proporciones aproximadamente (48 y 50% respectivamente) y A ocasionalmente (2%), fue una novedad para los octocorales en todo el Caribe. Para el Caribe se ha encontrado el clado B como el más común y el clado C como raro en estudios de colonias adultas de octocorales (Coffroth *et al.*, 2001; LaJeunesse, 2002; Goulet y Coffroth, 2003; Santos *et al.*, 2003; Goulet y Coffroth, 2004, Santos *et al.*, 2004). Adicionalmente, el clado A solo ha sido registrado para reclutas o cultivos de unas pocas especies de octocorales del Caribe (LaJeunesse, 2001; Santos *et al.*, 2002, 2003).

Estudios previos han demostrado que los corales hospederos pueden presentar simbiosis con uno o más linajes de *Symbiodinium* (Rowan y Knowlton, 1995; Baker y Rowan, 1997). Sin embargo, Van Oppen *et al.*(2005) en su revisión para octocorales del Caribe, encuentran que un 97.1% de las especies presentan asociación con un único clado, lo que contrasta con lo observado en este estudio donde un 31% de las especies colectadas presentan asociación simultanea con los clados B y C.

Para los octocorales del Caribe, la mayoría de especies hospedan únicamente zooxantelas del clado B (Van Oppen *et al.*, 2005; Goulet y Coffroth, 2004). Esto es coincidente para las colonias adultas de las especies colectadas en este estudio: *B. asbestinum*, *E. laciniata*, *P. kuna*, *M. laxa*, *P. americana* y *P. bipinnata*, las cuales también han sido registradas por Santos *et al.* (2002, 2003, 2004), Lewis y Coffroth (2004), LaJeunesse (2002), Van Oppen *et al.* (2005) y Goulet y Coffroth

(2004) en el Caribe. En este estudio *E. colombiana* es un nuevo aporte a esta lista de hospederos asociados con dicho clado y adicionalmente se registra una nueva asociación con simbiontes del clado B para *P. grisea* que solo había sido registrada en Panamá como hospedero de *Symbiodinium* del tipo C (Van Oppen *et al.*, 2005).

La asociación de adultos de octocorales con el clado C es menos frecuente (Coffroth y Santos, 2005) y se ha registrado para dos de las 10 especies de este estudio únicamente, *E. caribaeorum* y *E. clavigera* (LaJeunesse, 2002; Van Oppen *et al.*, 2005; Goulet y Coffroth, 2004). Cinco de las restantes han sido registradas en asociación con el clado B: *E. aspenula*, *E. flexuosa*, *E. succinea*, *M. flavida*, *P. rigida* y *P. nutans* (LaJeunesse, 2002; Van Oppen *et al.*, 2005; Goulet y Coffroth, 2004) y dos no presentan ningún registro hasta el momento *P. flagellosa* y *P. kukenthalii*.

Hay varias explicaciones para la existencia de tipos dominantes de simbiontes en una comunidad de corales, entre estas las características del simbionte como su tamaño, su tasa de crecimiento, su habilidad para obtener nutrientes y su fotoaclimatación, atributos que pueden llevar a diferencias en su capacidad competitiva y preferencia de hábitat, haciendo que la variación de los factores físicos del medioambiente (como luz, flujo, nutrientes, etc.) y las características bioquímicas e histológicas del hospedero ofrecen una variedad de nichos (LaJeunesse, 2002) para ser colonizados por los simbiontes mejor adaptados.

La presencia de clados simultáneos en un mismo individuo de una especie no es raro para corales escleractínios del Caribe (Baker, 1999, 2001; Baker *et al.*, 1997; Glynn *et al.*, 2001; LaJeunesse 2001, 2002; LaJeunesse *et al.*, 2003; Pawłowski *et al.*, 2001; Pochon *et al.*, 2001; Santos *et al.*, 2001; Van Oppen, 2001) y ha sido registrado en un estudio paralelo a este para zoantídeos del Caribe colombiano (clados B y C: Lima, 2006:). Los únicos reportes en el Caribe donde se han observado dos clados simultáneos (B y C) en un mismo individuo de octocoral es el realizado en este estudio para las especies *E. mammosa*, *G. ventalina*, *M.*

atlantica, *M. pinnata*, *P. porosa*, *P. rigida*, *P. anceps*, *P. citrina* y *P. guadalupensis* y el realizado por LaJeunesse (2002) para *Eunicea toumerforti* y *Plexaura homomalla* en la Península de Yucatán. Este tipo de asociación puede ser efecto de la adquisición inicial poco selectiva de simbiontes por parte del pólipo (Coffroth y Santos, 2005) que al alcanzar una edad adulta establece simbiosis específica con uno de estos clados (Coffroth *et al.*, 2001) y lo que se observó es una etapa anterior a la escogencia específica de un clado por parte del coral. Sin embargo, esto no parece ser lo que está sucediendo en este caso, ya que todas las colonias colectadas fueron adultas. Este patrón también puede ser una consecuencia de condiciones especiales del holobionte (coral-zooxantela), que permiten el desarrollo de dos clados diferentes sin llevar a una exclusión competitiva entre ellos, esto se corrobora con lo observado en estudios de cultivos de zooxantelas donde se desarrollan poblaciones de tipos que en condiciones naturales no son detectables (Santos *et al.*, 2001). En este caso las dos poblaciones simbiotas han sido detectadas en vida libre (Porto, 2006) y podrían estar disponibles para la adquisición por parte del hospedero y ser una condición particular del Caribe colombiano. En este estudio se esperaba encontrar una especificidad del hospedero que determinara la permanencia y abundancia de un tipo particular de simbiota (Goulet y Coffroth, 2004), ya sea “monotípico” o “politépico”, sin embargo esto no parece aplicarse a nivel de géneros de octocorales en el Caribe colombiano lo cual puede ser consistente con esta última hipótesis de no exclusión competitiva.

Investigaciones iniciales sobre la diversidad intraespecífica en corales escleractinios del Caribe han mostrado un patrón predecible de distribución batimétrica: los tipos de *Symbiodinium* A y B se encuentran en aguas someras entre los 0 y 3 m y el tipo C es de aguas profundas entre los 3 y 14 m (Rowan y Knowlton, 1995; Toller *et al.*, 2001). Van Oppen *et al.*, (2005) encontraron que para octocorales del Caribe, no existe variación en el tipo de clado en relación con la profundidad a la que se encuentra el hospedero y en su estudio Goulet y Coffroth (2004) observan que el 97.1% de las especies de octocorales del Caribe presentan un solo tipo de simbiota y que este no varía con la profundidad. Este

estudio mostró que podría existir un patrón batimétrico para los octocorales del Caribe colombiano, reflejando posibles diferencias en las condiciones físicas y químicas de la columna de agua, ya que parece haber una diferenciación entre ambientes someros y profundos que no se debe a las condiciones y/o características de los arrecifes.

El hecho de que *P. nina* haya presentado dos tipos diferentes de simbiontes según el área y que se asoció con el clado A en una profundidad menor que cuando lo hizo con el B, puede sugerir una interacción entre la especificidad y las condiciones locales (LaJeunesse y Trench, 2000; Rodríguez-Lanetty *et al.*, 2001; Rowan y Knowlton, 1995; Rowan *et al.*, 1997; Secord, 1995). En muchos casos las condiciones ambientales promueven asociaciones diferentes debido a gradientes de profundidad, irradiación, temperatura y ontogenia del hospedero; promoviendo la selección de un simbionte mejor adaptado a esta combinación de factores.

La presencia de especies con asociaciones “monotípicas” y “politípicas” también muestra una tendencia en función a la profundidad y el área de colecta, presentando la asociación del tipo “monotípica” a menores profundidades que cuando lo hace con dos clados simultáneamente, esto puede ser una respuesta a lo anteriormente mencionado sobre el grado de madurez del coral hospedero, al medio ambiente del holobionte (Coffroth y Santos, 2005) ó a presiones ambientales diferentes que permiten la coexistencia de varios tipos de zooxantela.

La nueva evidencia aportada en este estudio se resume así: (1). La alta diversidad de zooxantelas simbiontes y su particular frecuencia (A, 0.02; B, 0.48; C, 0.50), (2) Presencia de dos tipos de asociación, “monotípica” y “politípica”, (3) No especificidad aparente por parte del hospedero, (4) Una posible distribución batimétrica de clados de zooxantelas, (5) Baja influencia de las características y condiciones del arrecife en la distribución de los diferentes clados, y (6) La particular asociación por parte de *P. nina*; hacen de los arrecifes del Caribe colombiano un interesante modelo de estudio para profundizar en las relaciones

mutualistas entre octocorales y zooxantelas, lo cual contribuirá de manera vital en la futura conservación de los ecosistemas marinos.

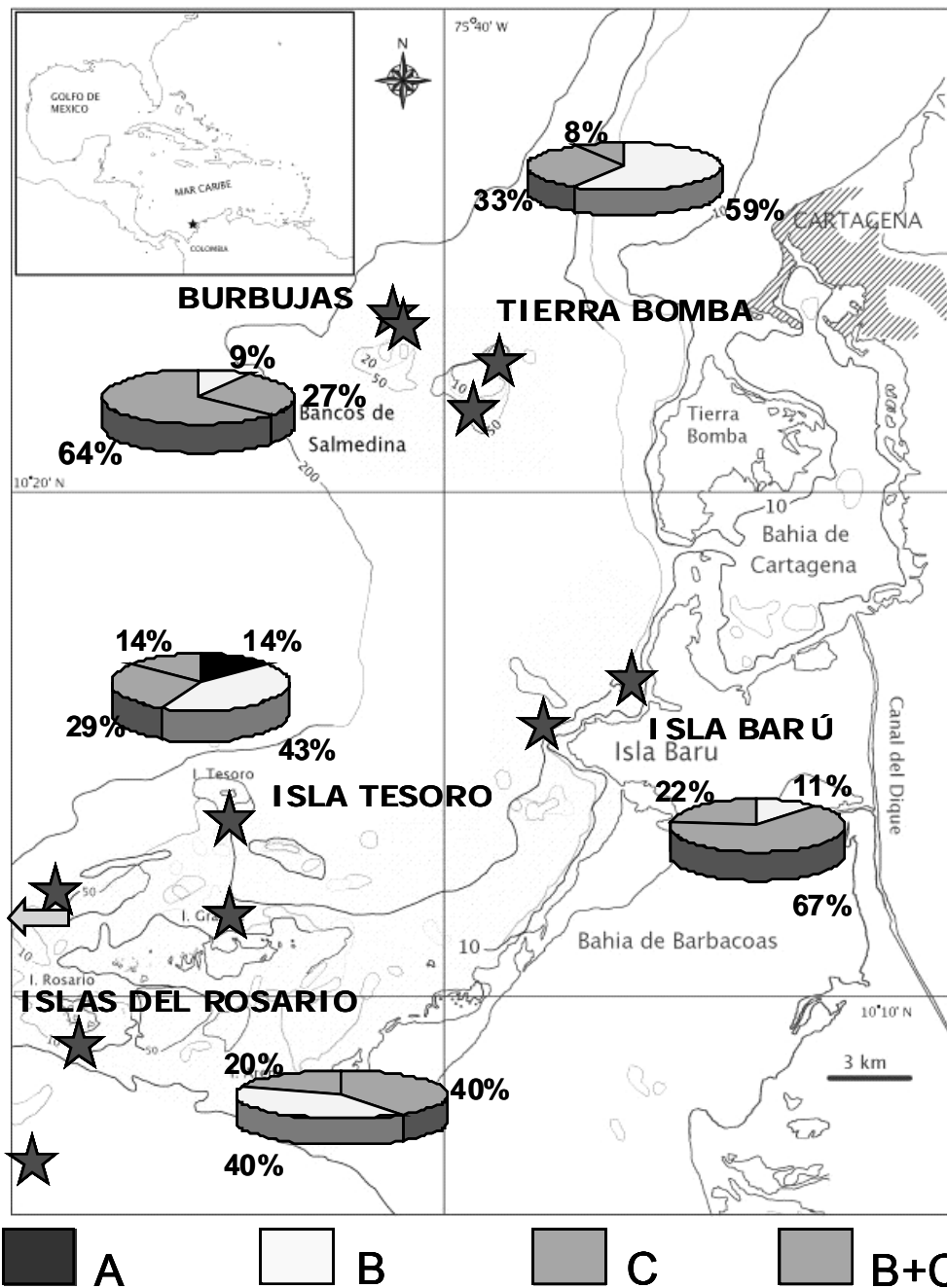


Figura 6. Distribución espacial de los clados de *Symbiodinium*

5. CONCLUSIONES

La diversidad de simbioses de octocorales en el Caribe colombiano es alta (clados A, B y C) comparada con lo registrado para otras áreas del Caribe donde la mayoría de especies presentan simbiosis con el clado B.

Se encontró dos tipos de asociación, “monotípica” y “politépica” en colonias adultas de octocorales, pero no una aparente especificidad por parte del hospedero.

La distribución de zooxantelas en el Caribe colombiano parece tener un patrón batimétrico determinado por las condiciones diferenciales entre ambientes someros y profundos.

Las características y condiciones de los arrecifes del área de estudio no parecen influenciar la distribución de los diferentes clados de simbioses en las poblaciones de octocorales en los arrecifes aledaños a Cartagena.

Análisis profundos como este, de las relaciones mutualistas entre octocorales y zooxantelas pueden aportar significativamente en el conocimiento de los componentes arrecifales como una unidad funcional, contribuyendo para la futura conservación de los ecosistemas marinos colombianos.

BIBLIOGRAFIA

- Baker, A.C. 1999.** The symbiosis ecology of reef-building corals. PhD dissertation, University of Miami, Miami, Fla.
- Baker, A.C. 2001.** Reef corals bleach to survive. *Nature* **411**: 765-766.
- Baker, A.C. 2004.** Diversity, distribution and ecology of *Symbiodinium* on coral reefs and its relationship to bleaching resistance and resilience. In: *Coral Health and Disease* (Rosenberg E & Loya Y, eds.), Springer-Verlag, New York, Berlin, pp. 177-194.
- Baker, A.C., 2003.** Flexibility and specificity of coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Ann Rev Ecol Evol Syst* **34**:661-689.
- Baker, A.C., Rowan, R. 1997.** Diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) in scleractinian corals of the Caribbean and Eastern Pacific. *Proc 8th Int Coral Reef Sym*, **2**: 1301-1306.
- Baker, A.C., Rowan, R. 1997.** Diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae) in scleractinian corals of the Caribbean and eastern Pacific. In: Lessios HA, MacIntyre IG (eds) *Proc 8th Int Coral Reef Symp*. Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panama, **2**: 1301-1306.
- Baker, A.C., Rowan, R., Knowlton, N. 1997.** Symbiosis ecology of two Caribbean acroporid corals. *Proc 8th Int Coral Reef Sym*. **2**: 1295-1300.
- Bayer, F.M. 1961.** The shallowwater Octocorallia of the West Indian region. *Studies of the Fauna of Curacao* **12**: 1-373.
- Bayer, F. M. 1973.** Colonial organization in octocorals. In *Animal colonies, development and function through time* (ed. R. S. Boardman, A. H. Cheetham & W. A. Oliver), pp. 69-93.
- Bayer, F.M., 1992.** The Heloporacean Octocoral *Ephiphaxum*, recent and fossil: a monographic iconography. *Stud. Trop. Oceanogr.* **15**, 1-76.
- Blank, R.J., Huss, V.A.R. 1989.** DNA divergency and speciation in *Symbiodinium* (Dinophyceae). *Plant Syst Evol* **163**: 153-163.
- Blank, R.J., Huss, V.A.R., Kersten, W., 1988.** Base composition of DNA from symbiotic dinoflagellates: A tool for phylogenetic classification. *Arch. Microbiol.* **149**: 515-520.
- Brandt, K. 1883.** Ubre die morphologische und physiologische Bedeutung des Chlorophylls bei Tieren. *Mitt Zool Stat Neapol.* **4**: 191.

Cendales, M.H., Zea, S., Díaz, J.M. 2002. Geomorfología y unidades ecológicas del complejo arrecifal de Islas del Rosario e Isla Barú (Mar Caribe, Colombia). *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* **26(101)**: 497-510.

Coffroth, M.A., Lasker, H.R., Diamond, M.E., Bruenn, J.A., and Bermingham, E. 1992. A fingerprinting of a gorgonian coral: a method for detecting clonal structure in a vegetative species. *Mar. Biol.* **114**: 317–325.

Coffroth, M.A., Santos, S.R. 2005. Invited Review: Genetic diversity of symbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium*. *Protist.* **156**:19-34.

Coffroth, M.A., Santos, S.R., Goulet, T.L. 2001. Early ontogenetic expression of specificity in a cnidarian-algal symbiosis. *Mar Ecol Prog Ser* **222**: 85-96.

Coffroth, M.A., Santos, S.R., Goulet, T.L. 2001. Early ontogenetic expression of specificity in a cnidarian-algal symbiosis. *Marine Ecology Progressive Series* **222**: 85- 96.

Davies, P.S., 1993. Endosymbiosis in marine cnidarians. In: John, D.M., Hawkins, S.J., Price, J.H. (Eds.), *Plant–Animal Interactions in the Marine Benthos*. Clarendon, Oxford, pp. 511– 540.

Díaz, J.M., Barrios, L.M., Cendales, M.H., Garzón-Ferreira, J., Geister, J., López-Victoria, M., Ospina, G.H., Parra-Velandia, F., Pinzón, J., Vargas-Angel, B., Zapata, F.A., y Zea, S. 2000. *Áreas Coralinas de Colombia*. INVEMAR, Serie Publicaciones Especiales 5, Santa Marta, 176 pp.

Fitt, W.K., Chang, S.S., Trench, R.K., 1981. Motility patterns of different strains of the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium* (*Gymnodinium*) *microadriaticum* (Freudenthal) in culture. *Bull. Mar. Sci.* **31**: 436–443.

Freudenthal, H.D., 1962. *Symbiodinium* gen. Nov. and *Symbiodinium microadriaticum* sp. nov., a zooxanthella: Taxonomy, life cycle and morphology. *J. Protozool.* **9**: 45–52.

Glynn, P.W., Mate, J.L., Baker, A.C., Calderon, M.O. 2001. Coral bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997—1998 El Niño-Southern oscillation event: spatial/temporal patterns and comparisons with the 1982—1983 event. *Bull Mar Sci* **69**: 79-109.

Goulet, T.L., Coffroth, M.A. 2003. Stability of an octocoral-algal symbiosis over time and space. *Mar Ecol Prog Ser* **250**: 117-124.

Goulet, T.L., Coffroth, M.A. 2004. The genetic identity of dinoflagellate symbionts in Caribbean octocorals. *Coral Reefs* **23**: 465-472.

Hunter, C.L., Morden, C.W., Smith, C.M. 1997. The utility of ITS sequences in assessing relationships among zooxanthellae and corals. *Proc 8th Int Coral Reef Sym*, **2**: 1599-1602.

Kaandorp, J.A., Kubler, J., 2001. *The Algorithmic Beauty of Seaweeds, Sponges and Corals*. Springer, Amsterdam.

LaJeunesse, T.C. 2001. Investigating the biodiversity, ecology, and phylogeny of endosymbiotic dinoflagellates in the genus *Symbiodinium* using the ITS region: in search of a "species" level marker. *J Phycol* **37**: 866-880.

LaJeunesse, T.C. 2002. Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Mar Biol* **141**: 387–400.

LaJeunesse, T.C. 2002. Diversity and community structure of symbiotic dinoflagellates from Caribbean coral reefs. *Marine Biology*, **141**: 387–400.

LaJeunesse, T.C., Loh, W.K.W., van Woesik, R., Hoegh-Guldberg, O., Schmidt, G.W., Fitt, W.K. 2003. Low symbiont diversity in southern Great Barrier Reef corals, relative to those of the Caribbean. *Limnol Oceanogr* **48**: 2046-2054.

LaJeunesse, T.C., Trench, R.K. 2000. The biogeography of two species of *Symbiodinium* (Freudenthal) inhabiting the intertidal anemone, *Anthopleura elegantissima* (Brandt). *Biol Bull (Woods Hole)* **199**:126–134.

Lasker, H.R., Sánchez, J.A., 2002. Allometry and astogeny of modular organisms. In: Hughes, R.N. (Ed.), *Reproductive Biology of Invertebrates*. Vol. XI. *Progress in Asexual Reproduction*. Wiley, New York, pp. 207–253.

Lewis, C.L., Coffroth, M.A. 2004. The acquisition of exogenous algal symbionts by an octocoral after bleaching. *Science* **304**: 1490-1492.

Lima, L. 2006. Diversidad de zooxantelas asociadas a anemonas y zoantideos presentes en ecosistemas arrecifales y de manglar en Cartagena, Colombia. Thesis, Universidad de los Andes, 30pp.

Muscantine, L. and Porter, J.W. 1977. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *Bioscience* **27**: 454-460.

Pawlowski, J., Holzmann, M., Fahrni, J.F., Pochon, X., Lee, J.J. 2001. Molecular identification of algal endosymbionts in large miliolid foraminifera: 2. Dinoflagellates. *J. Eukaryot. Microbiol.* **48**:368–73.

Pochon, X., LaJeunesse, T.C., Pawlowski, J. 2004. Biogeographic partitioning and host specialization among foraminiferan dinoflagellate symbionts (*Symbiodinium*; Dinophyta). *Marine Biology*, **146**: 17–27.

- Pochon, X., Pawlowski, J., Zaninetti, L., Rowan, R. 2001.** High genetic diversity and relative specificity among *Symbiodinium*-like endosymbiotic dinoflagellates in soritid foraminiferans. *Mar Biol* **139**: 1069-1078.
- Porto, I. 2006.** Existencia de Zooxantelas de vida libre en los arrecifes coralinos del mar Caribe. Thesis, Universidad de los Andes, 24 pp.
- Rodriguez-Lanetty, M. 2003.** Evolving lineages of *Symbiodinium* like dinoflagellates based on ITS1 rDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **28**: 152-168.
- Rodriguez-Lanetty, M., Loh, W., Carter, D., Hoegh-Guldberg, O. 2001.** Latitudinal variability in symbiont specificity within the widespread scleractinian coral *Plesiastrea versipora*. *Mar Biol* **138**: 1176-1181.
- Rowan, R. 1998.** Diversity and ecology of zooxanthellae on coral reefs. *Journal of Phycology* **34**: 407-417.
- Rowan, R., and Powers, D.A. 1991.** Molecular genetic identification of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **71**: 65-73.
- Rowan, R., Knowlton, N. 1995.** Intraspecific diversity and ecological zonation in coral algal symbiosis. *Proc Natl Acad Sci USA* **92**: 2850-2853.
- Rowan, R., Knowlton, N., Baker, A., Jara, J. 1997.** Landscape ecology of algal symbionts creates variation in episodes of coral bleaching. *Nature* **388**: 265-269.
- Sánchez, J.A. 1995.** Benthic communities and geomorphology of the Tesoro island coral reef, Colombian Caribbean. *An. Inst. Invest. Mar. Punta Betún*, **24**: 55-77.
- Sánchez, J.A., Mcfadden, C.S., France, S.C., and Lasker., H.R. 2003.** Molecular Phylogenetic analyses of shallow-water Caribbean octocorals. *Marine Biology* **142**: 975-987.
- Sánchez, J. A., Wirshing, H. 2005.** A field key to the identification of zooxanthellate octocorals from the Caribbean and Western Atlantic. *Caribbean Journal of Science* (in press).
- Santos, S.R., Coffroth, M.A. 2003.** Molecular genetic evidence that dinoflagellates belonging to the genus *Symbiodinium* Freudenthal are haploid. *Biology Bulletin*, **204**: 10-20.
- Santos, S.R., Gutierrez-Rodriguez, C., Lasker, H.R., Coffroth, M.A. 2003.** Patterns of *Symbiodinium* associations in the Caribbean gorgonian *Pseudopterorgia elisabethae*: high levels of genetic variability and population structure in symbiotic dinoflagellates of the Bahamas. *Mar Biol* **143**: 111-120.

Santos, S.R., Shearer, T.L., Hannes, A.R., Coffroth, M.A. 2004. Fine-scale diversity and specificity in the most prevalent lineage of symbiotic dinoflagellates (*Symbiodinium*, Dinophyceae) of the Caribbean. *Mol Ecol* **13**: 459-469.

Santos, S.R., Taylor, D.J., Coffroth, M.A. 2001. Genetic comparisons of freshly isolated versus cultured symbiotic dinoflagellates: implications for extrapolating to the intact symbiosis. *J Phycol* **37**: 900-912.

Santos, S.R., Taylor, D.J., Kinzie, R.A., Hidaka, M., Sakai, K., Coffroth, M.A. 2002. Molecular phylogeny of symbiotic dinoflagellates inferred from partial chloroplast large subunit (23S)-rDNA sequences. *Mol Phylogenet Evol* **23**: 97-111.

Schoenberg, D.A., Trench, R.K. 1980a. Genetic-variation in *Symbiodinium* (Gymnodinium) *microadriaticum* Freudenthal, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates. I. Isoenzyme and soluble-protein patterns of axenic cultures of *Symbiodinium microadriaticum*. *Proc R Soc Lond B* **207**: 405-427.

Schoenberg, D.A., Trench, R.K. 1980b. Genetic-variation in *Symbiodinium* (Gymnodinium) *microadriaticum* Freudenthal, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates. II. Morphological variation in *Symbiodinium microadriaticum*. *Proc R Soc Lond B* **207**: 429-444.

Schoenberg, D.A., Trench, R.K. 1980c. Genetic-variation in *Symbiodinium* (Gymnodinium) *microadriaticum* Freudenthal, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates III. Specificity and infectivity of *Symbiodinium microadriaticum*. *Proc R Soc Lond B* **207**: 445-460.

Secord, D.L. 1995. Host specificity and symbiotic interactions in sea anemones (*Anthopleura elegantissima*, *Symbiodinium*, *Chorella*). Thesis, University of Washington, 89pp.

Taylor, D.L. 1974. Symbiotic marine algae: taxonomy and biological fitness., In: Vernberg W.B. (ed). *Symbiosis in the sea*. University of South Carolina Press, Columbia pp. 245-262.

Toller, W.W., Rowan, R., Knowlton, N. 2001. Repopulation of zooxanthellae in the Caribbean corals *Montastraea annularis* and *M. faveolata* following experimental and disease-associated bleaching. *Biol Bull* **201**: 360-373.

Trench, R.K. 1993. Microalgal-invertebrate symbioses: a review. *Endocyt Cell Res* **9**: 135-175.

Trench, R.K. 1997. Diversity of symbiotic dinoflagellates and the evolution of microalgal-invertebrate symbioses. In: *Proc. 8th Int. Coral Reef Sym.* **2**: 1275-1286.

Trench, R.K., Blank, R.J., 1987. *Symbiodinium microadriaticum* Freudenthal, *S. goreauii* sp. nov., *S. kawagutii* sp. nov., and *S. pilosum* sp. nov.: Gymnodinioid dinoflagellate symbionts of marine invertebrates. *J. Phycol.* **23**: 469–481.

Van Oppen, M. J. H., Mieog, J. C., Sánchez, C. A, Fabricius K. E. 2005. Diversity of algal endosymbionts (zooxanthellae) in octocorals: the roles of geography and host relationships. *Molecular Ecology.* **14**: 2403–2417

van Oppen, M.J.H., Palstra, F.P., Piquet, A.M.T., Miller, D.J. 2001. Patterns of coral-dinoflagellate associations in *Acropora*: significance of local availability and physiology of *Symbiodinium* strains and host-symbiont selectivity. *Proc R Soc Lond B* **268**: 1759-1767.

Vernette, G. 1989. Impact du diapirisme argileux sur les récifs de la plate-forme colombienne des Caraïbes. *Bull. Inst. Geol. Bassin. d'Aquitaine, Bordeaux* **45**: 97-105.

Wells, S. 1988. Coral Reefs of the World Volume 1: Atlantic and eastern Pacific. UNEP Regional Seas Directories and Bibliographies. IUCN, Gand, Switzerland and Cambridge, U.K./UNEP, Nairobi, Kenya.

Wilcox, T.P. 1998. Large-subunit ribosomal RNA systematics of symbiotic dinoflagellates: morphology does not recapitulate phylogeny. *Mol Phylogenet Evol* **10**: 436-448.

ANEXO S

ANEXO 1A. Distribución y asociación de los diferentes clados de *Symbiodinium* entre géneros de octocorales

Género	Especies (N°)	Clados			
		A	B	C	B+C
<i>Briareum</i>	1	0	1	0	0
<i>Erythropodium</i>	1	0	0	7	0
<i>Eunicea</i>	7	0	3	4	1
<i>Gorgonia</i>	1	0	0	0	1
<i>Muricea</i>	3	0	3	0	4
<i>Muriceopsis</i>	1	0	0	1	0
<i>Plexaura</i>	3	1	3	1	0
<i>Plexaurella</i>	2	0	1	1	0
<i>Pseudoplexaura</i>	2	0	0	1	2
<i>Pseudopteroqorgia</i>	3	0	2	2	1
<i>Pterogorgia</i>	3	0	1	0	4

Prueba de Bondad y Ajuste X^2 , $p = 0.03$ s

ANEXO 1B. Distribución y asociación de los diferentes clados de *Symbiodinium* entre géneros de octocorales, eliminando al clado A y al género *Erythropodium*.

Género	Especies (N°)	CLADOS		
		B	C	B+C
<i>Briareum</i>	1	1	0	0
<i>Eunicea</i>	7	3	4	1
<i>Gorgonia</i>	1	0	0	1
<i>Muricea</i>	3	3	0	4
<i>Muriceopsis</i>	1	0	1	0
<i>Plexaura</i>	3	3	1	0
<i>Plexaurella</i>	2	1	1	0
<i>Pseudoplexaura</i>	2	0	1	2
<i>Pseudopteroqorgia</i>	3	2	2	1
<i>Pterogorgia</i>	3	1	0	4

Prueba de Bondad y Ajuste X^2 , $p = 0.18$ ns

ANEXO 2. Distribución y asociación de los diferentes clados de *Symbiodinium* entre profundidades.

Profundidad	Nº de colonias	Clados			
		A	B	C	B+C
somero	28	1	5	14	8
profundo	16	0	9	2	5

Prueba de Bondad y Ajuste X^2 , $p = 0.02$ s

ANEXO 3A. Distribución y asociación de los diferentes clados de *Symbiodinium* entre localidades influenciadas por el Canal del Dique

Influencia	Nº de colonias	Clados			
		A	B	C	B+C
CANAL DEL DIQUE	23	0	8	7	8
SIN CANAL DEL DIQUE	22	1	6	10	5

Prueba de Bondad y Ajuste X^2 , $p = 0.47$ ns

ANEXO 3B. Distribución y asociación de los diferentes clados de *Symbiodinium* entre arrecifes con distintas características

Característica	Nº de colonias	Clados			
		A	B	C	B+C
BAJOS	26	0	10	7	9
FRANJEANTES	19	1	4	10	4

Prueba de Bondad y Ajuste X^2 , $p = 0.16$ ns