

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Escuela de Ciencias Biológicas
Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y
Dulceacuícolas.**

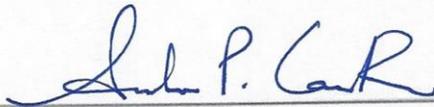
**Evaluación de cultivos *ex situ* de dos especies de corales formadores de
arrecife (*Porites lobata* y *Pocillopora damicornis*)**

**Tesis presentada como requisito parcial para optar al grado de
Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y
Dulceacuícolas**

José Andrés Marín Moraga

**Campus Omar Dengo
Heredia, 2021**

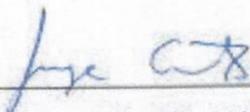
Este trabajo de graduación fue Aprobado por el Tribunal Examinador de la Escuela de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar por el grado de Licenciatura en Biología con Énfasis en Manejo de Recursos Marinos y Dulceacuícolas.



Dra. Andrea García Rojas
Representante, Decano, quién preside



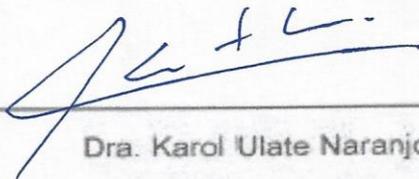
M.Sc. Nidya Nova Bustos
Representante, Unidad Académica



Dr. Jorge Cortés Núñez
Tutor



M.Sc. Jonathan Chacón Guzmán
Asesor



Dra. Karol Ulate Naranjo
Invitada especial

Agradecimientos

El cumulo de experiencias vividas llegado este punto, me han enseñado que cuando se dejan de dar las cosas por sentado, los sucesos positivos parecen causalidades poco improbables y los negativos se vuelven lecciones, más aún los desinteresados. Aspiro algún día poder comprender que todo cuanto se vive es un regalo, y que los regalos se agradecen todas las veces.

Agradezco sinceramente:

A mi familia nuclear y expandida, por proveer un ambiente cálido y nutritivo, un buen caldo de cultivo.

A mis amigos y colegas, Karina, Daniel, Ronny e Isaac. Fue un gusto combatir a su lado.

A mi tutor don Jorge Cortés, por ayudarme a desbloquear las puertas al mundo de los corales y arrecifes. Por darme esta oportunidad y por creer en mí. Por su generosa tutela, le estaré siempre agradecido.

A Joanie Kleypas, quien sin darse cuenta me mostro que el que hacer intelectual y la acción concreta, son inseparables, y que la voluntad y los pies deben ir siempre en paralelo. Por el sinfín de vivencias tanto fuera como dentro del agua. Por un tiburón ballena, le estaré eternamente agradecido.

A mis asesores Jonathan Chacón y Mauricio Méndez por su valiosa asesoría, y por fungir como facilitadores. A Jonathan le agradezco especialmente haber confiado en las ideas propuestas y el haberme concedido el espacio de trabajo en el Parque Marino.

A todo el personal del Parque Marino del Pacifico, especialmente a María Fernanda por hacerme sentir siempre bienvenido, y por su diligencia ejemplar.

A Cindy Fernández y Juan José Alvarado por aceptarme dentro de una de sus giras de trabajo. Igualmente, a Juan Guillermo Sagot y Eddie Gómez por disponer de los equipos de química.

A Dave Vaughan y a el Mote Marine Laboratory por el curso sobre fragmentación de corales, en donde aprendí las bases que sustentan esta investigación.

A don Hernán Azofeifa y miembros de la Asociación Costarricense de Acuariofilia Marina, por su apoyo e impecabilidad a la hora de trabajar con organismos marinos.

Finalmente, quisiera agradecer a todo el profesorado de la Escuela de Biología de la Universidad Nacional, por su profesionalismo, sobre todo su capacidad de mantener el rigor académico sin perder nunca el calor humano, durante el proceso de formación universitario.

Dedicatoria

A mi madre, las horas de trabajo puestas en este documento son un reflejo directo de su amor y apoyo incondicionales, para los cuales hasta la inmensidad del mar se queda corta. A mi hermano, a quien admiro profundamente y a quien tengo el privilegio de llamar amigo, a mis amigos, quienes son realmente mis hermanos. Estas personas forman parte de mí y yo de ellos, este documento es tanto de ellos como mío.

“Regresar a la tierra es regresar a la dicha. Nunca debimos irnos, al menos, no en la forma en que lo hicimos. Plantas y animales son lo que fuimos, son lo que hemos de volver a ser”.

Byung-Chul Han.

Índice

Miembros del tribunal.....	I
Agradecimientos.....	II
Dedicatoria.....	III
Índice.....	IV
Índice de cuadros.....	V
Índice de figuras.....	VI
Índice de anexos.....	VII
Abreviaturas.....	VIII
Resumen	IX
1.Introducción.....	1
1.1. Antecedentes.....	1
1.2. Justificación.....	4
1.3. Planteamiento del problema.....	5
1.4. Objetivos.....	5
1.4.1. Objetivo general.....	5
1.4.2. Objetivos específicos.....	6
2. Marco Teórico.....	6
3. Marco Metodológico.....	11
4. Resultados.....	17
5. Discusión.....	40
6. Conclusiones.....	51
7. Recomendaciones.....	53
8. Referencias.....	54
9. Anexos.....	72

Índice de cuadros

Cuadro 1	20
Cuadro 2	25
Cuadro 3	26
Cuadro 4	38
Cuadro 5	39

Índice de figuras

Figura 1	12
Figura 2	14
Figura 3	18
Figura 4	19
Figura 5	20
Figura 6	21
Figura 7	22
Figura 8	22
Figura 9	23
Figura 10	23
Figura 11	24
Figura 12	25
Figura 13	27
Figura 14	27
Figura 15	28
Figura 16	29
Figura 17	30
Figura 18	30
Figura 19	31
Figura 20	32
Figura 21	33
Figura 22	33
Figura 23	34
Figura 24	34
Figura 25	35
Figura 26	36
Figura 27	36

Índice de Anexos

Anexo 1	72
Anexo 2	72
Anexo 3	73
Anexo 4	74

Abreviaturas o acrónimos

AC	Área de la Corona
AF	Área de Fijación
CIMAR	Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología
FIA	Autoanalizador de Flujo Continuo
PAR*	Photosynthetically active radiation
PMP	Parque Marino del Pacífico
R	Rendimiento
Sob	Sobrevivencia
T1	Tanque 1
T2	Tanque 2
TC	Tasa de Crecimiento
UCR	Universidad de Costa Rica
UNA	Universidad Nacional de Costa Rica
Vol	Volumen

Resumen

Los arrecifes de coral constituyen uno de los sistemas biológicos más productivos y biodiversos del planeta, al mismo tiempo que se les reconoce como ecosistemas en alto riesgo de deterioro funcional, susceptibles a los efectos de prácticas humanas insostenibles, principalmente el cambio climático, marca distintiva del Antropoceno. De la necesidad de generar estrategias con las que hacer frente a esta situación, nace la ciencia aplicada de la acuicultura coralina con fines restaurativos. Esta investigación supone el primer ensayo de cultivo *ex situ* de las especies de coral *Porites lobata* y *Pocillopora damicornis* en Costa Rica. La viabilidad y el rendimiento del cultivo se analizó en función de la sobrevivencia y el crecimiento de ambas especies. En total se generaron 180 fragmentos de coral, los cuales se mantuvieron durante 152 días, en sistemas de recirculación semi-abierto conformados por dos tanques de 12m³ (90 fragmentos por tanque, 45 de cada especie). Se registró la sobrevivencia y se midió la tasa de crecimiento para la totalidad de los fragmentos en términos de cambio en el área, y volumen (en el caso de *P.damicornis*) como variables morfométricas, además, se monitorearon los nutrientes y parámetros físico-químicos en cada tanque. Los resultados obtenidos se analizaron mediante el estimador no paramétrico Kaplan-Mier, y la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis complementada con modelos de regresión lineal simple (en cuyo caso los datos fueron transformados sobre logaritmo en base 10). La sobrevivencia fue alrededor del 70%, previo al colapso de uno de los tanques. La mayoría de variables tanto morfométricas como ambientales vario significativamente dependiendo del tanque. A excepción de la temperatura y la radiación fotoactiva (PAR), los valores para las variables abiótica difirieron del rango recomendado para el cultivo coralino. En promedio los fragmentos de *P.lobata* aumentaron su área 216-277% a una tasa de crecimiento inicialmente alta, que con el tiempo fue decayendo, contrario a *P.damicornis* cuyo crecimiento se mantuvo relativamente constate, hasta aumentar 287-366% respecto al tamaño inicial. Estos resultados indican que, aunque pequeñas diferencias entre el medio de cultivo pueden parecer triviales a corto plazo, los efectos acumulados podrían ser sustanciales a lo largo del tiempo. A través de estos hallazgos, se concluye que el cultivo de corales pétreos se una actividad rentable, el cultivo debe ser optimizado en función de las especies de coral, como objetivo de conservación o de estudio.

Introducción

Los arrecifes de coral son ecosistemas marinos extremadamente diversos, en los cuales reside un cuarto de toda la fauna marina conocida (Hixon, 2015). Estos ecosistemas marinos brindan un gran número de servicios ecológicos, entre los cuales destacan: la protección de la costa al actuar como rompeolas vivientes, la pesca artesanal o de subsistencia, el turismo ecológico, y un gran potencial farmacológico, gracias a la gran biodiversidad de organismos que en ellos reside (Woodhead et al., 2019). En las comunidades costeras de los países tropicales, los arrecifes juegan un papel clave en términos sociales, ambientales y económicos, siendo el recurso marino y la gran belleza escénica, fuentes de bienestar y sustento económico.

Actualmente los arrecifes coralinos se encuentran en estado de riesgo, mostrando un declive constante a nivel mundial (Bruno & Selig, 2007; Carpenter et al., 2008; Hughes et al., 2017); dicho deterioro se debe principalmente al calentamiento de las aguas oceánicas, producto del cambio climático acelerado, efecto causado por factores antropogénicos (Spalding & Brown, 2015; Hoegh-Guldberg et al., 2017; Bruno et al., 2019). Este aumento en la temperatura del mar puede provocar el blanqueamiento de las colonias de coral, las cuales eventualmente podrían llegar a morir (Ainsworth et al., 2016). Para contrarrestar dicho deterioro, Rinkevich (1995) propone el método de “jardinería” de coral, el cual utiliza técnicas de la acuicultura, para establecer viveros *in situ* o *ex situ*, con el fin de cultivar o producir fragmentos de coral de forma masiva. El establecimiento de un laboratorio en tierra permite controlar los parámetros fisicoquímicos y la calidad del agua suministrada al cultivo. Sumado a esto, la reducción de factores adversos como la depredación o la competencia permiten a los fragmentos crecer adecuadamente (Rinkevich, 2015). Una vez concluida la fase de crecimiento, los corales cultivados podrían ser eventualmente trasplantados de vuelta al arrecife o ser utilizados como material de estudio para futuras investigaciones (Rinkevich, 2015).

1.1. Antecedentes

Hoy en día, es posible encontrar un gran número de investigaciones enfocadas al estudio del crecimiento de distintas especies de corales pétreos, tanto en condiciones controladas de

laboratorio o en el medio natural. Si embargo, pocos estudios abordan el factor crecimiento desde la acuicultura, sea con fines comerciales y/o restaurativos.

Por ejemplo, en la laguna d'Albion en la Isla de Mauricio, se realizó un experimento comparativo entre las tasas de crecimiento y la sobrevivencia de diez especies de coral, en un vivero *in situ* y otro *ex situ*, durante dos años, resultando en una variación significativa en la tasa de crecimiento en tres especies dependiendo del tratamiento (Pillay, Gian, Bhoyroo, & Curpen, 2012). Además, se documentó que, para los corales en el vivero en tierra, la principal causa de mortalidad fue un lento flujo de agua, mientras que, en el caso del vivero colocado en sitio campo, fue la depredación de moluscos del género *Drupella*. Esto evidencia algunas de las diferencias y posibles desventajas que presentan ambas técnicas (Pillay et al., 2012).

En relación a metodologías y factores asociados al cultivo de corales, en el 2012 se publican los resultados del proyecto CORALZOO, un esfuerzo conjunto entre zoológicos, acuarios y el sector académico. Durante los cuatro años que duro el proyecto (2005-2009), se recopiló información acerca de la reproducción de los corales pétreos, tanto sexual como asexual, incluyendo técnicas de propagación. El documento referente incluye también una revisión de distintas técnicas de maricultura, que van desde el desarrollo de bioensayos genéricos que permiten evaluar parámetros bióticos en el cultivo, hasta el cómo tratar ciertas enfermedades coralinas. Las principales conclusiones son: (1) La alimentación y el flujo de agua son parámetros clave en la capacidad de los corales de canalizar la energía proveniente de la fotosíntesis hacia procesos relacionados al crecimiento de la colonia. (2) En la gran mayoría de las especies, la alimentación promueve el crecimiento. (3) La influencia de la variación genotípica sobre el crecimiento, es mayor que la influencia de los factores externos. (4) En acuario la frecuencia de enfermedades es completamente distinta a los patrones observados en el océano. El 70% de las enfermedades en acuarios son algún tipo de síndrome blanco, ocasionados por un patógeno (Osinga et al., 2012).

Con respecto a la velocidad de crecimiento, Cuartas & Ruales (2014) lograron en un periodo de solo seis meses, quintuplicar el tamaño de su especie objetivo, *Acropora millepora*. Esto se logró mediante la optimización del cultivo *ex situ*. En dicho estudio se le adjudicó gran parte del éxito (rápido crecimiento) a un pH ligeramente alcalino (>8.3), lo cual pudo haber favorecido el proceso de calcificación. A partir de este estudio se elabora, una lista de los parámetros de

calidad del agua (temperatura, pH, salinidad, calcio, magnesio, amonio y nitritos), que se deben seguir en caso de querer cultivar esta especie. Por otra parte, Shafir, Van Rijn & Rinkevich (2001) realizaron un trabajo fundamental, al evaluar la viabilidad del uso de 821 “nubbins” o brotes (fragmentos minúsculos de no más de 15 pólipos), como un método efectivo en la producción de material propagativo.

Otro aspecto importante para un adecuado crecimiento es la nutrición heterotrófica. Toh y colaboradores (2014) realizaron experimentos con *Artemia* como fuente de alimento, bajo la premisa de aumentar el tamaño de las colonias de *P. damicornis*. Efectivamente, los corales alimentados crecieron significativamente más rápido, en comparación a los que no se les suministró *Artemia*. Además, los corales alimentados presentaron una mayor tasa de supervivencia que los que no lo fueron, incluso, luego de ser trasplantados de vuelta al arrecife. Investigaciones más recientes, como la de Huang, Mayfield & Fan (2020) ratifican el efecto significativo puede tener el suplementar *Artemia* como fuente de alimento a los corales. Durante su experimento, observan los efectos de tres niveles de radiación fotoactiva (PAR) sobre especímenes alimentados y no alimentados de *Pocillopora acuta*. Los investigadores, reportan que los corales alimentados con *Artemia* enriquecida crecieron más rápido y presentaron una pigmentación más oscura en comparación a los corales que dependieron solamente de la energía derivada de las fotosíntesis (no alimentados). Concluyen que las variables respuesta peso boyante, tasa de crecimiento específica, extensión lineal y color se ven influenciadas significativamente por el alimento y, en menor medida, por la luz.

Pese a que la mayoría de estudios de propagación se enfocan en especies ramificadas, de rápido crecimiento, Forsman y colaboradores (2006) investigaron el tamaño de corte inicial para el cultivo de fragmentos de corales del tipo masivo (*Porites compressa* y *Porites lobata*), en viveros *ex situ*. A partir de este estudio se logró demostrar una relación positiva entre el tamaño de fragmento y la tasa de crecimiento y mortalidad del mismo. Los fragmentos mayores a 3 cm² no sufrieron daños y crecieron más rápido, a diferencia de los más pequeños (<1 cm²), que tendieron a morir; por tanto, los autores concluyen que la mortalidad es dependiente del tamaño inicial de corte del fragmento. En el 2015, Forsman y colaboradores amplían sobre este tema, analizando no solo el método de corte de los fragmentos, sino también el de la fusión de los mismos. Pequeños fragmentos (~1-3 cm²) procedentes de la misma colonia donante colocados

sobre baldosas de cerámica mostraron rápida propagación de tejido, seguida por fusión isogénica. Utilizando esta estrategia en *Orbicella faveolata*, *Pseudodiploria clivosa* y *Porites lobata*, los autores obtienen un crecimiento (en términos de área cubierta por tejido vivo) respectivo, de hasta 63, 48 y 23 cm² por mes.

1.2. Justificación

Los arrecifes coralinos son ecosistemas en constante amenaza, presentando una tendencia global al deterioro debido a los impactos crónicos de origen antropogénico, como la contaminación, las malas prácticas pesqueras, la acidificación oceánica y el cambio climático, entre otras (Hughes et al., 2003; Hoegh-Guldberg et al., 2007; Hoegh-Guldberg, 2011). Este aumento en la temperatura superficial del agua tiene como consecuencia el blanqueamiento de los corales, la pérdida de las algas simbiotas, zooxantelas, resultando en su debilitamiento. Si esta condición no es revertida la colonia puede morir, y con ella mucha de la biota asociada a la misma (Hughes et al., 2017). Este último fenómeno, es particularmente nocivo para estos ecosistemas debido no solo al calentamiento de las aguas oceánicas, sino también al incremento en la frecuencia de fenómenos naturales como El Niño (Ampou et al., 2017).

Muchas de estas variaciones climáticas ocurren a una tasa a la cual los organismos no pueden adaptarse (Rinkevich, 2015). Los corales manifiestan una disminución en su capacidad de absorber disturbios y de reorganizarse (resiliencia), por lo cual finalmente sucumben ante estas presiones. Los arrecifes brindan un gran número de servicios ecológicos, desde actuar como agentes que modifican el litoral costero, hasta como refugio para una gran cantidad de peces con alto valor ecológico y económico, no obstante la calidad de estos servicios ha ido disminuyendo, a medida que los arrecifes desaparecen (Bongiorni et al., 2011). Es por esto que, en el contexto actual, la conservación de estos ecosistemas, aunque importante, no es suficiente. Es necesaria una medida proactiva, la restauración arrecifal, la cual puede usarse para acelerar la recuperación de estos ecosistemas marinos (Rinkevich, 2015).

El empleo de viveros de coral *ex situ* puede llegar a ser una técnica efectiva, capaz de producir fragmentos de coral (cepas) fuertes, resistentes a distintos tipos de presiones y con esto, una mayor probabilidad de sobrevivir luego de ser trasplantados de vuelta al arrecife (Forsman,

Rinkevich & Huneter, 2006). En este tipo de sistemas, las condiciones de cultivo pueden ser reguladas y monitoreadas cuidadosamente para minimizar el impacto de disturbios como fluctuaciones de temperatura, grado de sedimentación, la bioincrustación de organismos no deseados o la depredación (Forsman et al., 2006). Además, la estabilidad del cultivo *ex situ* le permite a los fragmentos crecer hasta un tamaño adecuado, antes de ser trasplantados al arrecife o fragmentados de nuevo con el fin de producir nuevos brotes; reiniciando de esta forma el ciclo.

Con el presente trabajo se pretende evaluar que tan factible resulta el cultivo de dos especies de coral formadoras de arrecife (*Porites lobata* y *Pocillopora damicornis*) bajo condiciones controladas de laboratorio. En Costa Rica no existen estudios de esta naturaleza, por lo cual este trabajo marca un precedente en la acuicultura de corales pétreos, pretendiendo sentar las bases para futuros trabajos en este tema. Este trabajo busca como fin último un mejor entendimiento de las especies de coral, en pro de la conservación/restauración de los arrecifes coralinos. Los resultados de este trabajo, se podrían implementar como una forma complementaria a futuros planes de restauración de arrecifes coralinos.

1.3. Planteamiento del problema a investigar

¿Son *Porites lobata* y *Pocillopora damicornis*, especies de coral adecuadas para ser cultivadas en laboratorio, como medida de mitigación a la degradación de los arrecifes del Pacífico Norte costarricense?

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Evaluar la viabilidad del cultivo de dos especies de corales formadores de arrecife del Pacífico Norte costarricense (*Porites lobata* y *Pocillopora damicornis*), mediante la implementación de viveros *ex situ*, como una herramienta para la restauración arrecifal.

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar la sobrevivencia para ambas especies de coral, en condiciones semicontroladas de laboratorio como criterio para la valoración del uso de sistemas de cultivos *ex situ*.
- Determinar el crecimiento para ambas especies de coral, en condiciones semicontroladas de laboratorio como criterio para la valoración del uso de sistemas de cultivo *ex situ*.
- Recomendar los criterios de cultivo para la acuicultura de corales pétreos con fines restaurativos.

2. Marco Teórico

La mayoría de corales pétreos suelen ser organismos coloniales, constituidos por cientos a miles de pequeños animales llamados pólipos (Oakley & Davy, 2018). Cada pólipo funge como unidad funcional, compuesto por una única abertura oral, rodeada de tentáculos provistos de células urticantes (nematocistos), que facilitan la captura de alimento. Los corales formadores de arrecife alojan en sus tejidos un alga fotosintética del género *Symbodinium* comúnmente llamada zooxantela, con la cual establecen una relación simbiótica (Allemand & Furla, 2018). Estas algas utilizan la energía solar para producir moléculas orgánicas (fotosintatos), principalmente glucosa, la cual brinda al coral la energía necesaria para llevar a cabo las reacciones bio-químicas, que resultan en la deposición de su esqueleto calcáreo (Tresguerres et al., 2017).

Las zooxantelas transfieren la mayor parte del carbono fijado durante la fotosíntesis a su huésped, más del 95% en algunos casos (LaJeunesse et al., 2018). Esta característica permite a los corales colonizar áreas someras, con una baja cantidad de nutrientes en disolución (Muller-Parker, D'Elia, & Cook, 2015), y al mismo tiempo ser capaces de formar uno de los ecosistemas más productivos conocidos.

Los arrecifes coralinos ofrecen refugio y sustento a un gran número de organismos marinos. Muchos de estos organismos se asocian al arrecife en algún punto de su ciclo vital, ya sea en

estadios tempranos de desarrollo, o como adultos (Brandl et al., 2019). El papel ecológico de los arrecifes es invaluable, siendo focos de biodiversidad a lo largo del globo (Birkeland., 2015). Gracias a su naturaleza pétreo modifican el paisaje actuando como rompeolas, amortiguando el impacto del oleaje; ejerciendo una función protectora, imprescindible para el desarrollo de asentamientos humanos en las costas tropicales. Dichas comunidades costeras emplean el turismo derivado de la belleza escénica de los arrecifes como principal fuente de ingresos (Costa, Araújo, Araújo, & Siegle, 2016).

En el caso de Costa Rica, al estar ubicada en el istmo centroamericano, se posiciona entre dos de las tres zonas de arrecifes coralinos en América Latina, el Caribe y el Pacífico Oriental (Cortés, 2003; Cortés & Jiménez, 2003). Para el Pacífico costarricense, se han reportado 46 especies, mientras que para el Caribe se reportan 44 especies de corales pétreos, entre especies formadoras y no formadoras de arrecife (Cortés, 2009; Cortés et al., 2010).

Al norte de la costa Pacífica se encuentra el Golfo de Papagayo. En donde podemos encontrar arrecifes y comunidades coralinas, creciendo a lo largo de la costa, sobre roca volcánica o arena (Cortés, 2016). Uno de estos arrecifes es el de Playa Blanca (Jiménez, 2001), para el cual fue reportado una recuperación considerable, con coberturas de coral vivo del 80% (Jiménez, Bassey, Segura, & Cortés, 2010). No obstante, este arrecife se ve actualmente amenazado debido a la sobre pesca y al gran influjo de nutrientes, en la zona de Matapalo (Roth, Stuhldreier, Sánchez-Noguera, Morales-Ramírez & Wild, 2015).

Para Costa Rica, destacan dos especies formadoras de arrecife en la vertiente del Pacífico, *Porites lobata* y *Pocillopora damicornis* (Cortés & Guzmán, 1998). *Porites lobata*, es considerada la principal especie formadora de arrecife para Costa Rica, constituyendo más de un 90% de la cobertura coralina en los arrecifes mejor desarrollados del Pacífico, incluyendo la Isla del Coco (Cortés & Guzmán, 1998; Cortés & Jiménez, 2003). Esta especie, a pesar de ser del tipo masiva, crece relativamente rápido (1.4-1.9 cm/año) durante los primeros años de vida, luego parece decrecer su ritmo de crecimiento a 1 cm/año (Guzmán & Cortés, 1989; Jiménez & Cortés, 2003). La edad de algunos de los arrecifes de *P. lobata* van de los 500-5500 años de edad, y algunas de sus colonias pueden llegar a medir hasta 3 m de alto (Cortés, Macintyre, & Glynn, 1994).

Por otra parte el género *Pocillopora*, es considerado uno de los principales constructores de arrecifes en la región del Pacífico Tropical Oriental (Guzmán & Cortés, 1993; Glynn et al., 2017). En Costa Rica los pocilloporídeos formaron grandes arrecifes, a lo largo de toda la costa, principalmente en sitios poco profundos. Las especies del género *Pocillopora* son las que poseen la mayor tasa de crecimiento del Pacífico costarricense, de unos 3.5 cm/año (Guzmán & Cortés, 1989; Jiménez & Cortés, 2003).

Actualmente, los arrecifes y comunidades coralinas se encuentran en estado de amenaza constante debido a presiones antrópicas, principalmente el incremento en la temperatura oceánica (Kwiatkowski, Cox, Halloran, Mumby, & Wiltshire, 2015). Dicho aumento desestabiliza la asociación simbiótica entre los pólipos de coral y sus zooxantelas; este proceso se traduce en el blanqueamiento de la colonia lo cual implica un fuerte debilitamiento y en muchos casos la muerte del coral (Baird, Bhagooli, Ralph, & Takahashi, 2009; Stuart-Smith et al., 2018). Sumado a esto, la acidificación oceánica (Hoegh-Guldberg, Skirving & Dove, 2017), la contaminación y un incremento en la sedimentación son también factores que ponen en riesgo la integridad de los arrecifes coralinos (Suchley & Alvarez-Filip, 2018).

Esta situación ha conducido a la implementación de múltiples esfuerzos por conservar (principalmente la implementación de Áreas Marinas Protegidas) la integridad de los arrecifes, lamentablemente, pese a ello, la mayoría de los ecosistemas arrecifales continúan deteriorándose (Allison, Lubchenco & Carr, 1998; Rinkevich, 2005; Suchley & Alvarez-Filip, 2018; Bruno & Toth, 2019). Si la gama de presiones negativas se mantiene a este ritmo, y si los actuales métodos para combatirlas, siguen siendo poco efectivos, se predice que en 40 años habremos perdido cerca del 70% de los arrecifes a escala global (Bruno & Selig, 2007).

La poca efectivada de los métodos de conservación tradicionales (“pasivos”) puede deberse a que muchos de los conceptos, teorías y mecanismos implementados en el manejo de los sitios, fueron diseñados para ser aplicados en áreas protegidas terrestres (Rinkevich, 2008; Bruno & Toth, 2019). El entorno marino, por su inmensidad presenta un grado de conectividad extremadamente alto, anteponiendo un reto al momento de discernir cuales serían las mejores herramientas a utilizar, para asegurar su adecuado manejo y protección (Parnell, Lennert-Cody, Geelen, Stanely, & Dayton, 2005; Gill et al., 2017; Bruno & Toth, 2019).

Como respuesta a la degradación arrecifal, y a la poca efectividad de los métodos tradicionales de conservación, emerge una medida activa, la restauración arrecifal. La Sociedad de la Restauración Ecológica define a la restauración como “el proceso de asistir la recuperación de un ecosistema que ha sido degradado, dañado o destruido” (Clewell, Aronson, & Winterhalder, 2006). Fundamentalmente, la restauración ecológica posiciona, al ser humano como agente activo capaz de asistir en la recuperación del ecosistema. Esto en contraste con la biología de la conservación que se apoya en el proceso de sucesión ecológica (conjunto de fases sucesivas a largo plazo), partiendo de la premisa de que por sí solo, el ecosistema cuenta con los mecanismos naturales para mitigar impactos antrópicos o recuperarse de ellos.

La ciencia de la restauración, a pesar de ser una disciplina relativamente reciente (poco más de 20 años), ha mostrado resultados positivos (Van Oppen et al., 2017). Lo cual permite proponer a la restauración como un complemento (Normile, 2011) a los esfuerzos de conservación. Hobbs y Harris (2001) señalan que la restauración ecológica se convertirá eventualmente en la disciplina dominante dentro de las ciencias ambientales en el siglo XXI.

Los teoremas y conceptos básicos de la selvicultura son transferibles al que hacer de la restauración arrecifal. En 1995, Rinkevich se basó en el consolidado campo de la reforestación para proponer una técnica novedosa de restauración coralina, llamada comúnmente “jardinería de coral”. El proceso de jardinería coralina consta de dos fases. La primera supone el cultivo de fragmentos de coral en viveros especialmente diseñados, variando en métodos y formas dependiendo de la especie y objetivos establecidos. Una vez que los fragmentos alcanzan un tamaño deseado, se procede con la segunda fase, el trasplante de dichos fragmentos al arrecife, con el fin de rehabilitar el área dañada.

Existen varias formas y métodos de restauración arrecifal, las principales en orden de eficacia son la jardinería de coral (método asexual) y la siembras de larvas (método sexual) (Osinga et al., 2012). Actualmente la técnica con una mejor aceptación y por lo tanto la más utilizada para la efectiva propagación y restauración de hábitat arrecifal, es la de establecer viveros de coral *in situ* (Shaish, Levy, Gomez, & Rinkevich, 2008; Young, Schopmeyer, & Lirman, 2012). El método consiste en la remoción de pequeños fragmentos de una colonia silvestre sana. Luego, estos fragmentos son colocados en una estructura a media agua, instalada no mucho más profundo del sitio de donde provienen originalmente los fragmentos (de modo que las

condiciones oceanográficas no cambien radicalmente). En el vivero los pequeños fragmentos crecen protegidos de la sedimentación, el sobre crecimiento algal y la depredación. Una vez que los corales han alcanzado un tamaño adecuado, se procede a trasplantarlos de vuelta al arrecife de donde fueron colectados (Epstein et al., 2003; Rinkevich, 2015). Esta técnica, además de ser sencilla, promete altas tasas de supervivencia y la posibilidad de obtener un gran número inicial de fragmentos.

Un aspecto potencialmente negativo de la propagación por fragmentación asexual, es que, al utilizar fragmentos clonales, incurre en la posibilidad de disminuir la variabilidad genética de la población. Es por esto que se plantea la técnica de repoblamiento con reclutas sexuales (técnica *ex situ*), en la cual se colectan gametos tanto masculinos como femeninos, con el fin de producir larvas que eventualmente se convertirán en colonias, genéticamente diferenciadas (Young et al., 2012).

La acuicultura coralina es una actividad que se ha restringido típicamente a los entusiastas de los acuarios marinos, no obstante, debido al estado deteriorado de los arrecifes en todo el mundo, el interés en el cultivo *ex situ* con fines científicos ha aumentado progresivamente. El nexo entre la biología de los corales y la acuicultura es un tema poco desarrollado, por lo cual el estudio de métodos y técnicas con aval científico es de suma importancia en la actualidad (Leal et al., 2014).

La principal meta del cultivo de coral es producir organismos de alto rendimiento, para lo cual se deben tomar en cuanto varios factores determinantes para el éxito del cultivo *ex situ*. La luz es primordial, ya que de esta depende la fotosíntesis, proceso fisiológico fundamental, que incide en las tasas de calcificación y por ende en el crecimiento (Khalesi et al., 2009; Rocha et al., 2013).

La nutrición también es un factor determinante, ya que, aunque la fotosíntesis aporta grandes cantidades de carbono, no produce otras moléculas importantes, como nitrógeno y fósforo, las cuales son esenciales para el desarrollo de los organismos. Corales bien alimentados pueden sintetizar más rápidamente aminoácidos y proteínas, constituyentes de la matriz orgánica, que sirve como almacén para la inserción del carbonato de calcio (Osinga et al., 2012). Otros factores como el flujo de agua, la alcalinidad y la salinidad son igualmente importantes.

3. Marco Metodológico

Los fragmentos fueron recolectados en Playa Blanca, Guanacaste (10°32'04.5''N, 85°45'47.6'' W), Pacífico de Costa Rica el día 19 de abril del 2018, según la resolución del permiso de investigación ACT-OR-DR-021-18. El arrecife es de tipo franja costera y limita al este con Playa Matapalo, en una zona rocosa que coincide con la desembocadura de la Quebrada Calentura, donde la profundidad máxima es de 2m. Al oeste el arrecife limita con Punta Matapalito, con profundidades de hasta 14m (Méndez, 2014).

En el arrecife se identificaron colonias de coral sanas, que no presentaran señales de enfermedad, lesiones o blanqueamiento. Se extrajeron 5 colonias de *Pocillopora damicornis* de ~15 cm y un fragmento de *Porites lobata* de ~15 x 12 cm².

Las colonias fueron transportadas en una hielera con agua marina y aireación al Laboratorio del Programa de Investigación y Desarrollo en Acuicultura Marina del Parque Marino del Pacífico, Puntarenas, Costa Rica. Una vez en el laboratorio, las colonias fueron aclimatados (28°C) por una semana para posteriormente ser fragmentadas en pedazos más pequeños (1,5-2,0 cm²), utilizando una sierra eléctrica con hoja de diamante marca Gryphon.

Dichos fragmentos fueron adheridos con pegamento de alta densidad a discos de cerámica de 3 cm de diámetro. Una vez adheridos, los fragmentos fueron irrigados y su tejido limpiado de mucus y restos de carbonato de calcio, producto de la fragmentación. Seguidamente fueron colocados en seis estructuras tipo mesa de 60 cm de alto, sosteniendo una rejilla de 60 x 60 cm², en donde se colocaron los corales posicionados hacia arriba para simular la orientación natural de la luz (Fig. 1A). Cada rejilla contuvo en total 30 fragmentos (15 por especie), a continuación, se colocaron tres mesas por tanque, para un total de 90 fragmentos de coral por tanque; 45 de *P. lobata* y 45 de *P. damicornis*.

Las rejillas se colocaron en dos tanques circulares de fibra de vidrio de 10m³, con tres estructuras de rejillas por tanque (Fig. 1B). Los tanques se ubicarán en un planché de concreto bajo un cobertor de malla sombra (sarán) de 80% de filtración de luz solar.

Cada tanque estuvo conectado a un sistema de recirculación semicerrado con 5% de flujo continuo de agua marina fresca. El caudal de recambio fue de 60L/min. Los sistemas estuvieron compuestos por: un filtro mecánico modelo Astral pool Aster 99, un filtro biológico (estañones plásticos con 60 litros de material filtrante de biobarriles plásticos), una bomba centrífuga trifásica de 230v, 0,5 HP, un filtro UV marca UV STERILIZIER y un fraccionador de espuma RK2, modelo RK10AC-PF (Fig. 1C). Además, se colocaron dos piedras de aireación por tanque para mantener el agua marina en movimiento.



Fig. 1. Sistema de cultivo. A) estructura tipo mesa. B) tanque circular de 10m³. C) Sistema de recirculación de agua marina

Dentro de cada tanque se colocaron sensor de temperatura HOBO Water Temp Pro v2 (U22-001), programado para registrar la temperatura cada 10min. La radiación fotosintética activa o PAR por sus siglas en ingles se midió mediante un luxómetro Sper Scientific modelo L860152.

Para determinar el contenido de nutrientes (amonio, fosfatos, nitratos, nitritos) por tanque, se tomaron muestras de agua de manera semanal. Dichas muestras fueron luego analizadas mediante un Autoanalizador de Flujo Continuo (FIA por sus siglas en ingles), marca Lachat Instruments, en el Laboratorio de Oceanografía Química, del CIMAR, Universidad de Costa Rica.

La alcalinidad, el calcio, y el magnesio se midieron utilizando los kits comerciales Aquaforest[®] TestPro (Anexo 1), certificados con sello de titulación y exactitud por medio de espectrofotometría UV-VIS por MarinLab Professional Water Tests. La salinidad no se midió de

manera sistemática. Se hizo una primera medición al inicio del experimento, y luego, conforme se consideró conveniente, utilizando un refractómetro marca ATAGO modelo ATC-S/Mill-E.

Porites lobata es un coral del tipo masivo y *P. damicornis* es un coral del tipo ramificado, por lo tanto, las mediciones y su interpretación son distintas. El crecimiento de los fragmentos de *P. lobata* es expresado, como la extensión del tejido incrustante sobre el disco de cerámica; en el caso de los fragmentos de *P. damicornis* esta medición corresponde al área de fijación de la colonia. Es decir, el tejido diferenciado, responsable del anclaje del fragmento sobre el sustrato (en este caso es el disco de cerámica).

El crecimiento y la sobrevivencia de cada uno de los fragmentos de coral fue monitoreado con una cámara submarina (Olympus Waterproof Tough TG-5). Se tomaron fotografías de los fragmentos de coral al iniciar el experimento el 17 de mayo del 2018, para luego repetir el registro fotográfico con una periodicidad de aproximadamente 15 días, hasta el final del experimento el 17 de octubre 2018. Cada una de las fotografías se tomó en un ángulo perpendicular (cenital) al sustrato, a fin de reducir al mínimo posibles errores de tipo paralaje en la medición del área superficial (tejido del cenosarco) en el caso de *P. lobata* y de la extensión de las ramas en el caso de *P. damicornis*. Sumado a esto a los fragmentos de *P. damicornis* se los tomo también una fotografía lateral con el fin de calcular su altura.

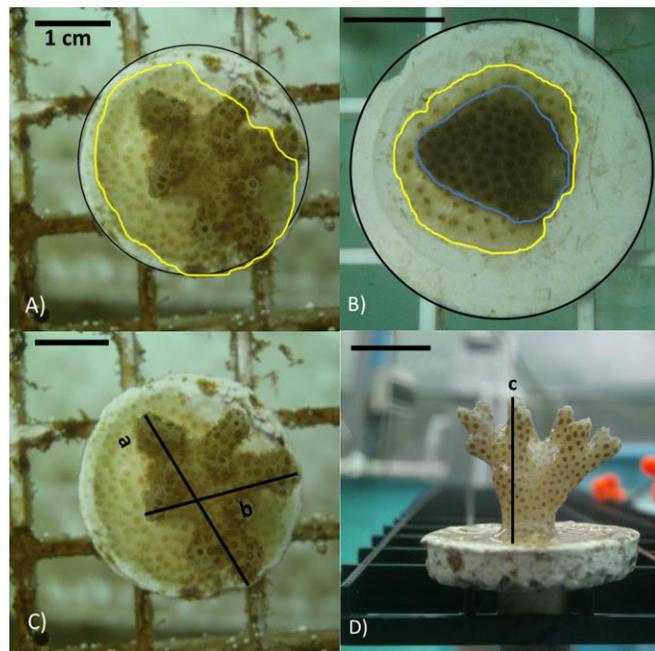


Fig. 2. Mediciones realizadas a los fragmentos de coral. A) medición del área de fijación. B) medición del área superficial de tejido, la línea azul enmarca la periferia del tamaño original del fragmento, y la línea amarilla nuevo tejido agregado respecto a este. C) medición del largo y el ancho, a: largo, b: ancho. D) medición de la altura para *P.damicornis*, c: alto

Las fotografías fueron procesadas mediante la utilización de ImageJ 1.45, programa digital de libre acceso que permite calcular el área y las estadísticas de valor de pixel, de secciones de una fotografía definidas por el usuario (Schneider et al., 2012). El área superficial de tejido, representa la métrica de crecimiento para *P.lobata*, mientras que para *P.damicornis* denota el área de fijación (AF), la cual se midió respecto al área del disco de cerámica (7.07 cm²) de la siguiente manera: área del fragmento en pixeles (afp) y área del disco en pixeles (adp) (Fig. 2A y 2B).

$$\text{Crecimiento } P.lobata \text{ (cm}^2\text{) o AF en } P.damicornis \text{ (cm}^2\text{)} = 7.07 * (\text{afp/adp}).$$

A partir de las fotografías cenitales de *P. damicornis* se calculó el largo (a distancia máxima entre las ramas distales) y ancho (la medida perpendicular al largo) de los fragmentos. Dichas mediciones se obtuvieron, utilizando la distancia conocida entre cada cuadrícula de la rejilla (1.6 cm) como medida de calibración del software, mientras que para las fotografías laterales se utilizó como medida de calibración conocida 0.5 cm, el alto del disco de cerámica. Una vez se obtuvieron el largo (cm), ancho (cm) y alto (cm) de los fragmentos (Fig. 2C y 2D), se calcularon para cada fragmento el área de la corona (AC) y el volumen elipsoidal (Vol).

Para calcular el área de la corona (cm²), de los fragmentos de *Pocillopora* se utilizó la siguiente formula (Baums et al., 2019):

$$AC \text{ (cm}^2\text{)} = a*b*\pi/4$$

Donde a y b son el largo (cm) y ancho (cm), respectivamente.

Para calcular el volumen (cm³), de los fragmentos de *Pocillopora* se utilizó la siguiente fórmula (Salinas-Akhmadeeva, 2018):

$$\text{Vol (cm}^3\text{)} = 1/8 * (4/3\pi abc)$$

Donde a,b,c son el largo, ancho y alto en cm.

A partir de los datos obtenidos del AF, AC, Vol, se calculó la tasa de crecimiento (TC) para la totalidad de los fragmentos a lo largo del periodo experimental. Para esto, se utilizaron las siguientes formulas:

Tasa de crecimiento

La tasa de crecimiento (TC) es el cambio, ya sea en el área o volumen en un tiempo determinado. La tasa de crecimiento se calculó, para los fragmentos que sobrevivieron hasta el final del periodo experimental, de la siguiente manera: la diferencia entre la última medición efectuada (afrag_U) y la medición realizada anterior a esa (afrag_A), dividida entre los días entre una y otra (t_U - t_A).

$$TC \text{ (cm}^2 \text{ d}^{-1}\text{)} = (\text{afrag}_U - \text{afrag}_A) / (t_U - t_A)$$

Sobrevivencia

El porcentaje de sobrevivencia mensual se calculó restando el número de los fragmentos de coral muerto (n_m) de la muestra total (n), como sigue:

$$\text{Sob} = (n - n_m) * 100 / n$$

Cálculo de rendimiento

El rendimiento del cultivo coralino para *P.lobata* se calculó como el rendimiento obtenido proporcional al rendimiento esperado, estableciendo como valor de cosecha 7.07 cm², el equivalente a un disco de cerámica lleno. Para esto se utilizaron las siguientes ecuaciones modificadas de Schippers y colaboradores (2012):

$$R_{\%} = (100 \times R_{\text{obt}}) / R_{\text{esp}}$$

$$R_{\text{esp}} = R_{\text{obt}} (N_{\text{frag}} \times P_{\text{frag}})$$

El símbolo R_{esp} es el rendimiento (la cosecha deseada, expresada en este caso en cm²), N_{frag} es el número inicial de fragmentos a ser cultivados, y P_{frag} es la cosecha media por fragmento durante el periodo de cultivo,

$$P_{\text{frag}} = (1-Z) F_t$$

se sugiere Z como factor de rezago contemplando la sobrevivencia ($100 - \%$ de fragmentos sobrevivientes que no alcanzaron el tamaño deseado) /100, y F_t es el tamaño del fragmento al finalizar el periodo de cosecha de duración t .

Análisis estadístico

Se utilizó el programa estadístico R versión 4.0.2. Los datos fueron sometidos a la prueba de contrastes de normalidad de Shapiro-Wilks; a partir de los resultados obtenidos se estableció que los datos eran no paramétricos. Por lo que se utilizó la prueba de suma de rangos de Wilcoxon, esto, con el de establecer posibles diferencias significativas entre las distintas variables (excepto la salinidad que no se midió sistemáticamente) por tanque. La sobrevivencia entre las especies por tanque, se comparó usando el método de Kaplan-Meir (Lee, 1992). Para el estudio del crecimiento, los datos fueron primero transformados a \log_{10} , para ser luego utilizados en una serie de modelos de regresión lineal simple. La relación entre las métricas área de la corona y volumen se trabajó mediante un análisis de correlación de Spearman. Los resultados estadísticos se trabajaron a un nivel de confianza del 95%.

4. Resultados

Sobrevivencia

De los 180 fragmentos, el 100% sobrevivió a el proceso de subclonación y sujeción a los discos. Durante los primeros días, se observo una primera capa de tejido coralino, el cenosarco, expandiéndose a lo largo de los márgenes del área de corte, como lo observaron Forsman et al. (2006).

La sobrevivencia final para los fragmentos de *P. lobata* fue de 68.89% en el tanque 1 y 71.11% en el tanque 2. En el caso de *P. damicornis* el 71.11% sobrevivió en el tanque 1, mientras que en el tanque 2 fue del 100%. Indiferentemente de la especie, se encontró una diferencia significativa en la sobrevivencia total de los fragmentos colocados en el tanque 1 respecto a los que se colocaron en el tanque 2 (Cuadro 1).

En el T1, catorce fragmentos murieron en el periodo del 17 de mayo al 1 de junio. La causa del evento no está clara, pero, se presume al estrés asociado a la fragmentación sumado al proceso de aclimatación al tanque como posibles factores asociados a esta mortalidad inicial. Los 31 fragmentos restantes sobrevivieron (68.89%) hasta mediados de octubre, momento en que mueren todos los fragmentos en el T1y se da por terminado el cultivo experimental. El mes de octubre del 2018 se caracterizó por un régimen pluvial particularmente alto, en el que convergieron un extenso temporal y 6 ondas tropicales, según el Boletín Meteorológico Mensual emitido por el Instituto Meteorológico Nacional, 2018. Durante este mes se registraron los valores de salinidad más bajos (T1= 17 PSU y T2= 24 PSU). Es claro que el fuerte influjo de agua de lluvia, causo un descenso abrupto de la salinidad (y demás parámetros físico-químicos), resultando en la pérdida del cultivo.

Similar a los fragmentos del T1, los *P. lobata* en el segundo tanque (T2), experimentaron un primer episodio de mortalidad (mueren 12 fragmentos) entre el tiempo 0 (Fig. 3) y el 1 de junio. Quince días después, el 16 de junio se registra un fragmento muerto, para un índice de sobrevivencia final del 71.11%. Este porcentaje se mantuvo estable hasta el final del ensayo experimental.

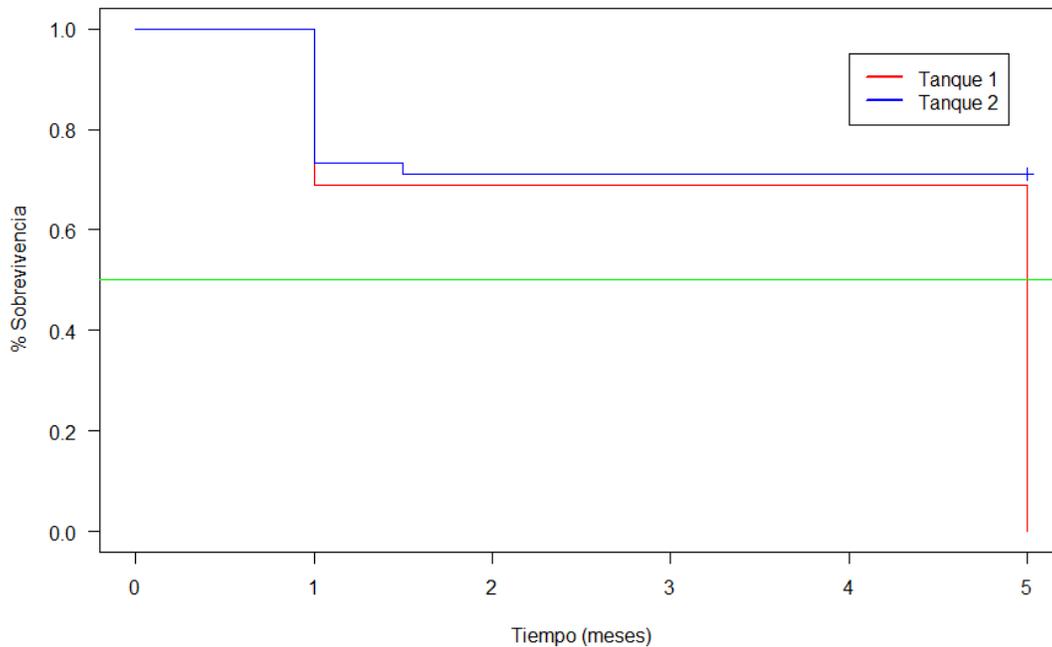


Fig. 3. Sobrevivencia (%) de los fragmentos de *P. lobata* por tanque. En el eje x los meses se representan en forma de “tiempos”. El tiempo 0, es el momento (17/05/18) en que se colocaron los fragmentos en los tanques de cultivo, hasta llegar a el tiempo 5, momento (17/10/18) en que finaliza la toma de datos

El patrón de sobrevivencia de *P. damicornis* cambió significativamente dependiendo del tanque en donde fuesen colocados los fragmentos. Análogo a lo experimentado por *P. lobata*, los fragmentos de *P. damicornis* ubicados en el T1 también sufrieron un evento de mortalidad inicial.

Pasados 22 días desde la introducción de los fragmentos al T1, se registraron seis fragmentos muertos; a la siguiente semana mueren otros seis. Finalmente, a los 44 días de iniciado el cultivo muere otro fragmento, resultando en una tasa de sobrevivencia final de 71.11%. En el caso de los fragmentos en el T2 la sobrevivencia fue del 100% a lo largo del periodo que duro el cultivo experimental (Fig. 4).

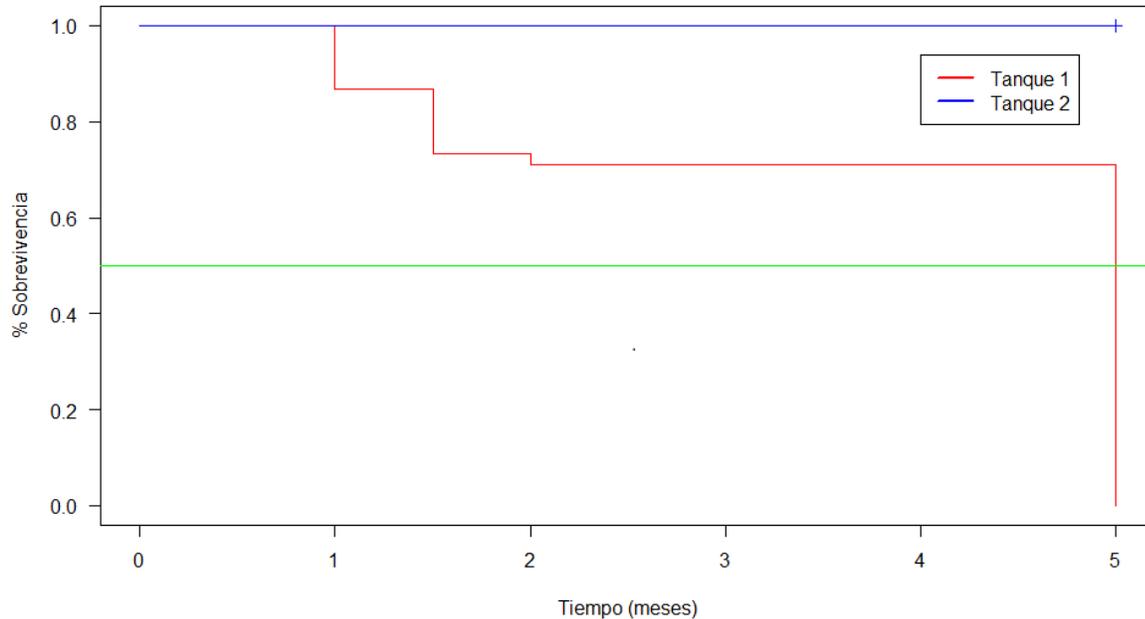


Fig. 4. Sobrevivencia (%) de los fragmentos de *P. damicornis* por tanque. En el eje x los meses se representan en forma de “tiempos”. El tiempo 0, representa el momento (17/05/18) en que se colocaron los fragmentos en los tanques de cultivo, el tiempo 1,2,3,4 representan el inicio de cada mes, hasta llegar a el tiempo 5, momento (17/10/18) en que finaliza la toma de datos

Crecimiento *Porites lobata*

En promedio, el área inicial de los fragmentos de *P. lobata* colocados en el T1 fue $1.31 \pm 0.37 \text{ cm}^2$; mientras que en el T2 fue de $1.36 \pm 0.31 \text{ cm}^2$. Después de 152 días, los fragmentos en T1 (n=31) habían aumentado su área un poco más del doble (216%), con lo que se reporta un área final total de $2.83 \pm 1.07 \text{ cm}^2$, a una tasa de crecimiento promedio de $0.010 \pm 0.052 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. En el caso de los fragmentos en el T2 se reporta un valor final significativamente mayor ($3.78 \pm 1.55 \text{ cm}^2$), triplicando su área final (cuadro 1). La tasa de crecimiento también fue significativamente más alta, $0.016 \pm 0.043 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$.

En el caso del T1, la rápida expansión de tejido, represento un aumento en el área coralina de aproximadamente 1 cm^2 , pasando de $1.31 \pm 0.37 \text{ cm}^2$ a $2.34 \pm 0.35 \text{ cm}^2$ a una tasa de $0.069 \pm 0.026 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. A los 44 días los corales alcanzaron un máximo en el área coralina de $4.04 \pm 1.03 \text{ cm}^2$ a una tasa de crecimiento de $0.038 \pm 0.069 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. Posteriormente, el 12 de Julio, se reporta un primer descenso en los valores biométricos, tanto del área coralina ($3.95 \pm 1.23 \text{ cm}^2$) como de la

tasa de crecimiento ($-0.017 \pm 0.138 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$). Esta tendencia a la baja en ambos valores, se tradujo en un decrecimiento que se mantuvo a lo largo del periodo de estudio (Fig. 5 y cuadro 1). A los 93 días el valor del área promedio reportado es de $2.83 \pm 1.67 \text{ cm}^2$. Finalmente, a mediados del mes de octubre, se observó la decoloración de la totalidad de los fragmentos que al poco tiempo murieron, producto de la entrada de agua de lluvia a los tanques.

Cuadro 1. Cambio en el número total, porcentaje de sobrevivencia, y valores de crecimiento asociados a *P. lobata* durante el periodo experimental. El símbolo * denota diferencias significativas (p-valor <0.05) entre los tanques

Tanque	N inicial	N final	Sobrevivencia *	Área* frag.inicial(cm^2)	Área* frag.final(cm^2)	Incremento promedio (%)	TC ($\text{cm}^2 \text{ d}^{-1}$)*
T1	45	31	68.89%	1.31 ± 0.37	2.83 ± 1.07	216	0.010 ± 0.052
T2	45	32	71.11%	1.36 ± 0.31	3.78 ± 1.55	277	0.016 ± 0.043
Significancia (p-valor)	—	—	5e-08	—	0.002	—	0.0008

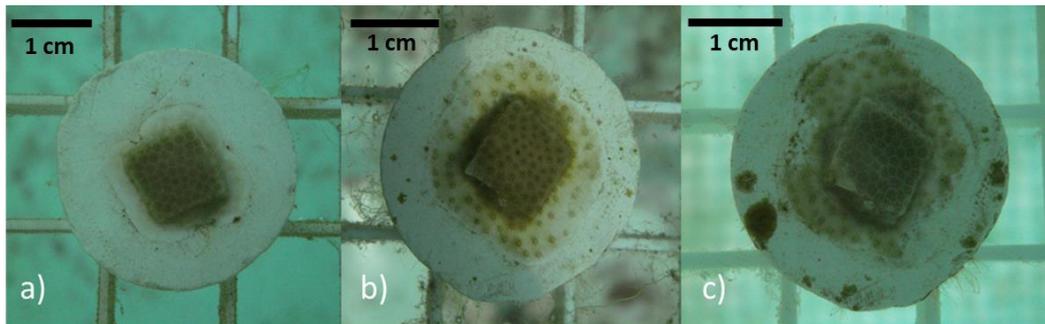


Fig. 5. Fragmento 25, colocado en el tanque 1. a) Expansión del cenosarco; b) tejido con pólipos; c) pérdida de tejido en la periferia del fragmento

Los fragmentos de *P. lobata* colocados en el T2, experimentaron un aumento en su área de $1.36 \pm 0.31 \text{ cm}^2$ a $2.06 \pm 0.69 \text{ cm}^2$ en menos de un mes de haber comenzado el cultivo (tasa = $0.039 \pm 0.053 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$). A los 113 días, se registró el valor más alto ($4.43 \pm 1.55 \text{ cm}^2$) del área

coralina. Diez días después el 22 de septiembre, los fragmentos en el T2 siguieron la misma tendencia (aunque con dos meses de diferencia) que sus contrapartes en el T1, evidenciando una primera reducción del tejido coralino (-12%) que continuó deteriorándose ($-0.023 \pm 0.079 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$) hasta el final del periodo experimental, no obstante, y a diferencia de los fragmentos en el T1, la reducción en el área final ($3.78 \pm 1.55 \text{ cm}^2$) fue menos marcada (Fig. 6 y Fig. 7). Adicionalmente, siete fragmentos en el T2 lograron abarcar el 90 % ($>6.5 \text{ cm}^2$) del disco en ~90 días (Fig. 8). Además, los fragmentos en el T2 sobrevivieron al evento pluvial que se presume causó la muerte de los fragmentos en el T1.

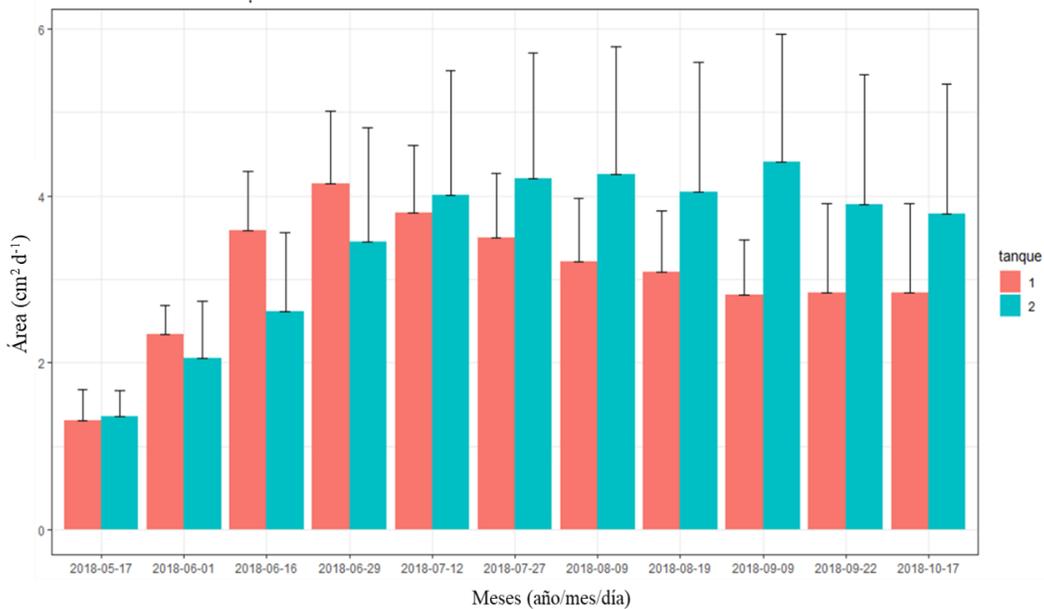


Fig. 6. Cambio en el área (cm^2) promedio y desviación estándar respecto al tiempo de residencia en los tanques de cultivo, para la totalidad de los fragmentos

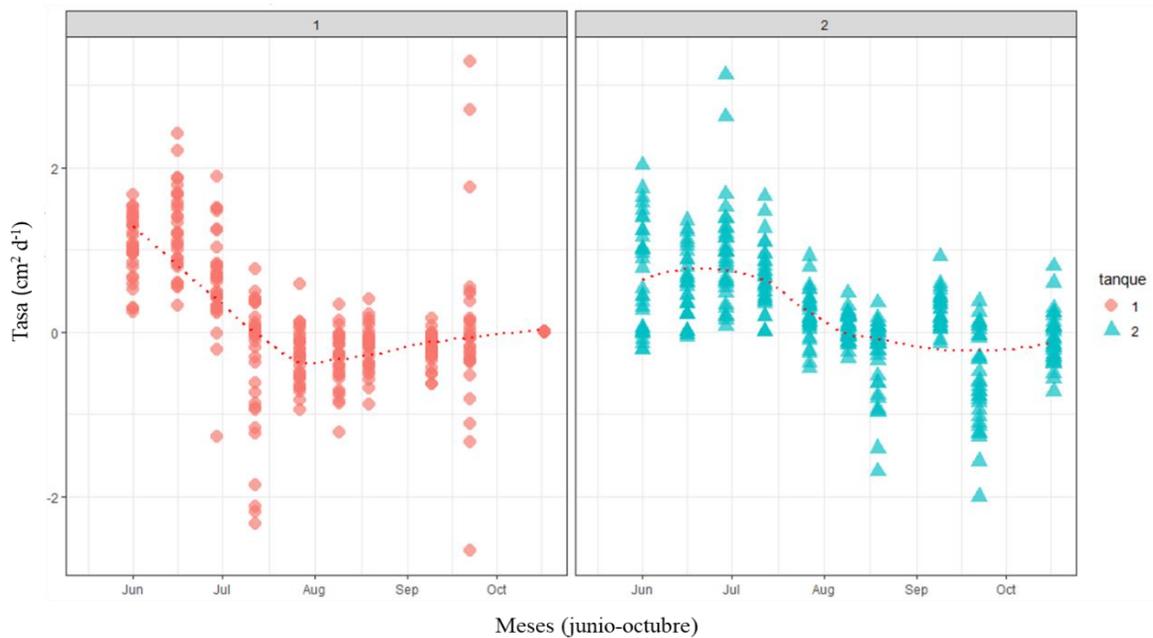


Fig. 7. Tasa de crecimiento del área coralina ($\text{cm}^2 \text{d}^{-1}$) respecto al tiempo de residencia en los tanques de cultivo, para la totalidad de los fragmentos y hasta un acumulado de 152 días

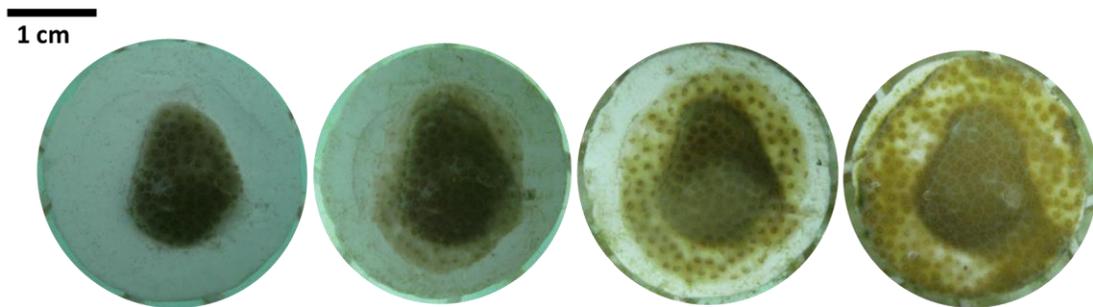


Fig. 8. Fragmento 34, T2. De izquierda a derecha, crecimiento del 17/05 al 09/08

Según se observa en los modelos de regresión lineal, el desempeño de los fragmentos de *P. lobata* a lo largo del periodo de cultivo varió significativamente (p -valor < 0.005) en función del tanque en donde fueron colocados, aunque el tiempo de residencia en los tanques por si solo explica apenas el 16% de variación en el área y 18% en el caso de la tasa de crecimiento. En la Fig. 9 vemos como el área de los fragmentos en el T2 aumenta y sobrepasa (~ 50 días) al área de los fragmentos en el T1, congruente con el comportamiento de la tasa de crecimiento. Los

fragmentos en el T2 crecen a una mayor tasa que los del T1; esta diferencia se mantiene constante, incluso conforme las tasas decaen (decrecimiento) con el paso del tiempo (Fig. 10).

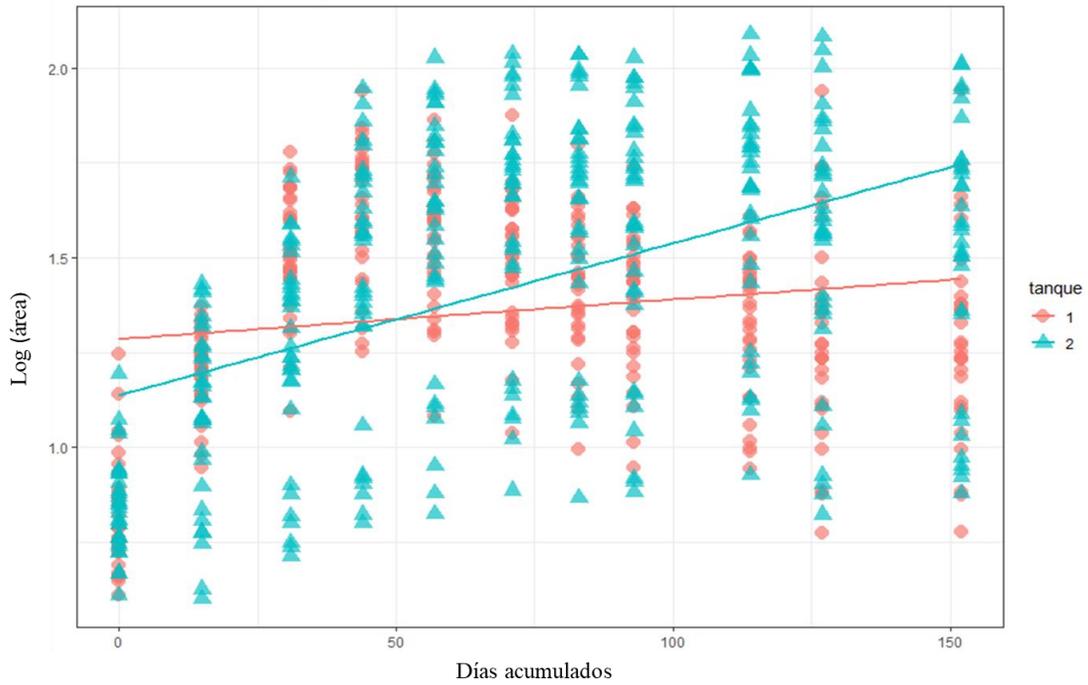


Fig. 9. Relación entre el cambio en el área (\log_{10}) de los fragmentos en dependencia del tanque en donde fueron colocados (p -valor $< 2.2e-16$; $r^2=0.16$)

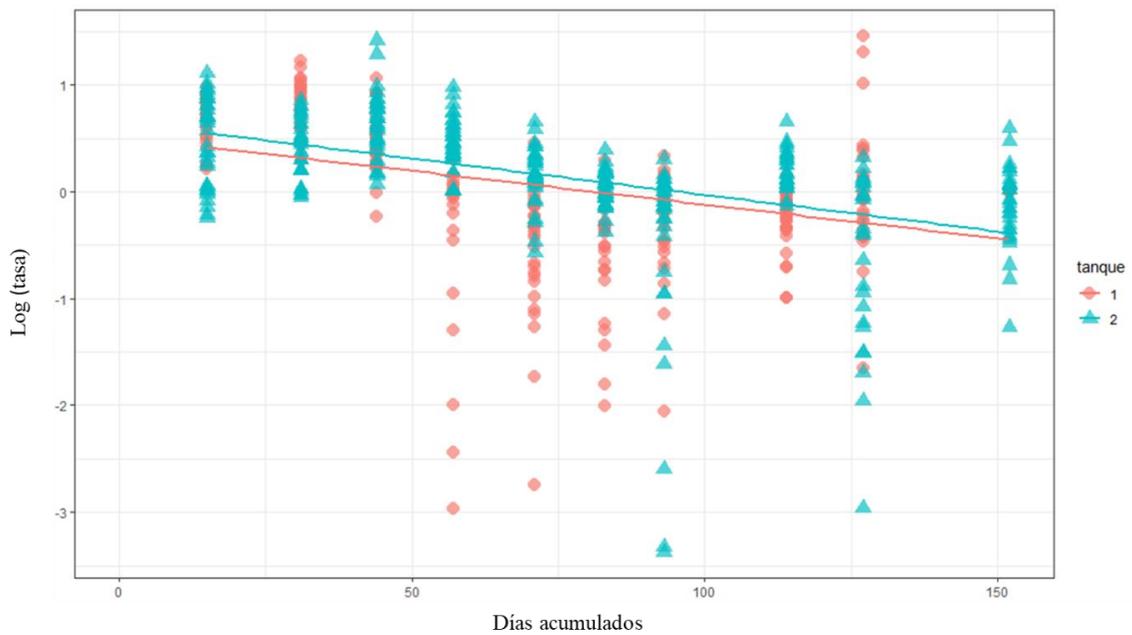


Fig. 10. Relación entre el cambio en la tasa de crecimiento (\log_{10}) de los fragmentos en dependencia del tanque en donde fueron colocados (p -valor $< 2.2e-16$; $r^2=0.18$)

Crecimiento *Pocillopora damicornis*

El patrón de crecimiento no fue homogéneo para esta especie; varios de los fragmentos lograron abarcar una gran parte del sustrato e incluso extendieron su tejido más allá de la periferia del mismo, algunos otros, expandieron su área basal muy poco, pero desarrollaron mayor número de ramas. No obstante, la mayoría cayó dentro de un patrón de crecimiento intermedio, en donde, después de cierto tiempo el AF dejó de crecer, mientras que las ramas continuaron extendiéndose (AC y Vol) (Fig. 11).



Fig. 11. Fragmento 127 (T2); a) Fotografía cenital y lateral tomada al inicio del cultivo experimental b) mismo fragmento luego de 127 días en el sistema de cultivo

Para el área de la corona (AC) se obtuvo un valor final de $5.49 \pm 4.01 \text{ cm}^2$ a una tasa de $0.023 \pm 0.053 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ en el caso del T1 y $4.20 \pm 3.12 \text{ cm}^2$; $0.019 \pm 0.048 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$, para el T2. Como se mencionó anteriormente, algunos de los fragmentos desarrollaron varias ramas nuevas, mientras que otros no lo hicieron (Fig. 12).

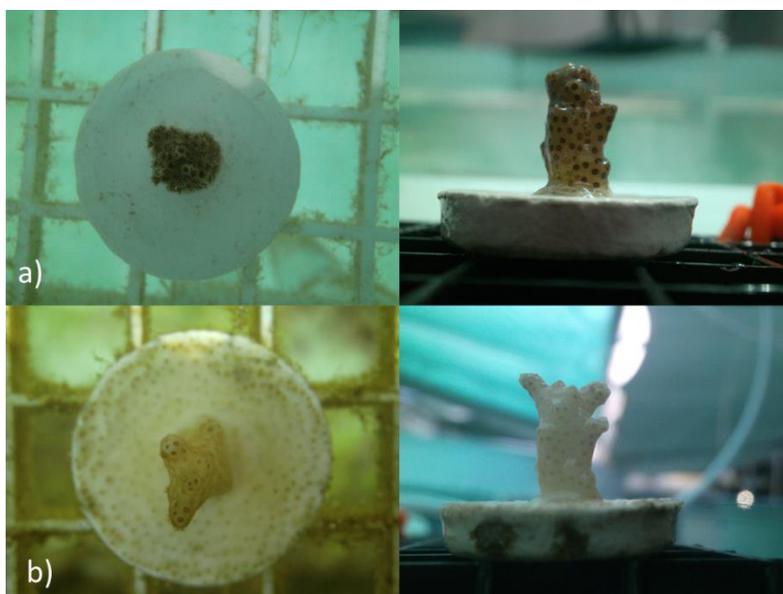


Fig. 12. Fragmento 69 (T2); a) Fotografías aérea y literal tomadas al inicio del cultivo experimental b) mismo fragmento luego de 127 días en el sistema de cultivo

El volumen final y la tasa de crecimiento de los corales en el T1 fue de $58.61 \pm 53.75 \text{ cm}^3$ y de $0.344 \pm 0.603 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$, respectivamente. En el T2 los fragmentos crecieron $37.05 \pm 37.86 \text{ cm}^3$ a una tasa de $0.189 \pm 0.482 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$. Y, al igual que las otras dos métricas, el volumen develó un patrón de crecimiento disímil entre los fragmentos de *P.damicornis* (cuadro 2).

Cuadro 2. Valores promedio iniciales y finales para el área de fijación (AF) de la corona (AC), y el volumen (Vol) a *Pocillopora damicornis*. * denota diferencias significativas (p-valor <0.05) entre los tanques.

Tanque	N inicial	N final	*Sobrevivencia (%)	AF.inicial (cm ²)	AF.final (cm ²)	Inc.AF. promedio (%)	*AC. Inicial (cm ²)	*AC. final (cm ²)	Incr. AC. (%)	*Vol.inicial (cm ³)	*Vol.final (cm ³)	Incr. Vol. (%)
T1	45	32	71.1	0.57±0.15	5.59±1.86	980	1.50±0.76	5.49±4.01	366	11.12±6.8	58.61±53.75	527
T2	45	45	100	0.59±0.24	5.76±1.30	976	1.46±0.93	4.20±3.12	287	8.69±6.24	37.05±37.86	426
Significancia (p-valor)	-	-	<2e-16	0.8176	-	3.08e-10	-	2.2e-16	-			

Cuadro 3. Valores promedio para las tasas de crecimiento asociadas a *Pocillopora damicornis* en cada tanque. El símbolo * denota diferencias significativas (p-value <0.05) entre los tanques.

Tanque	Tasa AF. (cm ² d ⁻¹)	Tasa AC. (cm ² d ⁻¹)*	Tasa Vol. (cm ³ d ⁻¹)*
T1	0.035±0.047	0.023±0.053	0.344±0.603
T2	0.037±0.046	0.019±0.048	0.189±0.482
Significancia (p-valor)	0.134	0.003355	0.001072

Área de fijación (AF)

La sección basal o área de fijación inicial de los fragmentos de *P. damicornis* colocados en el T1 aumento de 0.57±0.15 cm² a 1.05±0.49 cm² durante los primeros 22 días (0.032±0.030 cm² d⁻¹) de estar inmersos en el sistema de cultivo. En el mismo periodo de tiempo, el área de fijación en los fragmentos en el T2 paso de 0.59±0.24 cm² a 0.98±0.43 cm² a una tasa de 0.026±0,024 cm² d⁻¹. A los 71 días (27/07/18) el área de fijación promedio había aumentado casi 8 veces su tamaño original habiendo producido 4.36±2.01 cm² de tejido incrustante a una tasa de 0.054±0.046 cm² d⁻¹. Similar a sus congéneres; luego de 71 días en el sistema, los fragmentos de *P. damicornis* en el T2 incrementaron su área de fijación hasta un 4.52±1.60 cm² (aumento de 766%) a una tasa de 0.058±0.029 cm² d⁻¹ (Fig. 13 y Fig. 14).

Dado por terminado el periodo experimental, se reporta un área de fijación y una tasa de crecimiento final de 5.63±1.87 cm² y 0.001±0.001 cm²d⁻¹ en el T1 y de 5.76±1.29 cm² y 0.005±0.015 cm²d⁻¹ en T2. No se encontraron diferencias significativas ni entre el área de fijación ni entre la tasa de crecimiento asociadas a los fragmentos en los tanques de cultivo, aunque esta última disminuyo notoriamente hacia el último mes de estudio (cuadro 3).

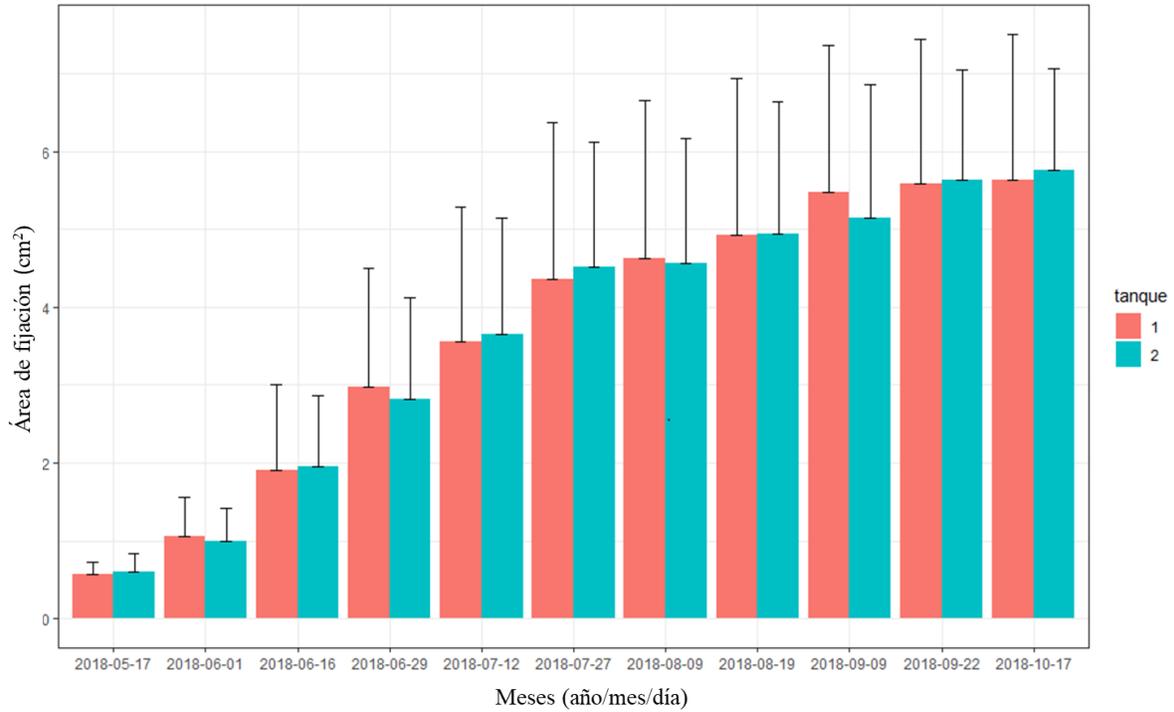


Fig. 13. Cambio en el área de fijación (cm²) y desviación estándar de la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en los tanques de cultivo

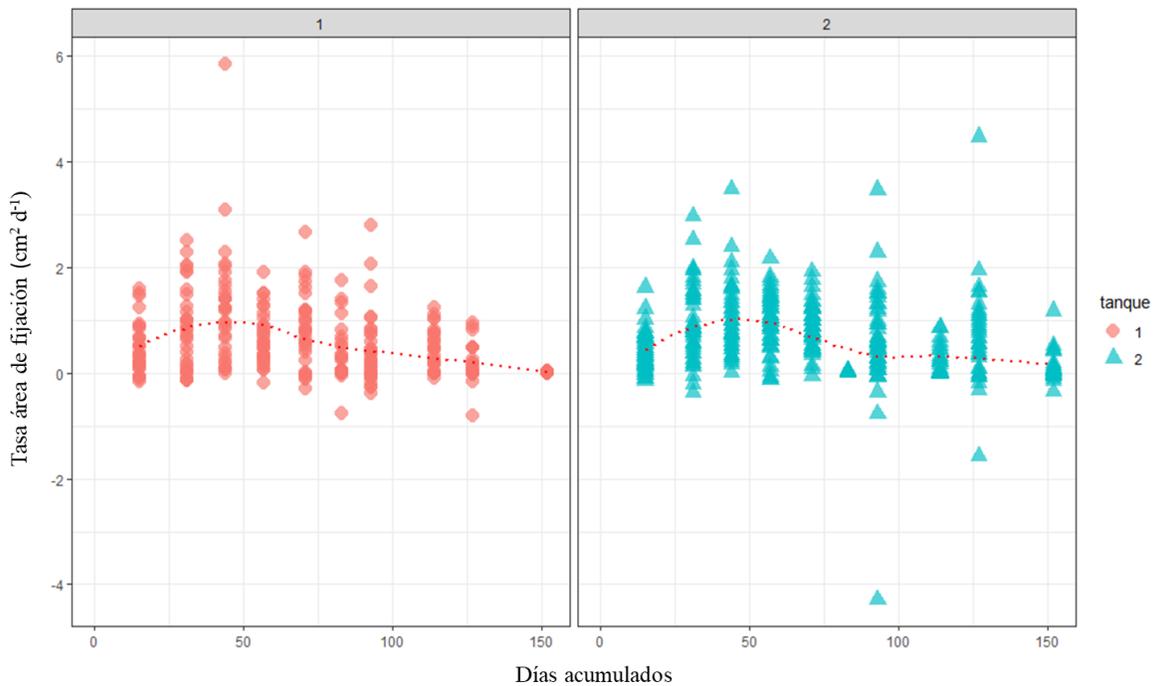


Fig. 14. Tasa de crecimiento del área de fijación (cm²) para la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en los tanques, hasta un total de 152 días.

Área de la Corona (AC)

Tanto el área de la corona como el volumen de los fragmentos fue aumentando progresivamente conforme nuevas ramas se sumaban a las preexistentes, y estas a su vez se alargaban y bifurcaban. Durante las primeras semanas, el área de la corona de los fragmentos en el T1 paso de $1.50 \pm 0.76 \text{ cm}^2$ a $1.98 \pm 1.04 \text{ cm}^2$ a una tasa de $0.032 \pm 0.050 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. Así mismo, el AC de los fragmentos en el T2 aumento de $1.40 \pm 0.93 \text{ cm}^2$ a $1.63 \pm 1.06 \text{ cm}^2$ a una tasa de $0.011 \pm 0.025 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. A mediados del periodo experimental (~70 días) el AC de los fragmentos en el T1 se había duplicado respecto al valor inicial ($3.64 \pm 2.44 \text{ cm}^2$; tasa de $0.031 \pm 0.052 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$). Mientras tanto, los fragmentos en el T2, aumentaron a $2.74 \pm 2.21 \text{ cm}^2$ ($0.014 \pm 0.032 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$) en el mismo lapso. (Fig. 15). El promedio final del área de la corona para los fragmentos en el T1 fue $5.52 \pm 4.03 \text{ cm}^2$, asociada a la tasa de crecimiento más bajas registrada durante el periodo experimental, $0.001 \pm 0.000 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$. Finalmente, en el T2 el área de la corona final alcanzo a medir $4.20 \pm 3.11 \text{ cm}^2$ a una tasa de $0.015 \pm 0.022 \text{ cm}^2 \text{ d}^{-1}$ (Fig. 16).

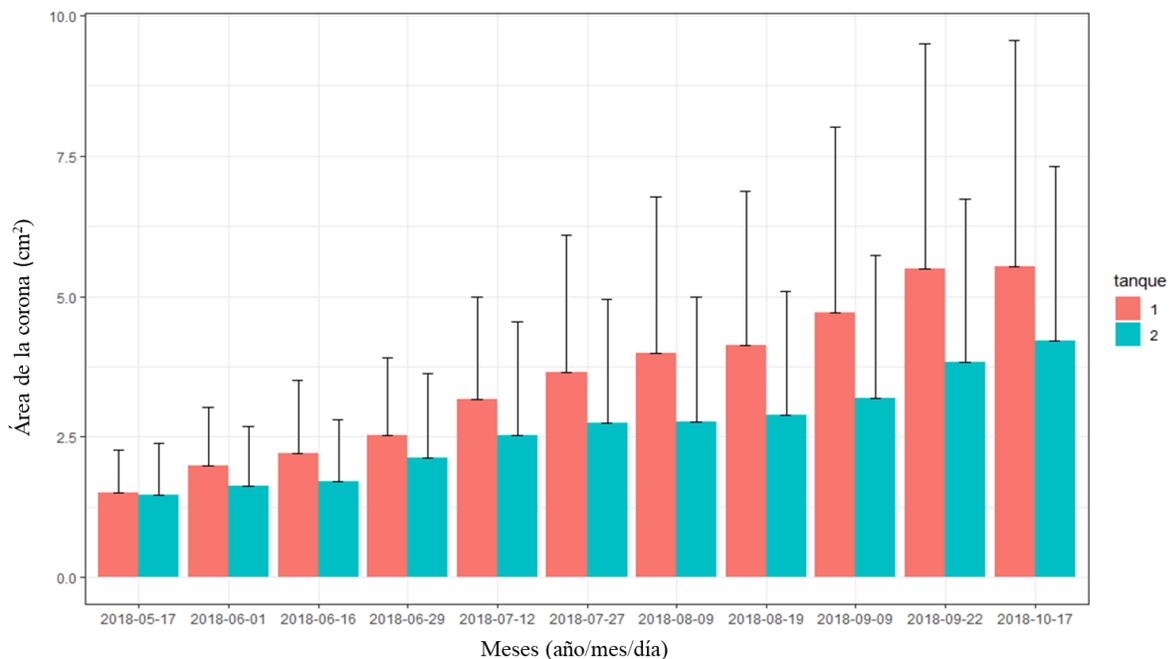


Fig. 15. Cambio en el área de la corona (cm^2) para la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en el sistema de cultivo

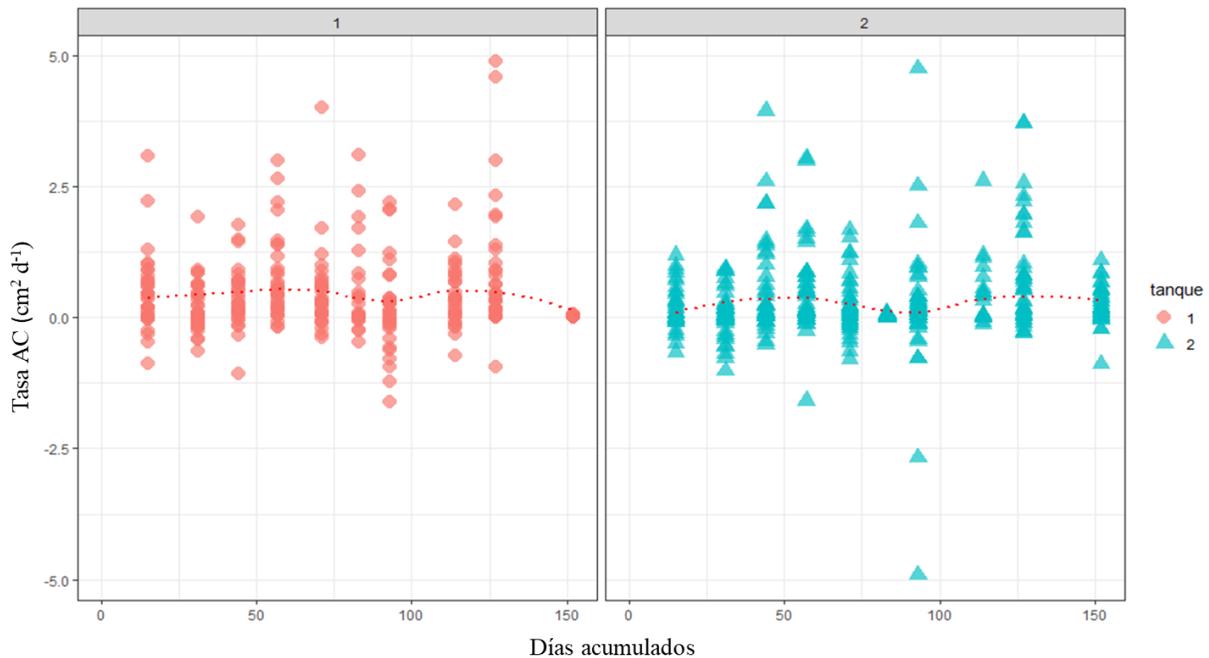


Fig. 16. Tasa de crecimiento del área de la corona (cm^2) para la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en los tanques, hasta un acumulado de 152 días

Volumen Elipsoidal (Vol)

El volumen elipsoidal se comportó de manera análoga al área de la corona. Transcurridos un poco más de dos meses en los sistemas de cultivo el volumen promedio de los fragmentos colocados en el T1 se triplicó ($35.34 \pm 29 \text{ cm}^3$) a una velocidad de $0.501 \pm 0.809 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$. En el T2 el volumen promedio fue de $23.42 \pm 25.05 \text{ cm}^3$ y la tasa registrada fue de $0.315 \pm 0.569 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$ (Fig. 17).

El promedio final para el volumen de los fragmentos en el T1 fue de $58.96 \pm 54.12 \text{ cm}^3$ y, al igual que para el AC se encontró una de tasa de crecimiento muy reducida ($0.014 \pm 0.015 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$). El volumen final que alcanzaron los fragmentos en el T2 fue de $37.05 \pm 37.86 \text{ cm}^3$ a una tasa de crecimiento de $0.175 \pm 0.324 \text{ cm}^3 \text{ d}^{-1}$ (Fig. 18).

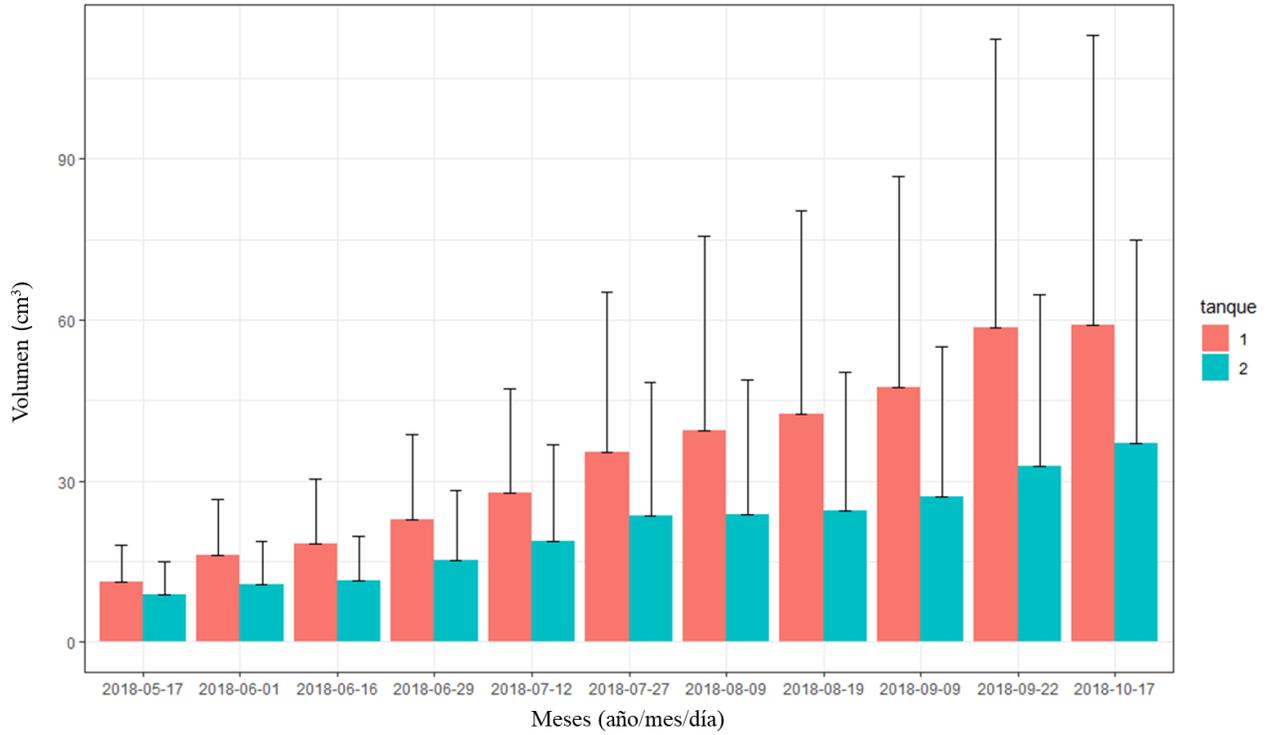


Fig. 17. Cambio en el volumen elipsoidal (cm^3) para la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en los tanques.

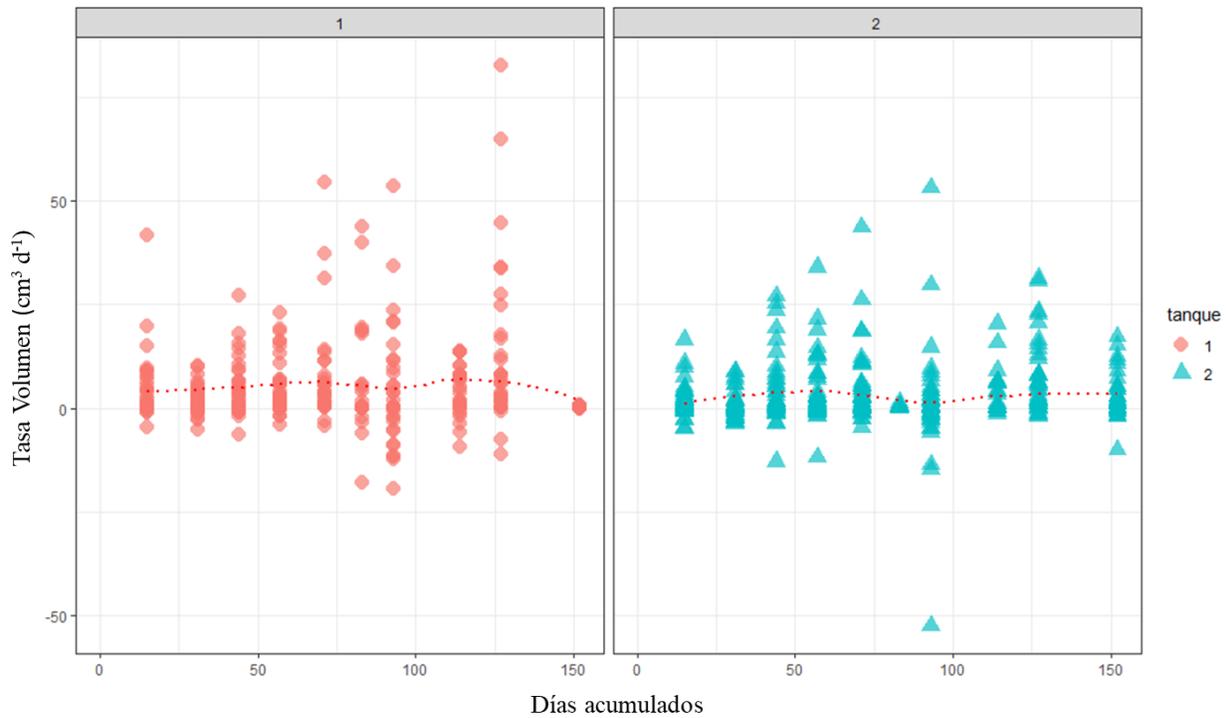


Fig. 18. Tasa de crecimiento en términos de volumen elipsoidal (cm^3) para la totalidad de los fragmentos conforme se fueron acumulando los días de residencia en los tanques, hasta un total de 152 días

La diferencia entre los valores del área de fijación para los tanques no fue significativa, caso contrario al área de la corona y el volumen (cuadro 2). Al igual que en el caso de *P.lobata*, se generó un modelo de regresión lineal simple para explorar de manera general estas diferencias.

Según el modelo (Fig. 19) existe una relación positiva significativa entre ambas variables, además, una buena proporción de la variabilidad (56%) en el área de fijación es explicada por el acumulado de días en los tanques, aunque conforme paso el tiempo, ambas tasas de crecimiento bajaron (Fig. 20).

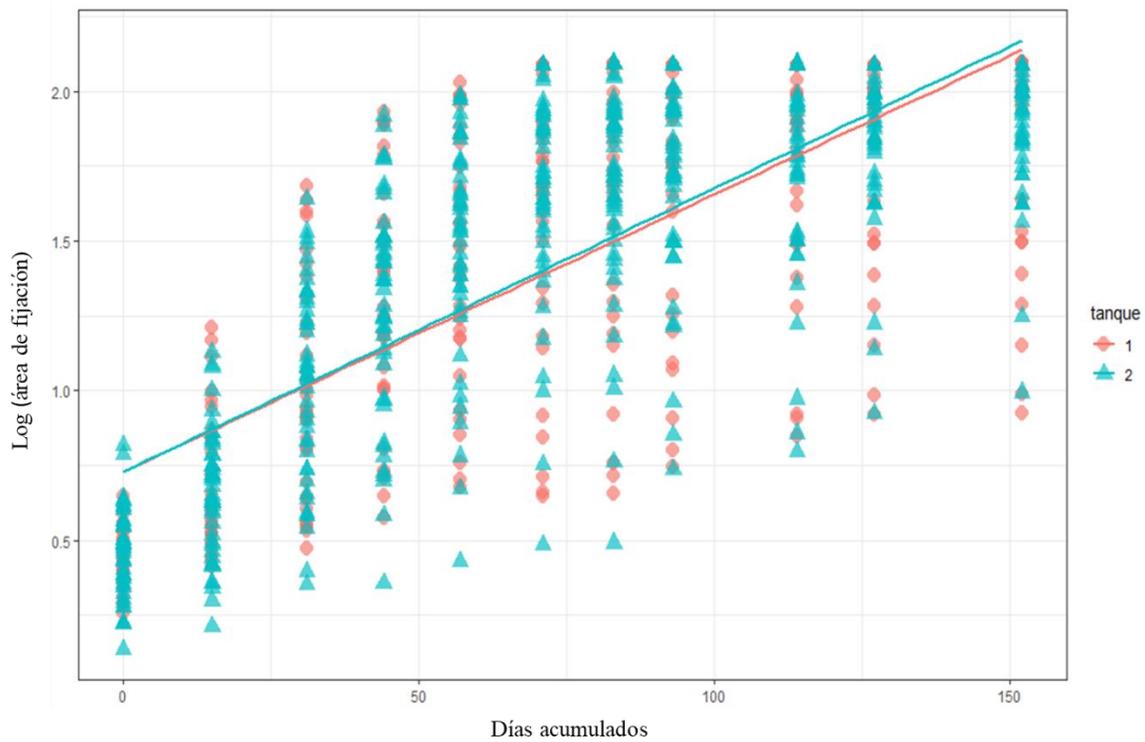


Fig. 19. Relación entre el cambio en el área de fijación (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, y en dependencia del tanque en donde fueron colocados (p -valor = $< 2.2e-16$; $R^2= 0.56$)

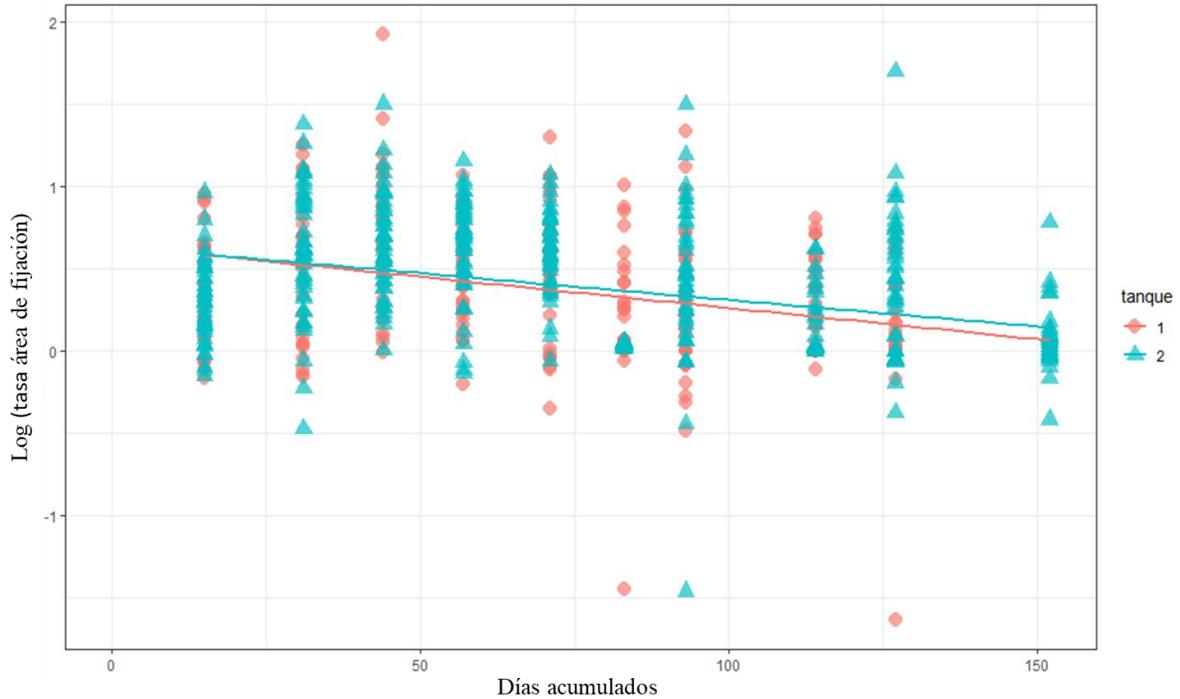


Fig. 20. Relación entre el cambio en la tasa del área de fijación (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, y en dependencia del tanque en donde fueron colocados (p-valor = $< 2.2e-16$; $R^2=0.14$)

En el caso del área de la corona, ocurrió lo contrario. El AC en el T1 fue ligeramente mayor desde el inicio del cultivo, y se mantuvo así hasta el final del periodo experimental. No obstante, la tasa de crecimiento bajo paulatinamente en el T1, mientras que en el segundo tanque se mantuvo constante a lo largo del tiempo (Fig. 21 y Fig. 22).

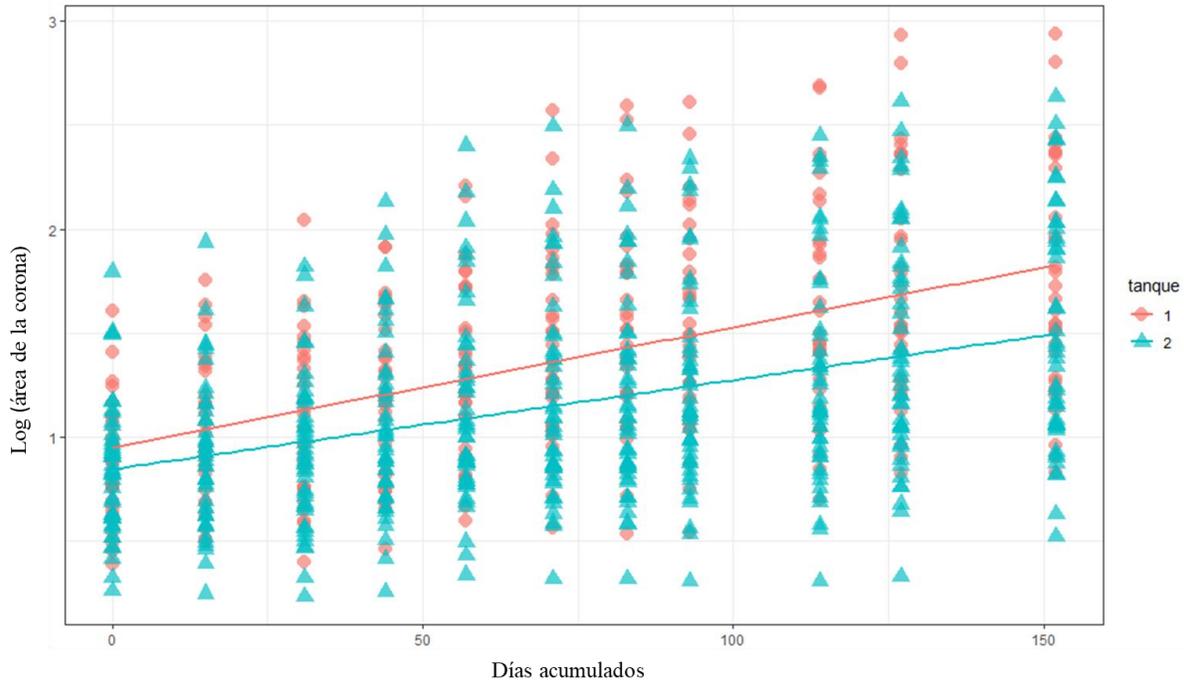


Fig. 21. Relación entre el cambio en el área de la corona (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, y en dependencia del tanque en donde fueron colocados ($p\text{-valor} = < 2.2e-16$; $R^2 = 0.23$)

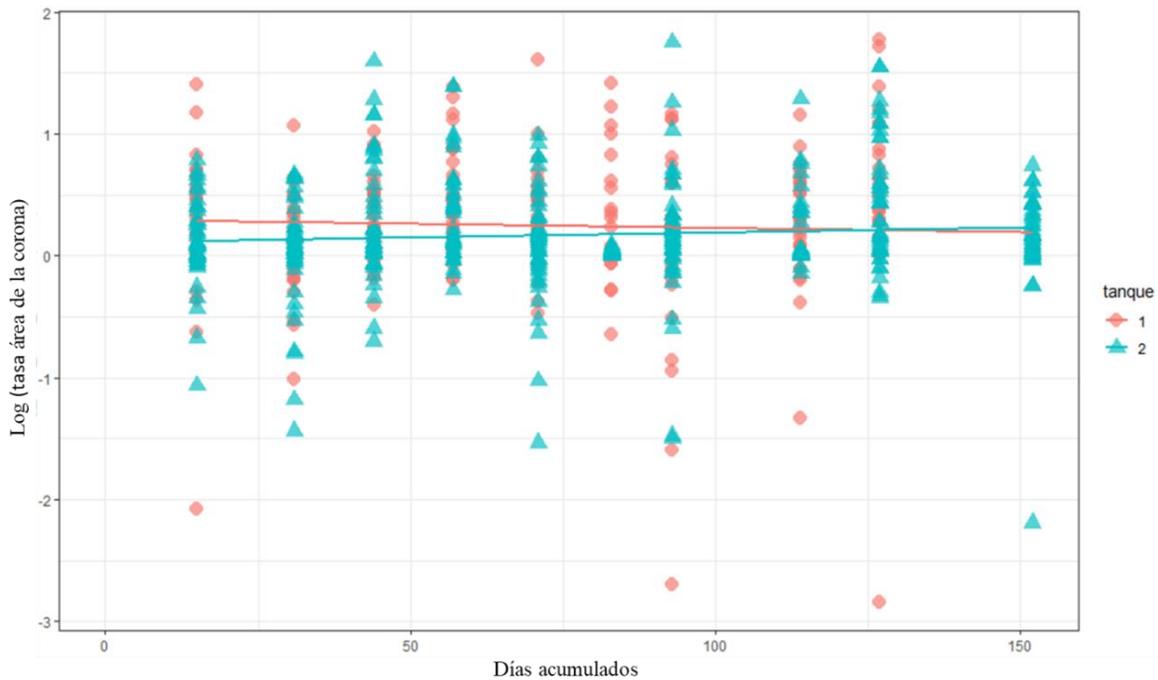


Fig. 22. Relación entre la tasa del cambio en el área de la corona (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, y en dependencia del tanque en donde fueron colocados ($p\text{-valor} = 0.05582$; $R^2 = 0.006$)

Como era de esperarse, el modelo para el volumen se comportó de la misma manera que el modelo del AC (Fig. 23 y Fig. 24).

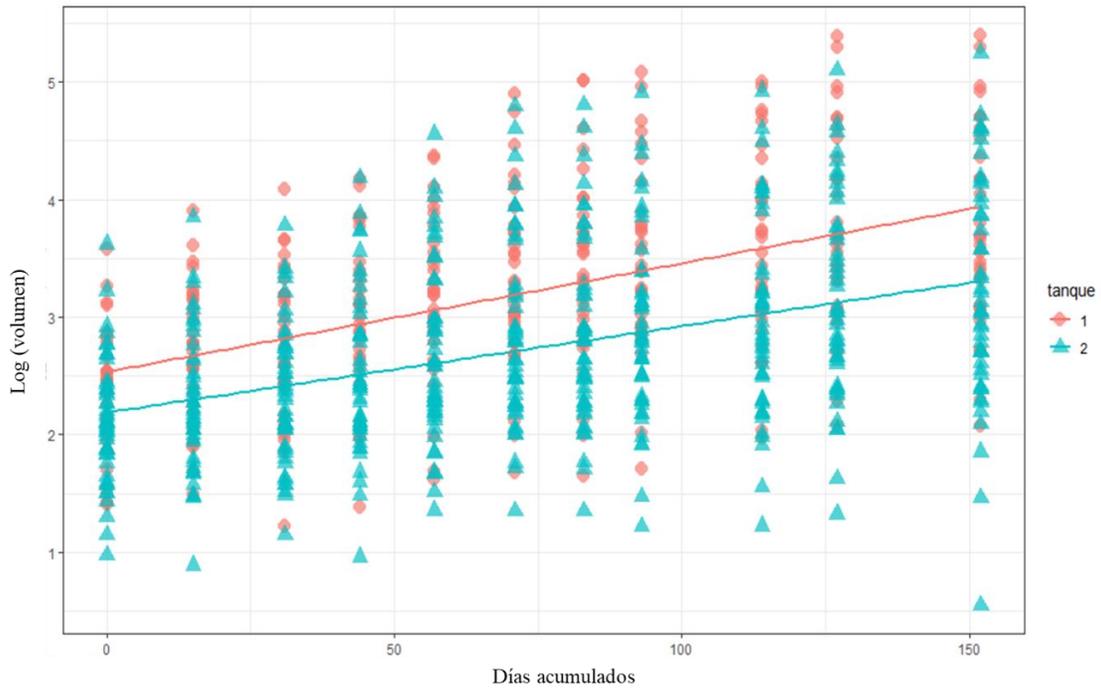


Fig. 23. Relación entre el cambio en el volumen (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, y en dependencia del tanque en donde fueron colocados (p -valor= $< 2.2e-16$; $R^2= 0.26$)

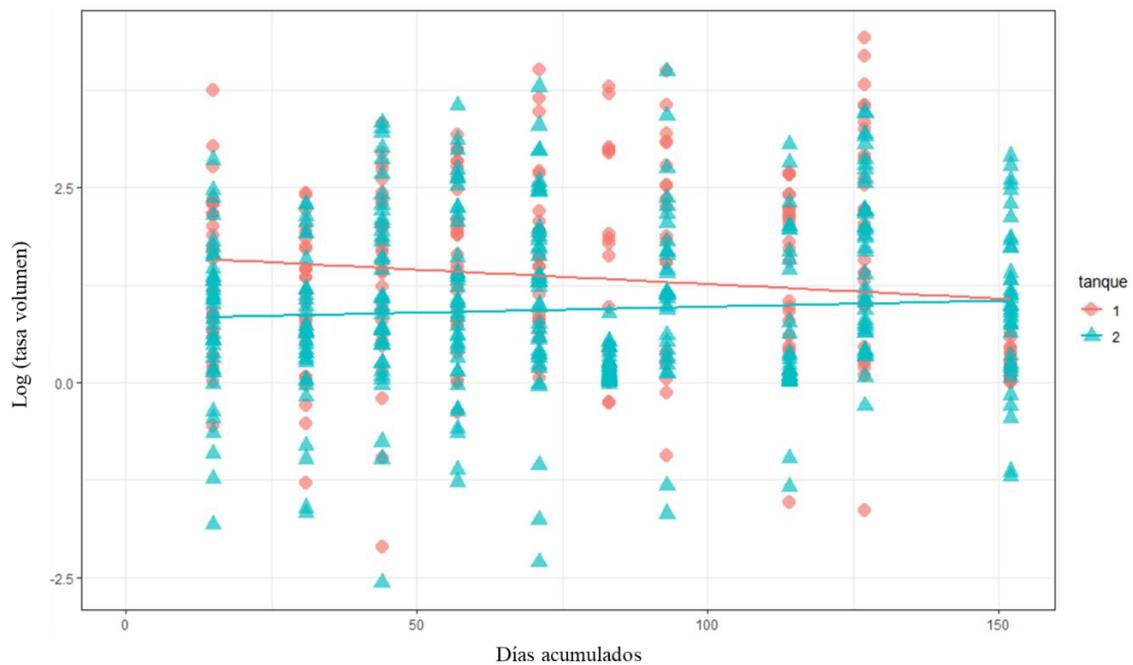


Fig. 24. Relación entre el cambio en la tasa de crecimiento del volumen (\log_{10}) de los fragmentos conforme el paso del tiempo, en dependencia del tanque en donde fueron colocados. (p -valor= $6.001e-06$; $R^2= 0.03$)

El estadístico R-cuadrado, tanto del área del área de la corona, como del volumen, fueron muy bajos. Esto implica que el factor tanque por sí solo, no es un predictivo los suficientemente robusto cómo para explicar la variación en la tasa de crecimiento de los fragmentos de *P. damicornis*.

Área de la Corona versus el Volumen Elipsoidal

Se encontró una fuerte correlación positiva entre el AC y el Vol de los fragmentos de *Pocillopora* (r de 0.96) (Fig. 25). Este resultado, que por sí solo pareció obvio, no brinda información particularmente relevante, hasta que, se complementó con un segundo análisis de correlación. En el cual el AC y el Vol (Fig.26) se trabajaron por separado como variables dependientes, cada una en función de la variable independiente tiempo. Finalmente, se obtuvieron coeficientes de correlación muy similares $r = 0.42$ y $r = 0.43$ (Fig.27). Por tanto, se dedujo que la fuerza de la relación de ambas métricas respecto al tiempo eran prácticamente la misma.

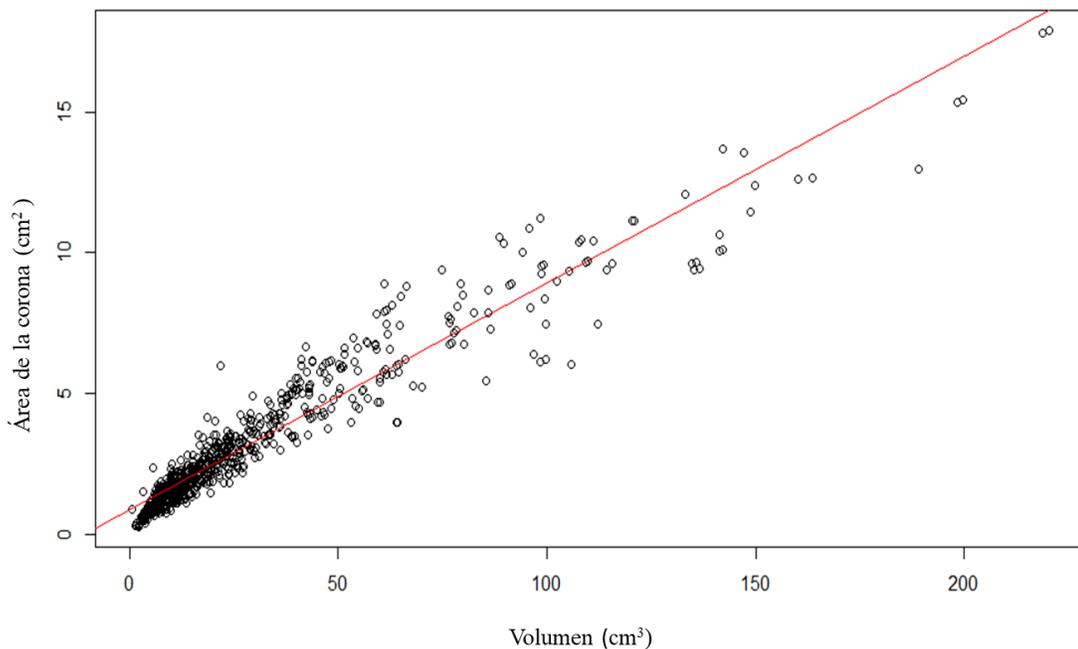


Fig. 25. Relación entre el área de la corona (cm^2) y el volumen elipsoidal (cm^3) con valores extremos. Las métricas se correlacionan con un r de 0.96 y un p -valor de $< 2.2\text{e-}16$

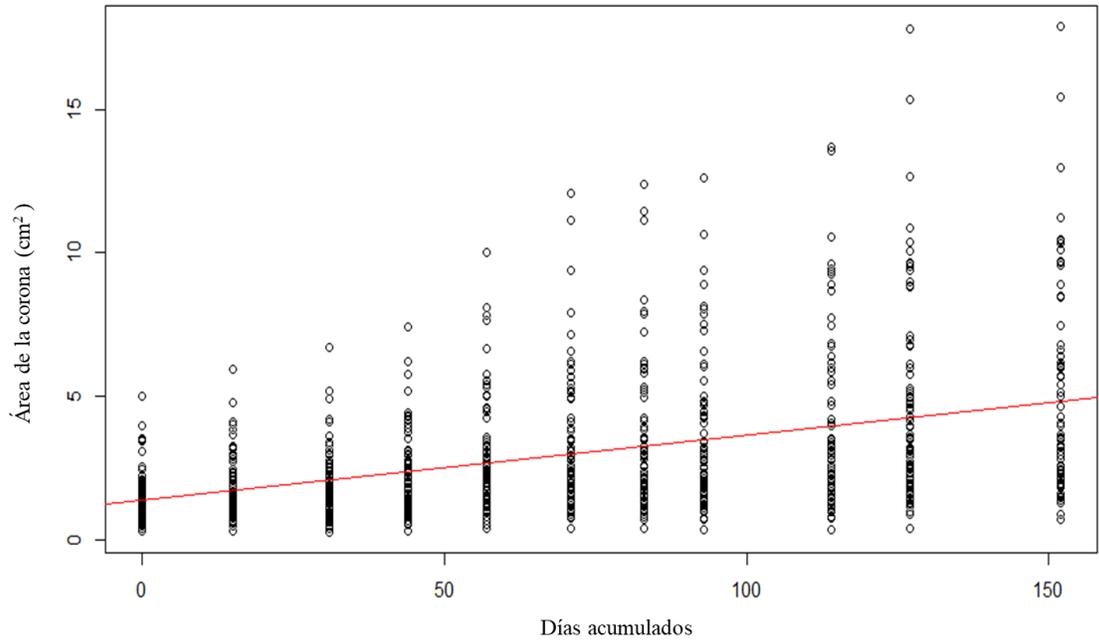


Fig. 26. Relación entre el área de la corona (cm^2) y los días acumulados (cm^3). Las métricas se correlacionan con un r de 0.42 y un p -valor de $< 2.2\text{e-}16$

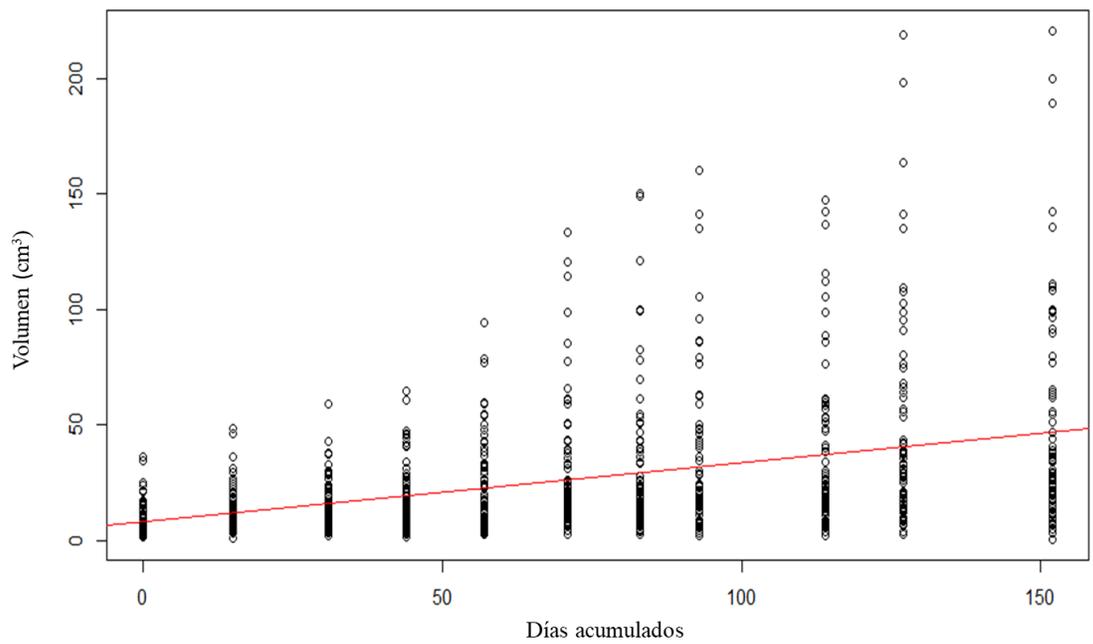


Fig. 27. Relación entre el volumen elipsoidal (cm^3) y los días acumulados. Las métricas se correlacionan con un r de 0.43 y un p -valor de $< 2.2\text{e-}16$

Hasta este punto el componente crecimiento se ha abordado de forma paralela a través del AC y el Vol. No obstante, pasado este punto, los resultados se discutirán en términos de V y no de AC, debido a un mayor uso de la métrica volumen en la literatura científica.

Rendimiento

Se calculo el rendimiento únicamente para los fragmentos de *P.lobata* en el T2, ya que ninguno de los fragmentos en el T1 alcanzo el tamaño de cosecha. A partir de un número inicial de 45 fragmentos y un tamaño final (F_t) de cosecha de 7.07 cm^2 se obtendría un rendimiento hipotético igual a 318.15 cm^2 . En este estudio se obtuvo un valor de $Z= 0.78$ dado que, de los 32 fragmentos sobrevivientes, únicamente 7 alcanzaron un $F_t = \sim 7.07 \text{ cm}^2$ durante el periodo que duro el cultivo experimental. Sustituyendo en la ecuación $P_{\text{frag}} = (1-0.78) \times 7.07 \text{ cm}^2 = 1.55$. Finalmente, se obtuvo un rendimiento (R) igual a $45 \times 1.55 = 69,75 \text{ cm}^2$. Equivalente a un 21% de la cantidad de material que ingreso en un principio al sistema.

Caracterización del agua

La mayoría de las variables físico-químicas mostraron diferencias significativas entre los tanques, excepto la alcalinidad. Se obtuvo una diferencia significativa entre la temperatura y el PAR, ambas propiedades conservativas. La temperatura fue la única que no vario significativamente respecto a los valores reportados en la literatura como aceptables para el desarrollo de este tipo de organismos (cuadro 4).

Cuadro 4. Promedio y desviación estándar. Parámetros fisicoquímicos reportados para cada Tanque. El símbolo * denota diferencia estadísticamente significativa entre los tanques (p-valor= <0.05)

Variables por tanque	Temperatura* (°C)	Alcalinidad-Kh (µmol/L)	Calcio* (mg/L)	Mg* (mg/L)	PAR* (µE m⁻² s⁻¹)
Valores de referencia^{a, b, c}	26-30	8	425	1250	250-1000
T1	29.09±0.56	6.50±1.39	350.9±51.80	1118±188	1002±410.31
T2	28.74±0.55	6.6±0.87	368±44.2	1156±124.6	895±414.55
Significancia (p-valor)	<2.2e-16	0.2133	<2.2e-16	0.0192	0.001693

Referencias: a= Kleypas, McManus y Menez, 1999; b= Borneman, 2008; c= Bartlett, 2013.

De los nutrientes, el único que no varió de manera significativa entre los tanques fue el fosfato, que al igual que la alcalinidad es una propiedad que ambos tanques deberían compartir en proporciones similares, puesto que toman agua de mar de la misma fuente. En cambio, todos los compuestos nitrogenados variaron significativamente entre el T1 y el T2 (cuadro 5), esto pudo deberse a la actividad biológica particular de cada tanque.

Cuadro 5. Promedio y desviación estándar. Nutrientes reportados para cada Tanque. El símbolo * denota diferencia estadísticamente significativa entre los tanques (p-valor= <0.05)

Variables por tanque	Fosfatos (µmol/L)	Nitratos*(µmol/L)	Nitritos*(µmol/L)	Amonio*(µmol/L)
Valores de referencia^{a, b, c, d, e, f}	0.0-0.54 0.1-2.0	<1.00 0.0-3.34	<0.5 0.003-0.15	2.0 0-0.1
T1	0.35±0.05	2.0±0.15	5.19±3.6	7.08±4.23
T2	0.39±0.08	1.61±0.38	5.34±4.15	6.34±2.87
Significancia (p-valor)	0.8439	<2.2e-16	3.378e-11	0.0001413

Referencias: a= D'Elia y Wiebe, 1990; b= Stambler *et al.*, 1991; c= Atkinson *et al.*, 1995; d= Kleypas *et al.*, 1999; e= Borneman, 2008; f= Bartlett, 2013.

5. DISCUSION

Sobrevivencia

La presente investigación corresponde a el primer ensayo de viabilidad de cultivo para dos especies de coral formadores de arrecife en Costa Rica, *Porites lobata* y *Pocillopora damicornis*, contenidas en un sistema de flujo semi-abierto, en donde las variables ambientales tuvieron un efecto sobre la sobrevivencia y el crecimiento de los organismos, indicando sensibilidad a factores bióticos y abióticos. La sobrevivencia de los fragmentos varió según la especie de coral y en dependencia del tanque en donde fueron colocados. Las tasas de sobrevivencia para ambas especies fueron consecuentes con lo reportado en otros estudios de la misma índole (Forsman et al., 2006; Pillay et al., 2012; Forsman, 2015). La muerte de fragmentos en ambas especies ocurrió durante las primeras semanas de cultivo, hecho que no sorprende puesto que el lapso posterior a la sublocación de las colonias donantes es uno de los más sensibles y vulnerables para la supervivencia de pequeños fragmentos (Shafir et al., 2006, Lizcano-Sandoval, Londoño-Cruz & Zapata, 2018), susceptibles a la depredación, sedimentación y/o enfermedades (Rinkevich, 2005; Forrester et al., 2013). Esto último fue especialmente claro en los fragmentos de *P. damicornis* en el T1, a los cuales debido a la sintomatología y a la velocidad con la que perdieron tejido, se presume sufrieron de necrosis rápida de tejido (NRT) (Luna, Biavasco & Danovaro, 2007), una enfermedad muy conocida dentro del mundo de la acuariofilia marina, y de la cual no se conoce gatillante; aunque típicamente se le asocia con estrés (Luna et al., 2007; Calfo, 2009). La alta variabilidad intraespecífica en la sobrevivencia de los corales pudo deberse a factores intrínsecos, como diferencias genéticas (en el caso de *P. damicornis*) o epigenéticas, particularidades fisiológicas, estado de salud previo, e inclusive a la zona de la colonia de donde fue extraído el fragmento (Yap, 2004; Kenkel & Matz, 2016; Tagliafico et al., 2018). En su manual recopilatorio de experimentos para corales, Barllet (2003), advierte que puede haber diferencias significativas entre especies dentro de un mismo género, e incluso entre colonias de la misma especie.

Estudios de propagación liderados por Forsman (2006; 2015) reportan tasas de sobrevivencia de entre 78-92 % y 92-99%, para fragmentos de *P. lobata* utilizando un sistema de cultivo de

flujo abierto. Para *P. damicornis*, Pillay y colaboradores (2012) reportan tasas de sobrevivencia del 100%; comparable con la sobrevivencia de los fragmentos en el T2 en esta investigación.

Para corales en cautiverio, la mortalidad suele ser producto de la herbívora incidental o la introducción de comensales no deseados a los sistemas, principalmente gasterópodos del tipo nudibranquia y caracoles del género *Drupella* (Gochfel & Aeby, 1997; Forman, 2006). Otro motivo relacionado con mortalidad potencial es el efecto indirecto de nutrientes sobre el componente biótico del sistema; Yap y colaboradores (2003) reportan, tasas de sobrevivencia para *Porites* de tan solo >20%, atribuidas a la competencia derivada de un excesivo crecimiento de macroalgas en tanques de cultivo con niveles altos de nutrientes.

Durante los 152 días que duro el ensayo experimental, no se observaron organismos comensales en ninguno de los tanques, corroborando la efectividad de los filtros biológicos, y aunque, si bien es cierto los niveles de nutrientes fueron altos, y la proliferación de macroalgas dentro de los tanques fue notaria, la limpieza frecuente de los discos de cerámica evito la posible abrasión derivada de un sobrecrecimiento algal excesivo; se debe aclarar que esto no significa, que la carga de nutrientes y su influencia sobre las macroalgas, no haya tenido un efecto sobre el crecimiento de los fragmentos.

La entrada de agua dulce a los tanques producto de la fuerte precipitación durante octubre (sumada a lo poco cubiertos que estuvieron los tanques), causo un descenso de la salinidad por debajo del cual los corales pueden morir (Hoegh-Guldberg, 1999). Kerswell y Jones (2003), reportan el blanqueamiento y muerte de fragmentos de *S.pistillata* luego de estar expuestos a niveles de salinidad de 15- 18 PSU durante 24h. Por tanto, el deceso de los corales en el T1, precedida por una pérdida de color generalizada fue producto de un choque osmótico.

Crecimiento *Porites lobata*

Fundamentalmente, el proceso de desarrollo en los corales pétreos resulta de un enhebrado de procesos endógenos fundamentales (fotosíntesis, heterotrofia y calcificación), mediados por factores exógenos, que en conjunto determinan la forma y la tasa de crecimiento de las distintas especies (Wellington & Glynn, 1983; Guzmán & Cortés, 1989; Dullo, 2005; Osinga, 2011; 2012 Clements & Hay, 2019).

Al comparar el incremento del área en esta investigación (216-277%), vemos que fue similar al aumento de 228% reportado por Forsman y colaboradores (2006), luego de 4 meses de cultivo. Pero muy inferior al incremento mensual de 357% reportado en un estudio posterior de la misma autoría (Forsman et al., 2015). Si bien es cierto, el incremento porcentual en este estudio y el reportado por Forsman y colaboradores (2006), es comparable, el patrón que condujo a ello no lo fue; de hecho, el patrón de crecimiento observado inicialmente fue muy similar al descrito en el más reciente de los dos estudios. Según reportan Forsman y colaboradores (2015), fragmentos de *P. lobata* de $\sim 1 \text{ cm}^2$ doblaron su tamaño en poco menos de 38 días, alcanzando un aumento de área final (t=205 días) de 357% a una tasa de $22 \text{ cm}^2 \text{ mes}^{-1}$; tasas similares han sido reportadas para estudios de velocidad de sanación en heridas inducidas en *Porites lutea* (Denis et al., 2011).

En el presente estudio, a los fragmentos les tomo mes y medio pasar de $\sim 1.31 \text{ cm}^2$ a 3.95 cm^2 . Sin embargo, en contraste con los estudios de Forsman, el tejido de los fragmentos de *P. lobata*, que lograron un crecimiento substancial (comparado a algunos otros que crecieron muy poco) se empezó a desprender al cabo de dos meses de iniciado el cultivo, indiferentemente del tanque que los contenía. Es este fenómeno el que se ve reflejado en los valores negativos en las tasas de crecimiento. Así, el hecho de que se registrara una mayor área para los fragmentos en el T2, no significo necesariamente que crecieran más que los del T1, sino que posiblemente se deterioraron menos, según sugiere el comportamiento general de los modelos de regresión. Posiblemente los fragmentos en el T2 fueron capaces de (1) mantener la integridad del tejido por más tiempo y/o (2) reparar el daño al ritmo al que se acumulaba (Kirkwood, 1981).

En los corales, la inversión de la energía metabólica es tamaño-dependiente, así, colonias grandes disponen su energía en procesos reproductivos, mientras colonias pequeñas la invierten en crecimiento (Sebens, 1984; Hoogeboom, 2009). La estimulación del corte durante el proceso de fragmentación fomenta la rápida extensión de tejido observada al inicio del cultivo (Forsman, 2006). Según argumentan Page, Muller y Vaughan (2018) fragmentos pequeños o micro-fragmentos ($< 3 \text{ cm}^2$) destinaron una gran parte de su energía metabólica en crecimiento somático acelerado, con tal de incrustarse rápidamente al sustrato, y aumentar sus posibilidades de sobrevivir (Brandt, 2009; Page et al., 2018).

La incapacidad de algunos fragmentos de sostener este nuevo tejido, pudo deberse a múltiples razones. Una de ellas la falta de alimento, forzando a los corales a catabolizar sus

reservas energéticas (Anthony et al., 2002; Rodrigues & Grotoli, 2007), primero lípidos y en casos extremos, tejido (Kirkwood, 1981; Gates & Edmunds, 1999). Este pudo haber sido el caso de *P. lobata*, ya que bajo condiciones de estrés esta especie no reduce la demanda metabólica, sino que se vale de su abundante reserva lipídica (Levas et al., 2013), reserva que no pudo ser reabastecida en un medio de cultivo carente de fuentes de energía exógena.

En estudios *in situ* el crecimiento, el crecimiento comúnmente se reporta como extensión longitudinal (cm) del esqueleto (e.g. tinción con alizarina) (Jiménez & Cortés, 2003; Holcom, Cohen & McCorkle, 2013), mientras que, en estudios de propagación, el crecimiento se entiende como la expansión de tejido sobre un área horizontal (cm²) (Forsman, 2015). Esto quiere decir, que, debido a la discrepancia entre magnitudes, la tasa de crecimiento en términos de área no es directamente comparable con métricas habituales usadas en campo. Una estimación aproximada para la tasa de crecimiento de *P. lobata* obtenida a través de la siguiente conversión: $\sqrt{(0.013 \text{ cm}^2 \text{ por día} \times 365 \text{ días al año} / \pi) \times 10 \text{ mm}}$; de acuerdo con Forsman, (2006) serían 12.2 mm año⁻¹. El crecimiento para esta especie, varía dependiendo de la región geográfica (Knutson et al., 1972; Glynn & Wellington, 1983), pero al igual que otras especies masivas, suele mantenerse alrededor de ~1 cm año⁻¹. Por ejemplo, Guzmán y Cortés (1989) reportan tasas de 15.3 – 19.3 mm año⁻¹ para la zona Sur del país.

El crecimiento en los tanques de cultivo, fue comparable al crecimiento en campo, pero estuvo lejos de un crecimiento verdaderamente acelerado, premisa en el que se basa la inversión en el esfuerzo de cultivo *ex situ*. Llegado este punto, se debe mencionar que los fragmentos que si lograron cubrir el disco (n=7), lo hicieron a una tasa estimada de 25.05 mm al año año⁻¹. Estos fragmentos tuvieron un buen desempeño, por lo cual —hipotéticamente hablando— hubiesen sido aprovechados durante la fase de micro-fusión colonial (ver Anexo 2), proceso en el cual varios fragmentos procedentes de la misma colonia madre se fusionan, formando una colonia adulta en muy poco tiempo (Forsman, 2015; Page et al., 2018). El rendimiento del cultivo (en términos de producción de tejido por área), calculado a partir de estos fragmentos fue de apenas un 21% (69, 75 cm² o ~10 fragmentos); poco, si se quisiera implementar una producción sostenida, en donde una parte de la cosecha se utiliza para reabastecer el siguiente ciclo de producción (Schippers et al., 2012; Leal et al., 2016).

Crecimiento *Pocillopora damicornis*

Área de fijación

El área de fijación se refiere al tejido basal incrustante, que se extiende desde un primer punto de contacto generado artificialmente sobre el sustrato, en el cual se colocó la colonia y/o fragmento de coral (Guest et al., 2011).

La velocidad con la que el coral logra fijarse al sustrato suele ser el primer cuello de botella en proyectos de restauración coralina *in situ* (Forrester et al., 2011; Guest et al., 2011). Bayraktarov y colaboradores (2016) calculan un porcentaje de sobrevivencia del 65% para distintos trasplantes a lo largo del trópico, y señalan al desprendimiento como una fuente importante de mortalidad. La tasa de fijación varía según la región, las condiciones ambientales, la metodología y las especies trabajadas (Clark & Edwards, 1995). Por ejemplo, luego de un año de monitoreo en la isla de Bali; Endo y colaboradores (2013) reportan una adhesión del 53% para colonias de *P. damicornis*, en cambio, Guzmán (1991) observa puntos de fijación en menos de 5 meses para el 100% de fragmentos de esta misma especie, colocados sobre varillas de hierro en el arrecife de la Isla del Caño.

En este caso no se encontraron diferencias significativas entre los tanques para el AF de *P. damicornis*. En promedio, a los fragmentos les tomo 70 días abarcar el 63% del área del disco; muy similar a los hallazgos de Guest y colaboradores (2011), quienes reportan extensión de tejido sobre el 66% del sustrato en 82.5 días para fragmentos de esta misma especie colocados en una laguna arrecifal. Tiempos de fijación similares (71 días) han sido reportados en laboratorio para la especie *Hydnophora rigida* (Tagliafico et al., 2018).

La disminución paulatina en la tasa de crecimiento del AF, probablemente responde al hecho de que *P. damicornis* una vez fija y estable en el sustrato, redirige su energía y reorganiza su forma hasta alcanzar la configuración de arbusto compacto que la caracteriza (Guest et al., 2011).

Área de la corona

A través del análisis de correlación se determinó que el área de la corona y el volumen comparten la misma potencia como estimadores de crecimiento, indicando también que medir la altura (necesaria para calcular el volumen) no aporta una ventaja, al menos en este nivel de análisis. El hecho de que las dos métricas siguieran siempre la misma tendencia se debe a que los corales ramificados al crecer formando ramas con un tamaño y forma similar, muestran una relación superficie/volumen relativamente constante (Bak 1976). De igual manera, es necesario mencionar que puede que, conforme el coral crece, y este alcanza cierto tamaño la métrica volumen adquiera mayor relevancia. Por ejemplo, si la pregunta de investigación se enfoca en el ensamble de la biota asociada a las colonias, en cuyo caso, el volumen sería la opción adecuada (Doszpot et al., 2019).

Debido a la prevalencia del uso de modelos basados en longitudes (cm) y áreas (cm²) en la literatura, el área de la corona resulta más apropiada en términos comparativos con trabajos afines a este, por tanto, se usará esta métrica, y no el volumen para discutir el crecimiento de *P.damicornis*.

Hecha esta salvedad. Para el momento en que los *P. damicornis* fueron colocados en los tanques de cultivo, la diferencia en el área de la corona entre los fragmentos de un tanque y el otro era de apenas 0.1 cm². Concluido el periodo de cultivo, esta diferencia había incrementado a 1.32 cm². Una posible explicación radica en que cada grupo de fragmentos presento una tasa de crecimiento particular (AC-T1 > AC-T2), consolidada desde el inicio del cultivo, la cual según el modelo de regresión se mantuvo constante en el T2, pero que decayó en los fragmentos del primer tanque; hecho que concuerda con la hipótesis propuesta por Kinzie y Sarmiento (1986) y corroborada por Osinga y colaboradores (2011) que estipula que: la tasa de crecimiento es independiente del tamaño de la colonia en *P. damicornis*, manteniéndose constante a lo largo el tiempo. En contraste con este argumento y los resultados de esta investigación, Lizcano-Sandoval, Londoño-Cruz, y Zapata (2018) objetan que la tasa de crecimiento está determinada por el tamaño del fragmento, a mayor tamaño mayor crecimiento, no obstante, estos autores comparan la tasa de crecimiento entre grupos de talla distintos, en lugar de basarse en el cambio en la tasa de crecimiento correspondiente a los fragmentos dentro de cada grupo.

El descenso en la tasa de crecimiento en los corales en el T1, pero la estabilidad y constancia en el T2, incita a la posibilidad de una tercer hipótesis, fundada en los hallazgos de Kinzie y Sarmiento (1986). Efectivamente, no solo la tasa de crecimiento de *P. damicornis* es independiente del tamaño de la colonia en un momento dado (Kinzie & Sarmiento, 1986), sino que además puede que la tasa de crecimiento se consolide como una función del tamaño inicial del fragmento y de las condiciones ambientales en ese momento. Dicha tasa, se mantiene constante a través del tiempo, independiente del cambio progresivo en el tamaño de la colonia, esto, si las condiciones ambientales son favorables; de cualquier manera, experimentos dirigidos a esclarecer la cinética del crecimiento en *P. damiacornis* proporcionarían una respuesta concreta.

Los corales del género *Pocillopora* se caracterizan por ser especies de rápido crecimiento (Schlöder & D'Croz, 2004; Muko & Iwasa, 2011). En Costa Rica existen registros de crecimiento, tanto para el sur como para el norte del país (Guzmán & Cortés, 1989; Jiménez & Cortés, 2003). En la isla del Caño, por ejemplo, se reportó un crecimiento anual de 29.8 mm año⁻¹, similar a Panamá (27.8 mm año⁻¹) y México (21.9 mm año⁻¹) (Manzello, 2010; Gómez, 2014). Para Bahía Culebra se reportan tasas de 50 mm año⁻¹, las más altas en el Pacífico Este Tropical (Jiménez & Cortés, 2003). En el Pacífico mexicano, Tortolero y colaboradores (2017;2020) reportan tasas de crecimiento para fragmentos de *P. damicornis* trasplantados directamente en el arrecife de 23,1 y 44,7 mm año⁻¹. Luego de convertir (mismo proceso aplicado anteriormente a *P. loabta*) los datos de AC, se obtiene una tasa de crecimiento de ~15.5 mm año⁻¹, baja si se compara con el crecimiento en el arrecife, pero similar, a los 13.1±15 mm año⁻¹ que reportaron Pillay y colaboradores (2012) utilizando un sistema de cultivo de flujo abierto.

Comúnmente, la tasa de crecimiento se interpreta como indicativa de las condiciones externas y su influencia sobre la colonia, sin embargo, este razonamiento supone a la tasa de crecimiento como independiente del estado base (p. ej. el tamaño inicial, reserva energética) (Osinga et al., 2012; Leal et al., 2016). En organismos modulares como los corales, los factores internos son especialmente importantes (Kinzie & Sarmiento, 1986), más aún, en iniciativas de cultivo, donde el aprovechamiento eficiente del material biológico es una prioridad (Osinga et al., 2011). Rinkevich (2000) descubrió que las ramas dicotómicas de *Stylophora pistillata* crecían más rápido que las puntas de las ramas simples, evidenciando la importancia del tipo de fragmento.

Tomando como ejemplo, a la relación entre la capacidad fotosintética y el área de la colonia. Jokiel y Morrissey (1986), proponen que en *P.damicornis*, la producción primaria neta aumenta con el área de la colonia hasta alcanzar la máxima eficiencia fotosintética, punto en el cual el área disponible para la captura de luz y el auto-sombreado entre las ramas, se equilibran (Jokiel & Morrissey, 1986; Van Woesik et al., 2012; Roth, 2014). Consideremos ahora que los fragmentos con morfología más compleja ($2 \geq$ ramas) respecto a los simples (1 rama) pudieron haber captado más luz, recordemos además que el cultivo se llevó a cabo durante la época lluviosa, lo cual implica una menor cantidad de horas luz, y una reducción en la abundancia de zooplankton (Bednarski & Morales-Ramírez, 2004). Esto último pudo haber tenido un efecto negativo generalizado, así como lo tuvo sobre el crecimiento de colonias de *P. damicornis* y *P. lobata* en el arrecife (Guzmán & Cortés, 1989; Jiménez & Cortés, 2003).

Según describe Davies (1991): una reducción del 57% en la radiación solar produciría un déficit en el presupuesto energético de *P. damicornis* y *P. lobata*, induciendo una serie de mecanismos de compensación: (1) disminución de la energía asignada a la calcificación/crecimiento (Palardy, Rodríguez y Grotoli, 2008) y/o (2) preferencia por alimentación heterotrófica y/o (3) el uso de reservas lipídicas finitas, que duran 28 días y 71 días en el caso de *P. damicornis* y *P. lobata*, respectivamente (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009).

Se sugiere entonces, que la pequeña diferencia entre el área inicial de la corona ($T1 > T2$; 0.1 cm^2), sumado a una sutil pero consistente diferencia significativa en la incidencia lumínica sobre el T1, pudieron haber tenido un efecto diferenciador, sobre el desempeño de los fragmentos (Davies, 1991; Tremblay et al., 2012; Hoogenboom et al., 2015). Es importante mencionar que las diferencias entre los parámetros de crecimiento entre individuos de la misma especie, probablemente estuvo correlacionada al medio químico de cada tanque.

Efecto tanque (factores extrínsecos)

En esta investigación se denota a él "efecto tanque" como la sinergia que emerge de la interacción entre factores físico-químicos y biológicos propios de cada tanque. Se cree, el efecto tanque fue producto de las diferencias significativas entre la temperatura y el PAR, ambas propiedades conservativas que solo pudieron variar en función de la posición de un tanque

respecto al otro. Esto a su vez, pudo haber ocasionado diferencias significativas entre variables no conservativas (p. ej. amonio pues cambia por actividad biológica) (Li et al., 2017; Silva & Fedele, 2009), y por ende el desempeño de los fragmentos en cada tanque.

Dada la multiplicidad de factores abióticos (temperatura, PAR/radiación, Kh, Ca, Mg, nutrientes) y bióticos (macroalgas) que co-ocurren en los sistemas, aislar y determinar el (los) efecto(s) de cada una de estas variables sobre el patrón de crecimiento y sobrevivencia de ambas especies, va más allá del alcance y objetivos de esta investigación. Desde luego, esto no exenta la necesidad de discutir los valores asociados a estos factores, más aún en el marco de un ensayo exploratorio como este.

A nivel macro, la intensidad lumínica afecta la productividad primaria y la biomasa de macroalgas. Una mayor cantidad de algas, significa también, una mayor liberación de amonio conforme las algas mueren y se descomponen (Astill & Lavery, 2001). En aguas naturales, la transformación de nitrógeno orgánico (muerte de las algas) a amonio, nitritos y nitratos depende de la temperatura (Beita-Sandí & Barahona-Palomo, 2011).

A nivel fisiológico, el complejo nitrógeno inorgánico disuelto o NID (NH_4^+ , NO_3^- , NO_2^-) es capaz de inducir cambios importantes sobre la bioquímica de la zooxantela (Dubinsky et al., 1990; Stambler et al., 1991; Stambler & Dubinsky, 2005), disparando procesos fisiológicos como la foto-aclimatación, y/o provocar una proliferación algal desmedida (Howells et al., 2012). A medida que la proporción de zooxantelas aumenta respecto a la biomasa animal, la contribución de fotosintatos por célula disminuye, ya que el alga los utilizaría para su propio crecimiento (Dubinsky et al., 1990; Stambler & Dubinsky, 2005); bajo estas condiciones el costo de mantener la simbiosis, supondría no una ventaja, sino una carga metabólica, sobrepasando los costos asociados a la misma, afectando la tasa de calcificación y en consecuencia el crecimiento de la colonia (Wooldridge, 2020).

Durante el periodo experimental, los valores de amonio, nitratos, nitritos y fosfato se encontraron varias unidades (~5) por encima de lo aconsejable, pudiendo haber influido negativamente en la dinámica coral-zooxantella (Bartlett, 2013). A diferencia de los compuestos nitrogenados, el fosfato no parece afectar la densidad de las zooxantelas (Muscatine & colaboradores, 1989).

Grover y colaboradores (2003), reportan que las tasas de absorción de nitrato en las zooxantelas, se elevan en condiciones bajas de amonio ($<1 \mu\text{mol L}^{-1}$) y decrecen en condiciones altas ($3-4 \mu\text{mol L}^{-1}$), similares a las reportadas en esta investigación. Así que es posible el nitrato y nitrito hayan jugado un papel secundario, habiendo influido en su mayoría sobre la proliferación de las macroalgas (Syrett, 1981) en los tanques, y no afectando directamente los corales.

El fosfato, junto con los nitratos pueden estimular el crecimiento de algas no deseadas (Hill & Knight, 1988; Pedersen & Borum, 1996; Tyrrel, 1999) sin que se note algún efecto detrimento sobre los corales. Contrario a estudios en campo en donde la exposición a niveles altos de fosfato puede afectar el crecimiento coralino. La exposición a niveles de $2 \mu\text{M}$ de fosfato por periodos prolongados redujo las tasas de calcificación en más del 50% (Kinsey y Davies 1979) en un parche de arrecife. Además, Koop y colaboradores (2001) reportan una importante mortalidad en *P. damicornis* tras un enriquecimiento a largo plazo de aproximadamente $5 \mu\text{M}$ ($0,5 \text{ ppm}$) de fosfato. El fosfato parece tener un efecto, aunque se desconoce sobre cual componente de la simbiosis coral-alga lo tiene, según demostraron Muscatine y colaboradores (1989), la exposición a fosfato inorgánico disuelto no afecta la densidad de las micro-algas.

Química del agua

En los corales pétreos, se entiende como regla general al crecimiento como una función directa de la formación del esqueleto (Krishanveni et al., 1989; Tanbutté et al., 1996; Allemand et al., 2011). Fundamentalmente, la calcificación depende de la dinámica y concentración de las distintas formas de carbono inorgánico disuelto (CID) en el agua marina, especialmente los iones de carbonato (CO_3^{2-}) (Schneider & Erez, 2006), que al reaccionar y unirse con el calcio (Ca^+) forman la aragonita, una de las dos formas cristalinas del carbonato de calcio (CaCO_3) (Courtney et al., 2017). En conjunto, las sales de calcio y magnesio, provocan la dureza del agua o Kh (Beita-Sandí & Barahona-Palomo, 2011), métrica indirecta de la capacidad buffer (alcalinidad) del medio.

No se encontró diferencia significativa en la alcalinidad entre tanques, dado que ambos tanques reciben agua marina del mismo reservorio, aunque el magnesio y el calcio si variaron

ligeramente entre ellos ($p < 0.05$), siendo menores en el T1; la diferencia en la ubicación/exposición, pudo haber influido sobre este resultado. Sin embargo, no es posible determinar de manera concluyente el porqué de esta diferencia.

Trabajos como los de Marubini y Thake (1999); y Herfort y colaboradores (2008) demostraron que la adición de bicarbonato al agua de mar aumento la tasa de calcificación en el coral *Porites porites*. En el primer estudio duplicar la concentración de HCO_3^- resulto en un aumento de casi el doble para la tasa de calcificación. En el segundo, los autores llegaron a conclusiones similares para la misma especie (*P. porites*) y para un *Acropora* sp.; además concluyen que la adición de HCO_3^- no solo afecta la tasa de calcificación, sino que también aumenta la fotosíntesis. Según las recomendaciones de Holmes-Farley (2002), niveles de Kh de entre 7-11 indican una dotación de carbonatos suficiente para el crecimiento de corales en cautiverio.

Respecto al calcio, el valor recomendado en condiciones *ex situ* ronda las 420-450 partes por millón (Holmes-Farley, 2002; Borneman, 2008). Se ha demostrado que la manipulación del Ca^{2+} genera una respuesta sobre la calcificación, y por consiguiente en el crecimiento (Gattuso et al., 1998; Marshall & Clode, 2002; Kleypas & Yates, 2009). La mayoría de investigaciones concuerdan en la existencia de un límite inferior, por debajo del cual “la calcificación decrece conforme la concentración del calcio disminuye en el agua marina” (Tambutté et al., 1996; Gattuso et al., 1998).

Investigaciones, como la de Zheng y colaboradores (2018) develan que la exposición prolongada (5-6 meses) a concentraciones de Ca^{2+} por debajo de los 200 mg/L tiene efectos negativos importantes sobre la formación del esqueleto, pero que, concentraciones de entre 300~400 mg/L, son suficientes para contrarrestar el deterioro y normalizar la tasa de calcificación en *P. damicornis* (Zheng et al., 2018). Se deduce entonces que el proceso de calcificación no se verá afectado entretanto los niveles de calcio no bajan de ~320 ppm, pero que incrementar los niveles una vez alcanzado el límite superior (~430 ppm) no con lleva ningún beneficio (Gattuso et al., 2000; Al-Horani, 2016). Las concentraciones de calcio en los tanques fueron relativamente bajas, más se mantuvieron dentro del régimen aceptable.

En condiciones naturales la concentración de Ca^{2+} es dos órdenes de magnitud mayor que la de CO_3^{2-} , por lo tanto, suele ser este último, el ion limitante (Dickson, 2010). No obstante, esto

se puede invertir en sistemas artificiales cerrados, conforme los corales crecen y consumen el Ca^{2+} del medio marino (Politi et al., 2003). El escenario descrito es poco probable dado el gran volumen, sumado al recambio de agua salada (60L/min) relativo a la cantidad de fragmentos por tanque. Por tanto, el valor de Ca^{2+} registrado en los tanques debió ser propio de la fuente de agua.

Desde la perspectiva de la acuariofilia de corales, la importancia del magnesio radica en su relación química con el calcio y el carbonato en disolución (Boyd, 2012). La presencia de magnesio previene la precipitación abiótica del carbonato de calcio (Al-Horani, 2016). De esta forma, la aragonita se mantiene en condiciones sobresaturadas, favorables para el coral. Sobre el papel fisiológico del magnesio en la formación del esqueleto. Meibom y colaboradores (2004), le atribuyen procesos relacionados al arreglo espacial de componentes estructurales importantes, como los centros de calcificación, ricos en Mg^{+2} . El valor recomendado para el mantenimiento de corales en cautiverio es de entre 1300-1400 ppm (Holmes-Farley, 2002). Al igual que el calcio y el Kh, el valor de magnesio en los tanques de cultivo se mantuvo alrededor de 1280 ppm, ligeramente por debajo de límite inferior recomendado.

6. Conclusiones

- Ambas especies presentaron altas tasas de sobrevivencia previo a la intrusión de agua dulce a uno de los sistemas de cultivo. El patrón de crecimiento vario entre e intra especies. Los valores para el crecimiento de *P. lobata* fueron similares a los reportados en el arrecife, no así para *P. damicornis*. Las tasas de crecimiento determinan en gran medida la productividad, mientras que la cinética de crecimiento determinará el tamaño ideal del organismo, maximizando la producción de coral y aumentando la rentabilidad del cultivo.
- El desempeño de las especies varió bajo las mismas condiciones de cultivo; sugiriendo que los beneficios que podría traer la técnica *ex situ* dependerán del tipo de coral que se cultive. Por ejemplo, en esta investigación, en el caso de *Porites*, el aminorar la

competencia directa al eliminar las macroalgas creciendo en los discos de cerámica, fue un factor determinante. Haría falta un análisis de costo beneficio, oportunidad y conveniencia para realmente determinar el óptimo de rentabilidad entre la relación especie y técnica de cultivo.

- El potencial de la de micro-fragmentación *ex situ*, quedo de manifiesto no solo en que permite generar una gran cantidad de pequeños fragmentos a partir de poco material base, reduciendo la necesidad de extracción de colonias naturales, sino que, además, permite obtener fragmentos de tamaño optimo (fusión/trasplante). Si bien es cierto estos fragmentos fueron minoría, esto no desacredita el esfuerzo de cultivo. Por el contrario, motiva el surgimiento de hipótesis y preguntas específicas, en pro de entender el crecimiento coralino, aspecto fundamental para la acuicultura de corales, una industria en rápido crecimiento.
- Las condiciones en los tanques de cultivo propiciaron un medio subóptimo para el crecimiento de la mayoría de fragmentos. La sumatoria de las pequeñas pero significativas diferencias entre los tanques, causo un efecto diferenciado sobre el crecimiento de cada grupo de fragmentos. Por ende, entender cuáles de los parámetros promueven altas tasas de sobrevivencia y crecimiento, es crucial para asegurar el éxito de actividades asociadas a la acuicultura coralina y a los esfuerzos de restauración *ex situ*.
- El mantenimiento de los corales requiere conocimiento especializado y diligencia considerables, particularmente en el control y manejo de los parámetros del agua y la integridad de los fragmentos.
- Debido a su naturaleza dual, los corales hermatípicos dependen de dos modos tróficos que coocurren y se complementan, la heterotrofia y la autotrófica. Estudios especie-específicos dirigidos a examinar la dinámica heterotrófica son necesarios para poder aseverar los efectos del sistema de cultivo, sin embargo, se podría hipotetizar que, si bien es cierto los filtros biológicos y el skimmer de proteínas mantuvieron el agua libre de elementos orgánicos indeseables, simultáneamente pudieron haber limitado la provisión

de zooplancton y carbono orgánico disuelto en los tanques, pudiendo haber afectado el desempeño de los corales.

7. Recomendaciones

Basado en los resultados obtenidos se recomienda:

- Replantear el diseño del sistema de cultivo (p. ej. aumentar el recambio/reducir el volumen) y optimizarlo no solamente en términos de soporte de vida, sino también para: 1) maximizar la producción de la especie objetivo, 2) usando el mínimo de espacio y recursos, 3) al mínimo costo posible, 4) determinar el tiempo necesario para que un fragmento alcance el tamaño objetivo. Una vez hecho esto y si los resultados satisfacen los criterios de cultivo, se podría implementar una producción sostenida de corales para fines varios.
- Generar una línea de investigación dedicada a la biología y cultivo de organismos coralinos y afines, de modo que el conocimiento generado sirva de insumo a la toma de decisiones para la conservación y restauración de ecosistemas coralinos
- Convenir el compromiso de personal especializado que vele por el equilibrio y el desarrollo del cultivo, además se sugiere la inclusión de controladores biológicos (caracoles, peces herbívoros) que mantendrían a raya las algas no deseadas, aliviando la carga de limpieza de los tanques.
- Realizar ensayos especie-específicos con el fin de determinar los requerimientos de cada organismo, para eventualmente lograr un sistema integral que permita el cultivo de múltiples especies, a manera de “vivero de coral”.

8. Referencias

- Ainsworth, T. D., Heron, S. F., Ortiz, J. C., Mumby, P. J., Grech, A., Ogawa, D., ... Leggat, W. (2016). Climate change disables coral bleaching protection on the Great Barrier Reef. *Science*, 352(6283), 338-342.
- Al-Horani, F. A. (2016). Physiology of skeletogenesis in scleractinian coral. *Diseases of Coral*, 1, 192-205.
- Allemand, D., Tambutté, É., Zoccola, D., & Tambutté, S. (2011). Coral calcification, cells to reefs. In Dubinsky, Z., & Stambler, N (Ed.), *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. Springer, Dordrecht, 19-150.
- Allemand, D., & Furla, P. (2018). How does an animal behave like a plant? Physiological and molecular adaptations of zooxanthellae and their hosts to symbiosis. *Comptes rendus biologies*, 341(5), 276-280.
- Allison, G. W., Lubchenco, J., & Carr, M. H. (1998). Marine reserves are necessary but not sufficient for marine conservation. *Ecological Applications*, 8(1), S79-S92.
- Anthony, K.R.N., & Fabricius, K.E., 2000. Shifting roles of heterotrophy and autotrophy in coral energetics under varying turbidity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 252, 221-253.
- Arvedlund, M., Craggs, J., & Pecorelli, J. (2003). Coral culture-possible future trends and directions. *Marine Ornamental Species: Collection, Culture, & Conservation*, 233-248.
- Astill, H., & Lavery, P. S. (2001). The dynamics of unattached benthic macroalgal accumulations in the Swan-Canning estuary. *Hydrological Processes* 15, 2387-2399.
- Atkinson, M. J., Carlson, B., & Crow, G. L. (1995). Coral growth in high-nutrient, low-pH seawater: a case study of corals cultured at the Waikiki Aquarium, Honolulu, Hawaii. *Coral Reefs*, 14(4), 215-223.
- Baird, A. H., Bhagooli, R., Ralph, P. J., & Takahashi, S. (2009). Coral bleaching: the role of the host. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(1), 16–20.
- Bak, R. (1976) The growth of coral colonies and the importance of crustose coralline algae and burrowing sponges in relation with carbonate accumulation. *Netherlands Journal of Sea Research*, 10, 285–337.
- Bartlett, T.C. 2013. Small Scale Experimental Systems for Coral Research: Considerations,

- Planning, and Recommendations. *NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS 165 and CRCP, 18*, 68pp.
- Baums, I. B., Baker, A. C., Davies, S. W., Grottoli, A. G., Kenkel, C. D., Kitchen, S. A., ... & Parkinson, J. E. (2019). Considerations for maximizing the adaptive potential of restored coral populations in the western Atlantic. *Ecological Applications*, 29(8), e01978. DOI: 10.1002/eap.1978
- Bayraktarov, E., Saunders, M. I., Abdullah, S., Mills, M., Beher, J., Possingham, H. P., Mumby, P. J & Lovelock, C. E. (2016). The cost and feasibility of marine coastal restoration. *Ecological Applications*, 26(4), 1055-1074.
- Bednarski, M., & Morales-Ramírez, A. (2004). Composition, abundance and distribution of macrozooplankton in Culebra Bay, Gulf of Papagayo, Pacific coast of Costa Rica and its value as bioindicator of pollution. *Revista de Biología Tropical*, 52 (Supplement 2), 105-119.
- Beita-Sandí, W., & Barahona-Palomo, M. (2011). Fisico-química de las aguas superficiales de la Cuenca del río Rincón, Península de Osa, Costa Rica. *Cuadernos de Investigación UNED*, 2(2), 157-179.
- Birkeland, C. (2015). Coral reefs in the Anthropocene. In C. Birkeland, *Coral Reefs in the Anthropocene*. Springer Netherlands. (pp. 1-15).
- Bongiorni, L., Shafir, S., Angel, D., & Rinkevich, B. (2003). Survival, growth and gonad development of two hermatypic corals subjected to in situ fish-farm nutrient enrichment. *Marine Ecology Progress Series*, 253, 137-144.
- Bongiorni, L., Giovanelli, D., Rinkevich, B., Pusceddu, A., Chou, L. M., & Danovaro, R. (2011). First step in the restoration of a highly degraded coral reef (Singapore) by in situ coral intensive farming. *Aquaculture*, 322, 191-200.
- Borneman, E. (2008). Introduction to the husbandry of corals in aquariums: A review. *Public Aquarium Husbandry Series*, 2, 3-14.
- Boyd, V. (2012). *The effect of calcium and magnesium on carbonate mineral precipitation during reactive transport in a model subsurface pore structure*. (Tesis de Maestría). Universidad de Illinois, Illinois, Estados Unidos.
- Brandt, M. E. (2009). The effect of species and colony size on the bleaching response of reef-building corals in the Florida Keys during the 2005 mass bleaching event. *Coral Reefs*,

28(4), 911-924.

- Brandl, S. J., Rasher, D. B., Côté, I. M., Casey, J. M., Darling, E. S., Lefcheck, J. S., & Duffy, J. E. (2019). Coral reef ecosystem functioning: eight core processes and the role of biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 17(8), 445-454.
- Bruno, J. F., & Selig, E. R. (2007). Regional decline of coral cover in the Indo-Pacific: Timing, extent, and subregional comparisons. *PLoS ONE*, 2(8).
- Bruno, J. F., Côté, I. M., & Toth, L. T. (2019). Climate change, coral loss, and the curious case of the parrotfish paradigm: Why don't marine protected areas improve reef resilience?. *Annual review of marine science*, 11, 307-334.
- Calfo, A. (2009). Book of Coral Propagation: Reef Gardening for Aquarists. In Williams, C (Ed.), *A Concise Guide to the Successful Care and Culture of Coral Reef Invertebrates*. Reading Trees Publications, 1(2), 416p.
- Cañizares Macías, M. D. P. (2002). Análisis por inyección en flujo: herramienta clave para la automatización analítica. *Revista de la Sociedad Química de México*, 46(2), 167-174.
- Carpenter, K. E., Abrar, M., Aeby, G., Aronson, R. B., Banks, S., Bruckner, A., ... & Wood, E. (2008). One-third of reef-building corals face elevated extinction risk from climate change and local impacts. *Science*, 321: 560-563.
- Clark, S., & Edwards, A. J. (1995). Coral transplantation as an aid to reef rehabilitation: evaluation of a case study in the Maldive Islands. *Coral Reefs*, 14(4), 201-213.
- Clements, C. S., & Hay, M. E. (2019). Biodiversity enhances coral growth, tissue survivorship and suppression of macroalgae. *Nature Ecology & Evolution*, 3(2), 178-182.
- Clewell, A., Aronson, J., & Winterhalder, K. (2006). Principios de SER International sobre la Restauración Ecológica. https://c.ymcdn.com/sites/www.ser.org/resource/resmgr/custompages/publications/SER_Primer/ser-primer-spanish.pdf
- Cortés, J. (2003). Coral reefs of the Americas: An introduction to Latin American Coral Reefs. In J. Cortés (Ed.), *Latin American Coral Reefs* (pp. 1–7). Amsterdam: Elsevier
- Cortés, J. 2009. Stony corals. Text: Chapter IV, Part 11, Pp. 169-173, Species List: Compact Disc Pp. 112-118. In I. S. Wehrtmann & J. Cortés (Eds.). *Marine Biodiversity of Costa Rica, Central America*. Springer & Business Media B.V., Berlin.
- Cortés, J., Jiménez, C. E., Fonseca, A. C., & Alvarado, J. J. (2010). Status and conservation of coral reefs in Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 58, 33-50.

- Cortés, J. 2016. The Pacific coastal and marine ecosystems, Pp. 97-138. In M. Kappelle (Ed.). *Costa Rican Ecosystems*. University of Chicago Press, Chicago and London.
- Cortés, J., & Guzmán, H. (1998). Organismos de los arrecifes coralinos de Costa Rica: Descripción, distribución geográfica e historia natural de los corales zooxantelados (Anthozoa: Scleractinia) del Pacífico. *Revista de Biología Tropical*, 46(1), 55-92.
- Cortés, J. & C. Jiménez. 2003. Corals and coral reefs of the Pacific of Costa Rica: history, research and status: 361-385. In J. Cortés (Ed.), *Latin American Coral Reefs*. Elsevier Science B.V., Amsterdam.
- Cortés, J., Macintyre, I. G., & Glynn, P. W. (1994). Holocene growth history of an Eastern Pacific fringing-reef, Punta Islotes, Costa-Rica. *Coral Reefs*, 13(2), 65–73.
- Costa, M. B. S. F., Araújo, M., Araújo, T. C. M., & Siegle, E. (2016). Influence of reef geometry on wave attenuation on a Brazilian coral reef. *Geomorphology*, 253, 318–327.
- Courtney, T. A., Lebrato, M., Bates, N. R., Collins, A., De Putron, S. J., Garley, R., ... & Andersson, A. J. (2017). Environmental controls on modern scleractinian coral and reef-scale calcification. *Science Advances*, 3(11), e1701356. DOI: 10.1126/sciadv.1701356
- Cuartas, J. P., Cuartas, L. D., & Ruales, C. A. D. (2014). Evaluación experimental del crecimiento de las especies *Stylophora* sp. y *Acropora millepora* (corales duros) en un sistema con recirculación. *Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 2(2), 24-33.
- Davies, P. S. (1984). The role of zooxanthellae in the nutritional energy requirements of *Pocillopora eydouxi*. *Coral Reefs*, 2(4), 181–186.
- Davies, P. S. (1991). Effect of daylight variations on the energy budgets of shallow-water corals. *Marine Biology*, 108(1), 137-144.
- D'Elia, C. F., & Wiebe, W. J. (1990). Biogeochemical nutrient cycles in coral-reef ecosystems. En: *Dubinsky, Z. (Ed.), Ecosystems of the World 25: Coral Reefs*. Elsevier, New York, 49-74.
- Denis, V., Debreuil, J., De Palmas, S., Richard, J., Guillaume, M. M., & Bruggemann, J. H. (2011). Lesion regeneration capacities in populations of the massive coral *Porites lutea* at Réunion Island: environmental correlates. *Marine Ecology Progress Series*, 428, 105-117.
- Dickson, A. G. (2010). The carbon dioxide system in seawater: equilibrium chemistry and measurements. In Riebesell, U., Fabry, V.F., Hansson, L., & Gattuso, J (Ed.), *Guide to Best Practices for Ocean Acidification Research and Data Reporting*: European Commission, Publications Office of the European Union, 1, 17-40.

- Doszpot, N. E., McWilliam, M. J., Pratchett, M. S., Hoey, A. S., & Figueira, W. F. (2019). Plasticity in three-dimensional geometry of branching corals along a cross-shelf gradient. *Diversity*, *11*(3), 44.
- Dubinsky, Z., Stambler, N., Ben-Zion, M., McCloskey, L. R., Muscatine, L., & Falkowski, P. G. (1990). The effect of external nutrient resources on the optical properties and photosynthetic efficiency of *Stylophora pistillata*. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, *239*(1295), 231-246.
- Dullo, W. C. (2005). Coral growth and reef growth: a brief review. *Facies*, *51*(1-4), 33-48.
- Ampou, E. E., Johan, O., Menkes, C. E., Niño, F., Birol, F., Ouillon, S., & Andréfouët, S. (2017). Coral mortality induced by the 2015-2016 El-Niño in Indonesia: the effect of rapid sea level fall. *Biogeosciences*, *14*(4), 817-826.
- Endo, S., Prasetyo, R., & Onaka, S. (2013). Study on attachment methods, retention and growth of transplanting coral. *Galaxea, Journal of Coral Reef Studies*, *15*(Supplement), 330-335.
- Instituto Meteorológico Nacional. 2018. Boletín Meteorológico Mensual (ISSN 1654-0465), Octubre de 2018. Ministerio de Ambiente, Energía y Telecomunicaciones, San José, Costa Rica, pp. 10-46.
- Anthony, K. R., Connolly, S. R., & Willis, B. L. (2002). Comparative analysis of energy allocation to tissue and skeletal growth in corals. *Limnology and Oceanography*, *47*(5), 1417-1429.
- Epstein, N., Bak, R. P. M., & Rinkevich, B. (2003). Applying forest restoration principles to coral reef rehabilitation. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, *13*(5), 387-395.
- Fitt, W. K., Brown, B. E., Warner, M. E., & Dunne, R. P. (2001). Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral Reefs*, *20*(1), 51-65.
- Forrester, G. E., O'Connell-Rodwell, C., Baily, P., Forrester, L. M., Giovannini, S., Harmon, L., Karis, R., Krumholz, J., Rodwell, T., Jarecki, L & Jarecki, L. (2011). Evaluating methods for transplanting endangered elkhorn corals in the Virgin Islands. *Restoration Ecology*, *19*(3), 299-306.
- Forrester, G., Dauksis, R., & Ferguson, M. (2013). Should coral fragments collected for restoration be subdivided to create more, smaller pieces for transplanting? *Ecological*

Restoration, 31(1), 4-7.

- Forsman, Z. H., Rinkevich, B., & Hunter, C. L. (2006). Investigating fragment size for culturing reef-building corals (*Porites lobata* and *P. compressa*) in ex situ nurseries. *Aquaculture*, 261(1), 89–97.
- Forsman, Z. H., Page, C. A., Toonen, R. J., & Vaughan, D. (2015). Growing coral larger and faster: micro-colony-fusion as a strategy for accelerating coral cover. *PeerJ*, 3,e1313. DOI: 10.7717/peerj.1313.
- Furla, P., Galgani, I., Durand, I., & Allemand, D. E. N. I. S. (2000). Sources and mechanisms of inorganic carbon transport for coral calcification and photosynthesis. *Journal of Experimental Biology*, 203(22), 3445-3457.
- Gates, R. D., & Edmunds, P. J. (1999). The physiological mechanisms of acclimatization in tropical reef corals. *American Zoologist*, 39(1), 30-43.
- Gattuso, J. P., Frankignoulle, M., Bourge, I., Romaine, S., & Buddemeier, R. W. (1998). Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification. *Global and Planetary Change*, 18(1-2), 37-46.
- Gattuso, J. P., Reynaud-Vaganay, S., Furla, P., Romaine-Lioud, S., Jaubert, J., Bourge, I., & Frankignoulle, M. (2000). Calcification does not stimulate photosynthesis in the zooxanthellate scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography*, 45(1), 246-250.
- Gill, D. A., Mascia, M. B., Ahmadi, G. N., Glew, L., Lester, S. E., Barnes, M., ... & Fox, H. E. (2017). Capacity shortfalls hinder the performance of marine protected areas globally. *Nature*, 543(7647), 665-669.
- Glynn, P. W., & Wellington, G. M. (1983). *Corals and Coral Reefs of the Galápagos Islands*. University of California Press, Berkeley, 330 pp.
- Glynn, P. W., Alvarado, J. J., Banks, S., Cortés, J., Feingold, J. S., Jiménez, C., ... & Navarrete, S. (2017). Eastern Pacific coral reef provinces, coral community structure and composition: an overview. In P.W. Glynn, D. Manzello & I. Enochs. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment* (pp. 107-176). Springer, Netherlands.
- Gochfeld, D. J., & Aeby, G. S. (1997). Control of populations of the coral-feeding nudibranch

- Phestilla sibogae* by fish and crustacean predators. *Marine Biology*, 130(1), 63-69.
- Gómez P. P (2014). *Tasas de crecimiento de Pocillopora verrucosa, P. damicornis y P. capitata en Isla Isabel, Nayarit: comparación intra-anual y entre sustratos natural y artificial* (Tesis de Licenciatura). Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México.
- Grover, R., Maguer, J. F., Allemand, D., & Ferrier-Pages, C. (2003). Nitrate uptake in the scleractinian coral *Stylophora pistillata*. *Limnology and Oceanography*, 48(6), 2266-2274.
- Guest, J. R., Dizon, R. M., Edwards, A. J., Franco, C., & Gomez, E. D. (2011). How quickly do fragments of coral “self-attach” after transplantation? *Restoration Ecology*, 19(2), 234-242.
- Guzman, H. M., & Cortés, J. (1989). Growth rates of eight species of scleractinian corals in the eastern Pacific (Costa Rica). *Bulletin of Marine Science*, 44(3), 1186-1194.
- Guzmán, H., & Cortés, J. (1993). Arrecifes coralinos del Pacífico Oriental Tropical: Revisión y perspectivas. *Revista de Biología Tropical*, 41(3), 535–557.
- Herfort, L., Thake, B., & Taubner, I. (2008). Bicarbonate stimulation of calcification and photosynthesis in two hermatypic corals. *Journal of Phycology*, 44(1), 91-98.
- Hill, W. R., & Knight, A. W. (1988). Nutrient and light limitation of algae in two northern California streams. *Journal of Phycology*, 24(2), 125-132.
- Hixon, M. A. (2015). Reef fishes, seaweeds, and corals. In C. Birkeland, *Coral Reefs in the Anthropocene* (pp. 195-215). Netherlands: Springer.
- Hobbs, R. J., & Harris, J. A. (2001). Restoration ecology: repairing the earth's ecosystems in the new millennium. *Restoration Ecology*, 9(2), 239-246.
- Hoegh-Guldberg, O. (1999). Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and freshwater research*, 50(8), 839-866.
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., ... & Hatziolos, M. E. (2007). Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318(5857), 1737-1742.
- Hoegh-Guldberg, O. (2011). Coral reef ecosystems and anthropogenic climate change. *Regional Environmental Change*, 11(1), 215-227.
- Hoegh-Guldberg, O. (2014). Coral reefs in the Anthropocene: persistence or the end of the line? *Geological Society, London, Special Publications*, 395(1), 167-183.
- Hoegh-Guldberg, O., Poloczanska, E. S., Skirving, W., & Dove, S. (2017). Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Frontiers in Marine Science*, 4,

- Holcomb, M., Cohen, A. L., & McCorkle, D. C. (2013). An evaluation of staining techniques for marking daily growth in scleractinian corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 440, 126-131.
- Holmes-Farley, R. (2002) "Aquarium Chemistry: The Chemical and Biochemical Mechanisms of Calcification." Advanced Aquarist. Recuperado el 23 de octubre de 2020, de <https://reefs.com/magazine/aquarium-chemistry-the-chemical-and-biochemical-mechanisms-of-calcification>
- Hoogenboom, M. O., & Connolly, S. R. (2009). Defining fundamental niche dimensions of corals: synergistic effects of colony size, light, and flow. *Ecology*, 90(3), 767-780.
- Hoogenboom, M., Rottier, C., Sikorski, S., & Ferrier-Pagès, C. (2015). Among-species variation in the energy budgets of reef-building corals: scaling from coral polyps to communities. *Journal of Experimental Biology*, 218(24), 3866-3877.
- Houlbrèque, F., & Ferrier-Pagès, C. (2009). Heterotrophy in tropical scleractinian corals. *Biological Reviews*, 84(1), 1-17.
- Howells, E. J., Beltran, V. H., Larsen, N. W., Bay, L. K., Willis, B. L., & Van Oppen, M. J. H. (2012). Coral thermal tolerance shaped by local adaptation of photosymbionts. *Nature Climate Change*, 2(2), 116-120.
- Huang, Y. L., Mayfield, A. B., & Fan, T. Y. (2020). Effects of feeding on the physiological performance of the stony coral *Pocillopora acuta*. *Scientific Reports*, 10(1), 1-12.
- Hughes, T. P., Baird, A. H., Bellwood, D. R., Card, M., Connolly, S. R., Folke, C., ... & Lough, J. M. (2003). Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs. *Science*, 301(5635), 929-933.
- Hughes, T. P., Kerry, J. T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J. G., Anderson, K. D., Baird, A. H., ... & Bridge, T. C. (2017). Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*, 543(7645), 373-377.
- Jiménez, C. (2001). Arrecifes y ambientes coralinos de Bahía Culebra, Pacífico de Costa Rica: Aspectos biológicos, económico-recreativos y de manejo. *Revista de Biología Tropical*, 49(Supplement 2), 215-231.
- Jiménez, C., & Cortés, J. (2003). Growth of seven species of scleractinian corals in an upwelling environment of the eastern Pacific (Golfo de Papagayo, Costa Rica). *Bulletin of Marine*

- Science*, 72(1), 187-198.
- Jiménez, C., Bassey, G., Segura, A., & Cortés, J. (2010). Characterization of the coral communities and reefs of two previously undescribed locations in the upwelling region of Gulf of Papagayo (Costa Rica). *Revista Ciencias Marinas y Costeras*, 2, 95–108.
- Jokiel, P. L., & Morrissey, J. I. (1986). Influence of size on primary production in the reef coral *Pocillopora damicornis* and the macroalga *Acanthophora spicifera*. *Marine Biology*, 91(1), 15-26.
- Kenkel, C. D., & Matz, M. V. (2016). Gene expression plasticity as a mechanism of coral adaptation to a variable environment. *Nature Ecology & Evolution*, 1(1), 1-6.
- Kerswell, A. P., & Jones, R. J. (2003). Effects of hypo-osmosis on the coral *Stylophora pistillata*: nature and cause of low-salinity bleaching. *Marine Ecology Progress Series*, 253, 145-154.
- Khalesi, M. K., Beeftink, H. H., & Wijffels, R. H. (2009). Light-dependency of growth and secondary metabolite production in the captive zooxanthellate soft coral *Sinularia flexibilis*. *Marine Biotechnology*, 11(4), 488–494.
- Kinsey, D. W., & Davies, P. J. (1979). Effects of elevated nitrogen and phosphorus on coral reef growth. *Limnology and Oceanography*, 24(5), 935-940.
- Kinzie, R. A., & Sarmiento, T. (1986). Linear extension rate is independent of colony size in the coral *Pocillopora damicornis*. *Coral Reefs*, 4(3), 177-181.
- Kirkwood, T. B. L. (1981). Repair and its evolution: survival versus reproduction. In C. R. Townsend & P. Calow (Ed), *Physiological Ecology: An Evolutionary Approach to Resource Use*. (pp.165-189). Oxford: Blackwell Scientific Publications
- Kleypas, J. A., & Yates, K. K. (2009). Coral reefs and ocean acidification. *Oceanography*, 22(4), 108-117.
- Kleypas, J. A., McManus, J. W., & Menez, L. A. (1999). Environmental limits to coral reef development: where do we draw the line? *American Zoologist*, 39(1), 146-159.
- Knutson, D. W., Buddemeier, R. W., & Smith, S. V. (1972). Coral chronometers: seasonal growth bands in reef corals. *Science*, 177(4045), 270-272.
- Koop, K., Booth, D., Broadbent, A., Brodie, J., Bucher, D., Capone, D., ... & Yellowlees, D. (2001). ENCORE: the effect of nutrient enrichment on coral reefs. Synthesis of results and conclusions. *Marine Pollution Bulletin*, 42(2), 91-120.
- Krishnaveni, P., Chou, L.M., Ip, Y.K., (1989). Deposition of calcium ($^{45}\text{Ca}^{2+}$) in the coral

- Galaxea fascicularis*. *Comparative Biochemistry and Physiology*. 94(3), 509–513.
- Kwiatkowski, L., Cox, P., Halloran, P. R., Mumby, P. J., & Wiltshire, A. J. (2015). Coral bleaching under unconventional scenarios of climate warming and ocean acidification. *Nature Climate Change*, 5(8), 777–781.
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*, 28(16), 2570-2580.
- Leal, M. C., Ferrier-Pagès, C., Petersen, D., & Osinga, R. (2016). Coral aquaculture: applying scientific knowledge to ex situ production. *Reviews in Aquaculture*, 8(2), 136-153.
- Leal, M. C., Nejstgaard, J. C., Calado, R., Thompson, M. E., & Frischer, M. E. (2014). Molecular assessment of heterotrophy and prey digestion in zooxanthellate cnidarians. *Molecular Ecology*, 23, 3838–3848.
- Lee, E.T., (1992). Nonparametric methods of estimating survival functions. In: Lee, E.T. (Ed.), *Statistical Methods for Survival Analysis*. Wiley, New York, pp. 66-130.
- Levas, S. J., Grottoli, A. G., Hughes, A., Osburn, C. L., & Matsui, Y. (2013). Physiological and biogeochemical traits of bleaching and recovery in the mounding species of coral *Porites lobata*: implications for resilience in mounding corals. *PLoS ONE*, 8(5), e63267. DOI: 10.1371/journal.pone.0063267.
- Li, Y., Zheng, X., Yang, X., Ou, D., Lin, R., & Liu, X. (2017). Effects of live rock on removal of dissolved inorganic nitrogen in coral aquaria. *Acta Oceanologica Sinica*, 36(12), 87-94.
- Lizcano-Sandoval, L. D., Londoño-Cruz, E., & Zapata, F. A. (2018). Growth and survival of *Pocillopora damicornis* (Scleractinia: Pocilloporidae) coral fragments and their potential for coral reef restoration in the Tropical Eastern Pacific. *Marine Biology Research*, 14(8), 887-897.
- Luna, G. M., Biavasco, F., & Danovaro, R. (2007). Bacteria associated with the rapid tissue necrosis of stony corals. *Environmental Microbiology*, 9(7), 1851-1857.
- Manzello, D. P. (2010). Coral growth with thermal stress and ocean acidification: lessons from the eastern tropical Pacific. *Coral Reefs*, 29(3), 749-758.
- Marshall, A. T., & Clode, P. L. (2002). Effect of increased calcium concentration in sea water on calcification and photosynthesis in the scleractinian coral *Galaxea fascicularis*. *Journal of Experimental Biology*, 205(14), 2107-2113.

- Marubini, F., & Thake, B. (1999). Bicarbonate addition promotes coral growth. *Limnology and Oceanography*, 44(3), 716-720.
- Meibom, A., Cuif, J. P., Hillion, F., Constantz, B. R., Juillet-Leclerc, A., Dauphin, Y., ... & Dunbar, R. B. (2004). Distribution of magnesium in coral skeleton. *Geophysical Research Letters*, 31(23). DOI: 10.1029/2004GL021313.
- Méndez, M. (2014). *Estado de conservación del arrecife coralino de playa Blanca (Matapalo), uno de los arrecifes más extensos de la costa Pacífica de Costa Rica* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica.
- Muko, S., & Iwasa, Y. (2011). Long-term effect of coral transplantation: Restoration goals and the choice of species. *Journal of Theoretical Biology*, 280(1), 127-138.
- Muller-Parker, G., D'elia, C. F., & Cook, C. B. (2015). Interactions between corals and their symbiotic algae. In C. Birkeland, *Coral Reefs in the Anthropocene* (pp. 99-116). Netherlands: Springer.
- Muscantine, L., Falkowski, P. G., Dubinsky, Z., Cook, P. A., & McCloskey, L. R. (1989). The effect of external nutrient resources on the population dynamics of zooxanthellae in a reef coral. *Proceedings of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 236(1284), 311-324.
- Normile, D. (2011). U.N. biodiversity summit yields welcome and unexpected progress. *Science*, 331(6016), 400.
- Osinga, R., Schutter, M., Griffioen, B., Wijffels, R. H., Verreth, J. A., Shafir, S., ... & Lavorano, S. (2011). The biology and economics of coral growth. *Marine Biotechnology*, 13(4), 658-671.
- Osinga, R., Schutter, M., Wijgerde, T., Rinkevich, B., Shafir, S., Shpigel, M., ... & Kuecken, M. (2012). The CORALZOO project: a synopsis of four years of public aquarium science. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 92(4), 753-768.
- Page, C. A., Muller, E. M., & Vaughan, D. E. (2018). Microfragmenting for the successful restoration of slow growing massive corals. *Ecological Engineering*, 123, 86-94.
- Palardy, J. E., Rodríguez, L. J., & Grottoli, A. G. (2008). The importance of zooplankton to the daily metabolic carbon requirements of healthy and bleached corals at two depths. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367(2), 180-188.

- Parnell, P. E., Lennert-Cody, C. E., Geelen, L., Stanely, L. D., & Dayton, P. K. (2005). Effectiveness of a small marine reserve in Southern California. *Marine Ecology Progress Series*, 296, 39–52.
- Pedersen, M. F., & Borum, J. (1996). Nutrient control of algal growth in estuarine waters. Nutrient limitation and the importance of nitrogen requirements and nitrogen storage among phytoplankton and species of macroalgae. *Marine Ecology Progress Series*, 142, 261-272.
- Pillay, R. M., Gian, S. B., Bhojroo, V., & Curpen, S. (2012). Adapting coral culture to climate change: The Mauritian experience. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*, 10(2), 155-167.
- Politi, Y., Batchelor, D. R., Zaslansky, P., Chmelka, B. F., Weaver, J. C., Sagi, I., ... & Addadi, L. (2003). Role of magnesium ion in the stabilization of biogenic amorphous calcium carbonate: A structure-function investigation. *Growth*, 254, 206-218.
- Precht, W. F. (2005). *Coral Reef Restoration Handbook*. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA.
- Rinkevich, B. (1995). Restoration strategies for coral reefs damaged by recreational activities: the use of sexual and asexual recruits. *Restoration Ecology*, 3(4), 241-251.
- Rinkevich, B. (2000). Steps towards the evaluation of coral reef restoration by using small branch fragments. *Marine Biology*, 136(5), 807-812.
- Rinkevich, B. (2005). Conservation of coral reefs through active restoration measures: Recent approaches and last decade progress. *Environmental Science & Technology*, 39(12), 4333-4342.
- Rinkevich, B. (2008). Management of coral reefs: We have gone wrong when neglecting active reef restoration. *Marine Pollution Bulletin*, 56(11), 1821–1824.
- Rinkevich, B. (2015). Climate change and active reef restoration-Ways of constructing the “Reefs of Tomorrow.” *Journal of Marine Science and Engineering*, 3(1), 111–127.
- Rocha, R. J., Pimentel, T., Serôdio, J., Rosa, R., & Calado, R. (2013). Comparative performance of light emitting plasma (LEP) and light emitting diode (LED) in ex situ aquaculture of scleractinian corals. *Aquaculture*, 402, 38-45.
- Rodrigues, L. J., & Grottoli, A. G. (2007). Energy reserves and metabolism as indicators of coral recovery from bleaching. *Limnology and Oceanography*, 52(5), 1874-1882.
- Roth, F., Stuhldreier, I., Sánchez-Noguera, C., Morales-Ramírez, Á., & Wild, C. (2015). Effects of simulated overfishing on the succession of benthic algae and invertebrates in an

- upwelling-influenced coral reef of Pacific Costa Rica. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 468, 55-66.
- Roth, M. S. (2014). The engine of the reef: photobiology of the coral–algal symbiosis. *Frontiers in Microbiology*, 5, 422. DOI: 10.3389/fmicb.2014.00422.
- Salinas-Akhmadeeva, I. A. (2018). Relación entre la talla de colonias coralinas y la diversidad de peces, como guía para la restauración de arrecifes. (Tesis de Licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán.
- Schippers, K. J., Sipkema, D., Osinga, R., Smidt, H., Pomponi, S. A., Martens, D. E., & Wijffels, R. H. (2012). Cultivation of sponges, sponge cells and symbionts: achievements and future prospects. *Advances in marine biology*, 62, 273-337.
- Schlöder, C., & D'Croz, L. (2004). Responses of massive and branching coral species to the combined effects of water temperature and nitrate enrichment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 313(2), 255-268.
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). Historical commentary NIH Image to ImageJ : 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671–675.
- Schneider, K., & Erez, J. (2006). The effect of carbonate chemistry on calcification and photosynthesis in the hermatypic coral *Acropora eurystoma*. *Limnology and Oceanography*, 51(3), 1284-1293.
- Sebens, K. P. (1984). Water flow and coral colony size: interhabitat comparisons of the octocoral *Alcyonium siderium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 81(17), 5473-5477.
- Shafir, S., Van Rijn, J., & Rinkevich, B. (2001). Nubbing of coral colonies: A novel approach for the development of inland broodstocks. *Aquarium Sciences and Conservation*, 3(1–3), 183–190.
- Shaish, L., Levy, G., Gomez, E., & Rinkevich, B. (2008). Fixed and suspended coral nurseries in the Philippines: Establishing the first step in the “gardening concept” of reef restoration. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 358(1), 86–97.
- Silva, N., Rojas, N., & Fedele, A. (2009). Water masses in the Humboldt Current System: Properties, distribution, and the nitrate deficit as a chemical water mass tracer for Equatorial Subsurface Water off Chile. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 56(16), 1004-1020.
- Smith, D. J., Suggett, D. J., & Baker, N. R. (2005). Is photoinhibition of zooxanthellae

- photosynthesis the primary cause of thermal bleaching in corals? *Global Change Biology*, *11*(1), 1-11.
- Spalding, M. D., & Brown, B. E. (2015). Warm-water coral reefs and climate change. *Science*, *350*(6262), 769-771.
- Stambler, N., & Dubinsky, Z. (2005). Corals as light collectors: an integrating sphere approach. *Coral Reefs*, *24*(1), 1-9.
- Stambler, N., Popper, N., Dubinsky, Z. V. Y., & Stimson, J. (1991). Effects of nutrient enrichment and water motion on the coral *Pocillopora damicornis*. *Pacific Science*, *45*(3), 299-307.
- Stuart-Smith, R. D., Brown, C. J., Ceccarelli, D. M., & Edgar, G. J. (2018). Ecosystem restructuring along the Great Barrier Reef following mass coral bleaching. *Nature*, *560*(7716), 92-96.
- Suchley, A., & Alvarez-Filip, L. (2018). Local human activities limit marine protection efficacy on Caribbean coral reefs. *Conservation Letters*, *11*(5), e12571.
- Syrett, P. J. (1981). Nitrogen metabolism of microalgae. Physiological bases of phytoplankton ecology. *Canadian Bulletin of Fisheries and Aquatic Sciences*, *210*, 182-210.
- Tagliafico, A., Rangel, S., Christidis, L., & Kelaher, B. P. (2018). A potential method for improving coral self-attachment. *Restoration Ecology*, *26*(6), 1082-1090.
- Tanbutté, É., Allemand, D., Mueller, E. R. I. C. H., & Jaubert, J. E. A. N. (1996). A compartmental approach to the mechanism of calcification in hermatypic corals. *Journal of Experimental Biology*, *199*(5), 1029-1041.
- Toh, T. C., Ng, C. S. L., Guest, J., & Chou, L. M. (2013). Grazers improve health of coral juveniles in ex situ mariculture. *Aquaculture*, *414*, 288-293.
- Toh, T. C., Ng, C. S. L., Peh, J. W. K., Toh, K. Ben, & Chou, L. M. (2014). Augmenting the post-transplantation growth and survivorship of juvenile scleractinian corals via nutritional enhancement. *PLoS ONE*, *9*(6). DOI: 10.1371/journal.pone.0098529.
- Tortolero-Langarica, J. A., Rodríguez-Troncoso, A. P., Cupul-Magaña, A. L., Alarcón-Ortega, L. C., & Santiago-Valentín, J. D. (2019). Accelerated recovery of calcium carbonate production in coral reefs using low-tech ecological restoration. *Ecological Engineering*, *128*, 89-97.
- Tortolero-Langarica, J. J., Rodríguez-Troncoso, A. P., Cupul-Magaña, A. L., & Rinkevich, B.

- (2020). Micro-fragmentation as an effective and applied tool to restore remote reefs in the eastern tropical Pacific. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(18), 6574.
- Tremblay, P., Grover, R., Maguer, J. F., Legendre, L., & Ferrier-Pagès, C. (2012). Autotrophic carbon budget in coral tissue: a new ^{13}C -based model of photosynthate translocation. *Journal of Experimental Biology*, 215(8), 1384-1393.
- Tresguerres, M., Barott, K. L., Barron, M. E., Deheyn, D. D., Kline, D. I., & Linsmayer, L. B. (2017). Cell biology of reef-building corals: ion transport, acid/base regulation, and energy metabolism. In Weihrauch, D., & O'Donnell, M (Ed.), *Acid-Base Balance and Nitrogen Excretion in Invertebrates*, Springer, Switzerland, 193-218.
- Tyrrell, T. (1999). The relative influences of nitrogen and phosphorus on oceanic primary production. *Nature*, 400(6744), 525-531.
- Van Woesik, R., Irikawa, A., Anzai, R., & Nakamura, T. (2012). Effects of coral colony morphologies on mass transfer and susceptibility to thermal stress. *Coral Reefs*, 31(3), 633-639.
- Van Oppen, M. J., Gates, R. D., Blackall, L. L., Cantin, N., Chakravarti, L. J., Chan, W. Y., ... & Putnam, H. M. (2017). Shifting paradigms in restoration of the world's coral reefs. *Global change biology*, 23(9), 3437-3448.
- Veron JEN (1995) *Corals in Space and Time: Biogeography and Evolution of the Scleractinia*. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Voss, J. D. y L. L. Richardson (2006). Nutrient enrichment enhances black band disease progression in corals. *Coral Reefs*, 25, 569-576.
- Wellington, G. M., & Glynn, P. W. (1983). Environmental influences on skeletal banding in eastern Pacific (Panama) corals. *Coral Reefs*, 1(4), 215-222.
- Woodhead, A. J., Hicks, C. C., Norström, A. V., Williams, G. J., & Graham, N. A. (2019). Coral reef ecosystem services in the Anthropocene. *Functional Ecology*, 33(6), 1023-1034.
- Wooldridge, S. A. (2020). Excess seawater nutrients, enlarged algal symbiont densities and bleaching sensitive reef locations: 1. Identifying thresholds of concern for the Great Barrier Reef, Australia. *Marine Pollution Bulletin*, 152, 107667.
- Yap, H. T. (2004). Differential survival of coral transplants on various substrates under elevated water temperatures. *Marine Pollution Bulletin*, 49(4), 306-312.

- Yap, H. T., & Molina, R. A. (2003). Comparison of coral growth and survival under enclosed, semi-natural conditions and in the field. *Marine Pollution Bulletin*, 46(7), 858-864.
- Young, C. N., Schopmeyer, S. A., & Lirman, D. (2012). A review of reef restoration and coral propagation using the threatened genus *Acropora* in the Caribbean and Western Atlantic. *Bulletin of Marine Science*, 88(4), 1075-1098.
- Zheng, X., Li, Y., Chen, S., & Lin, R. (2018). Effects of calcium ion concentration on calcification rates of six stony corals: A mesocosm study. *Aquaculture*, 497, 246-252.

9. Anexos

Anexo 1. Pruebas químicas para calcio, magnesio y alcalinidad marca Aquaforest® y sensor de temperatura HOBO Pro v2



Anexo 2. Fragmentos de *Porites lobata* “óptimos” para micro-fusión



Anexo 3. Valor mensual de los parámetros físico-químicos por tanque.

Periodo experimental (T1/T2)	Temperatura (°C)	Alcalinidad-Kh (μmol/L)	Calcio (mg/L)	Mg (mg/L)	PAR (μE m⁻² s⁻¹)
Mayo	29.42±0.44	7.9±0.14	392.5±45.96	1175±49.49	445±132.23
	29.06±0.72	7.2±0.14	392.5±60.10	1175±49.50	476±129.40
Junio	29.18±0.48	7.6±0.5	400±0.5	1260±0.5	1212±34.41
	28.80±0.47	6.2±0.5	410±0.5	1240±0.5	1361±138.35
Julio	29.26± 0.04	7.15±0.21	392.5±10.60	1255±7.07	688±514.77
	28.69±0.44	7.4±0.55	390±14.14	1230±0.5	699±617.53
Agosto	29.23±0.13	7.0±0.5	355±7.07	1185±21.21	1060±251.49
	28.97±0.003	6.63±0.40	373.3±23.09	1210±14.14	610±16.26
Septiembre	29.10± 0.30	6.2±0.5	340±0.5	1230±0.5	1440±468.29
	28.86±0.26	6.7±0.5	360±0.5	1220±0.5	671±147.07
Octubre	27.60±0.26	4.56±0.87	280±0.5	860±180.83	1171±537
	27.41±0.41	6.2±0.5	340±0.5	1110±0.5	1267±486.96
Valor Promedio Total	29.09±0.56	6.50±1.39	350.9±51.80	1118±188	1002±410.31
	28.74±0.55	6.6±0.87	368±44.2	1156±124.6	895±414.55

Anexo 4. Valor mensual de los nutrientes por tanque

Periodo experimental (T1/T2)	Fosfatos (µmol/L)	Nitratos (µmol/L)	Nitritos (µmol/L)	Amonio (µmol/L)
Mayo	0.37±0.22	1.90±0.31	1.53±0.44	7.70±0.04
	0.36±0.21	1.49±0.38	1.25±0.28	6.10±6.61
Junio	0.40±0.12	1.97±0.15	1.59±0.12	8.67±4.5
	0.40±0.09	1.81±0.41	1.48±0.33	11.20±5.1
Julio	0.33±0.01	2.19±0.39	3.68±2.71	5.80±1.78
	0.32±0.06	1.65±0.32	5.85±6.38	6.99±2.57
Agosto	0.31±0.01	nd	9.73±1.59	6.36±0.73
	0.37±0.07	nd	8.17±2.56	5.12±0.94
Septiembre	0.37±0.05	nd	8.96±1.24	5.61±2.19
	0.36±0.05	nd	9.23±1.46	5.20±1.89
Octubre	nq	nd	7.85±1.61	3.142±1.18
	nq	nd	4.98±1.51	6.77±0.86
Valor Promedio Total	0.35±0.05	2.0±0.15	5.19±3.6	6.34±2.87
	0.39±0.08	1.61±0.38	5.34±4.15	7.08±4.23