

ESTUDIO PRELIMINAR SOBRE *ASTROIDES CALYULARIS* EN LAS ISLAS CHAFARINAS

Informe final



Coordinadora: Annie Machordom

**Equipo de trabajo: Pilar Casado de Amezúa, Paula Merino,
Ricardo García-Jiménez, Luis Sánchez Tocino, Javier
Guallart, Óscar Ocaña y José Templado**

1. Introducción

La familia Dendrophyllidae es cosmopolita y comprende cerca de 150 especies en todo el mundo, tanto corales solitarios como coloniales, agrupadas en 19 géneros (CAIRNS, 1999, CAIRNS ET AL., 1999). En el Mediterráneo se reconocen 7 especies de esta familia pertenecientes a 5 géneros, 3 de los cuales comprenden especies coloniales (*Astroides*, *Cladopsammia* y *Dendrophyllia*) (ZIBROWIUS, 1980). El presente trabajo se centra en la especie colonial *Astroides calycularis*.

Se trata de un coral madreporario colonial muy llamativo por el color naranja fuerte de sus pólipos, los cuales se disponen muy juntos unos a otros. Cada pólipo presenta unos 30 tentáculos. Las colonias forman masas compactas de forma almohadillada, que sobresalen hasta unos 10 cm sobre el sustrato y pueden sobrepasar los 30 cm de diámetro. Las colonias pueden crecer muy juntas, solapándose unas con otras, y recubrir amplias superficies de las paredes rocosas umbrías (Figuras 1 y 2). Su esqueleto es de color blanco y los cálices crecen cementados en casi toda su longitud.



Figura 1. Detalle de una colonia de *Astroides calycularis*.



Figura 2. Roca recubierta por colonias de *Astroides calycularis*.

Este coral se extendía por todo el Mediterráneo occidental durante el Pleistoceno, pero su área de distribución ha ido reduciéndose progresivamente. En la actualidad sólo está presente en el Mediterráneo suroccidental. Se conoce en las costas del Tirreno, desde el estrecho de

Messina hasta el golfo de Nápoles, en Sicilia e islas del canal de Sicilia, en Malta y, en el litoral español, desde las costas de Murcia hasta las de Cádiz. Por el norte de África se extiende desde el cabo Espartel, en Marruecos, hasta el cabo Bon e isla de Zembra, en Túnez (Figura 3).

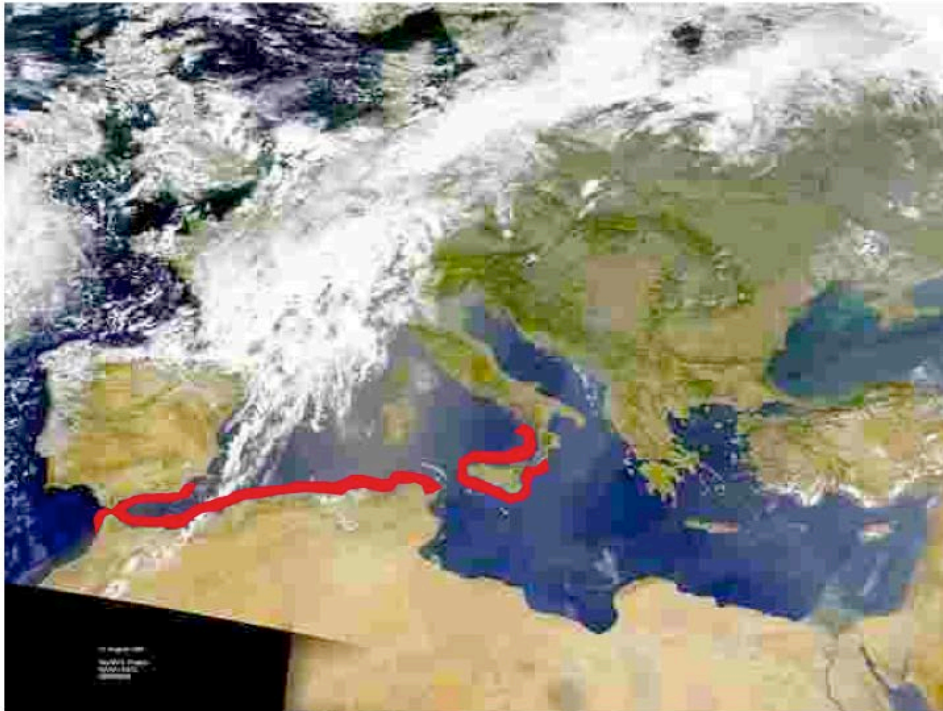


Figura 3. La línea roja sobre el mapa señala la distribución actual de *Astroides calycularis*.

En las costas españolas se distribuye con continuidad desde el cabo de Gata, en Almería, hasta el estrecho de Gibraltar. Existen colonias aisladas más al norte, hasta el cabo de Palos, en Murcia, y en algunos puntos de las costas atlánticas de Cádiz. La especie es abundante, también, en la isla de Alborán, en Melilla, en las islas Chafarinas y en Ceuta. Es, precisamente en el litoral ceutí donde se han observado los recubrimientos más importantes de este coral, el cual ha sido elegido como símbolo del patrimonio sumergido de este enclave español del norte de África.

Su hábitat lo constituyen los sustratos rocosos umbríos, desde aguas superficiales hasta unos 30 m de profundidad, en zonas de aguas limpias y bien oxigenadas. Su presencia es un buen indicativo de la calidad ambiental

del entorno. Es muy frecuente en extraplomos y entradas de cuevas de las zonas geográficas donde se halla. En algunos enclaves superficiales puede quedar emergido durante las bajamares. En aquellos lugares que reúnen las condiciones más favorables, *Astroides calycularis* puede ser la especie dominante en el recubrimiento del sustrato. En algunas zonas del litoral ceutí se han observado paredes rocosas verticales donde esta especie presentaba un recubrimiento superior al 80% de la superficie desde aguas superficiales hasta unos 30 m.

Se trata de un coral ahermatípico, es decir, que carece de algas simbiotes (zooxantelas). Sus colonias constituyen el hábitat de diversas especies de pequeño tamaño. Asimismo, algunos gasterópodos se alimentan de sus partes blandas. Por otro lado, los restos del esqueleto calcáreo de este coral acumulados en determinados lugares componen un sustrato abigarrado que alberga una compleja comunidad animal, en cierto modo, parecida a la de los fondos de rodolitos. Existe incluso un gasterópodo exclusivo de este hábitat, *Epitonium dendrophylliae*, que se alimenta precisamente de *Astroides* (RICHTER Y LUQUE, 2004).

A pesar de ser una especie muy conspicua y de gran interés, es llamativa la ausencia de estudios sobre la biología o de otros aspectos de este coral. Sin embargo, *Astroides calycularis* era bien conocido por los naturalistas del siglo XVIII y principios del XIX. CUVIER (1830), en el volumen de los “Zoofitos” del *Règne animal distribué d’après son organization*, muestra la Figura de una colonia con los pólipos abiertos procedente de las costas de Sicilia, y LAMARCK (1836), en la segunda edición de la *Historie naturelle des animaux sans vertèbres*, hace algunas anotaciones sobre esta especie.

En las islas Chafarinas *Astroides calycularis* se halla bien representado (observaciones personales), aunque tampoco existen estudios sobre la especie en este enclave geográfico. Se considera, por tanto, urgente abordar una investigación multidisciplinar sobre este coral. Las islas Chafarinas constituyen un lugar adecuado para ello por su abundancia, por el buen estado de conservación de su medio marino y por lo limitado de los impactos humanos en las islas.

El estudio preliminar que aquí se presenta abarca los siguientes aspectos:

- a) Cartografiado y distribución de las colonias de la especie en las islas.
- b) Estudio de la reproducción.
- c) Estudio genético.
- d) Caracterización del cnidoma.

Situación legal internacional y en España

La alarmante regresión de este coral en el Mediterráneo en épocas recientes parece responder a causas naturales, la cual se ve agravada en la actualidad por la destrucción de muchos roquedos costeros de las áreas donde se encuentra. La contaminación de las aguas superficiales y su colecta por parte de buceadores con fines decorativos son otras causas añadidas que inciden en su desaparición progresiva. Por estos motivos *Astroides calycularis* ha sido incluido en las siguientes listas de especies protegidas:

- Anexo II (Lista de Especies en Peligro o Amenazadas) del Protocolo relativo a Áreas Especialmente Protegidas y Diversidad Biológica del Mediterráneo (Convenio de Barcelona, 1995). Tal calificación obliga a los estados signatarios a “asegurar la máxima protección y recuperación” para la especie, así como a “formular e implementar planes de acción para su conservación” (Arts. 12.2, 12.3).
- Anexo II (Fauna en Peligro a Amenazada) del Convenio de Berna (1996).
- Anexo I (Tipos de Hábitats Naturales de Interés Comunitario Cuya Conservación Requiere la Designación de Zonas de Especial Conservación) de la Directiva Hábitats, dentro del hábitat 1170 “arrecifes”.

- Catálogo Español de Especies Amenazadas (antes Catálogo Nacional de Especies Amenazadas) dentro de la categoría de “vulnerable” (Orden de 9 de junio de 1999, BOE nº 148).
- Catálogo Andaluz de Especies Amenazadas con la categoría de “vulnerable” (BAREA-AZCÓN *ET AL.*, 2008).

3. Cartografiado de *Astroides calycularis* en las islas Chafarinas

Para obtener una primera idea de la distribución y abundancia de este coral en las islas se han realizado, por un lado, recorridos a nado por todo el perímetro de las islas, para estimar su presencia y repartición en los primeros metros, y por otro, una serie de transectos en distintos puntos de las islas a fin de estudiar su distribución vertical.

La metodología seguida ha sido la propuesta por BENEDETTI-CECCHI *ET AL.* (1996) con ciertas modificaciones. Tanto en los recorridos a nado como en los transectos se ha estimado la presencia/ausencia y el grado de cobertura en cuadrados de 50x50 cm. Para ello, se han utilizado fotografías submarinas y programas de tratamiento digital de las imágenes.

3.1. Estudio preliminar del área de distribución de la especie según transectos hasta los 3 m de profundidad

3.1.1. Metodología

Como se ha indicado, se llevaron a cabo estimas visuales mediante recorridos a nado a lo largo de todo litoral de las islas, con máscara y tubo. Con ello se pretendía obtener lo siguiente:

- Caracterización por tramos de costa de características uniformes (orientación, inclinación, grado de exposición) del grado de cobertura de *A. calycularis* en el mediolitoral inferior (entre 0 y -0,5 m respecto del nivel medio del mar) y en la parte superior del infralitoral (entre -0,5 y -3 m).
- Valores a las estimas según los siguientes rangos:

Abundancia y representación

0	Ausente
1	colonias aisladas, irregular, < 2% cobertura
2	colonias aisladas, distribución más o menos uniforme, 2-10% cobertura
3	buena representación, aprox. 30% cobertura
4	dominante en la comunidad, 50-60% cobertura
5	cobertura mayoritaria, > 80% cobertura

Inclinación del sustrato

0	subhorizontal, aprox. 0°
1	aprox. 15°
2	aprox. 45°
3	aprox. 60°
4	subvertical, aprox. 80°
5	vertical, aprox. 90 °
6	extraplomo, > 90°

3.1.2. Resultados

Los mapas de distribución y abundancia de la especie en el rango batimétrico de 0 a -3 m se ofrecen en las Figuras 4, 5 y 6. En ellos puede observarse que la especie se distribuye mayoritariamente en aquellas zonas del archipiélago donde se localizan paredes rocosas más o menos verticales. Su presencia es menor en la cara sur de las islas.

La mayor abundancia de la especie se ha observado en las Cuevas del Lobo, en la cara oeste de la isla de Congreso. En esta isla *A. calycularis* se encuentra muy repartida, con una mayor cobertura en diversos enclaves del oeste de la isla siendo también abundante en otras localidades de esta cara. En la isla Isabel II este coral se distribuye principalmente en su cara norte, mientras que en la isla de Rey Francisco las mayores coberturas se dan en su cara este, la más expuesta al levante, sobre todo en los denominados Tajos.

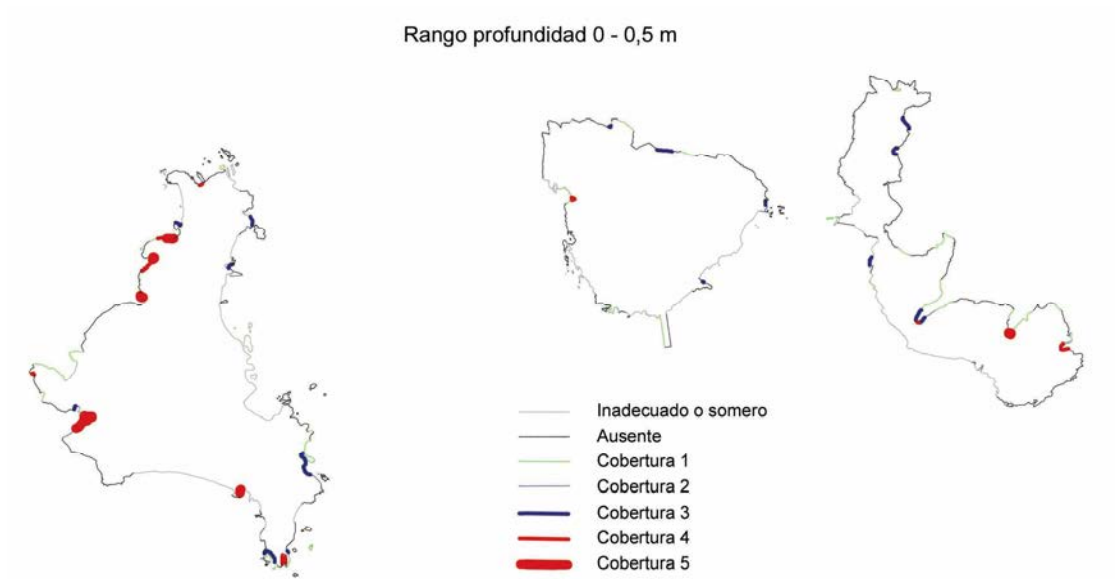


Figura 4. Distribución de *Astroides calycularis* en las islas Chafarinas entre los 0 y los 0.5 metros de profundidad.

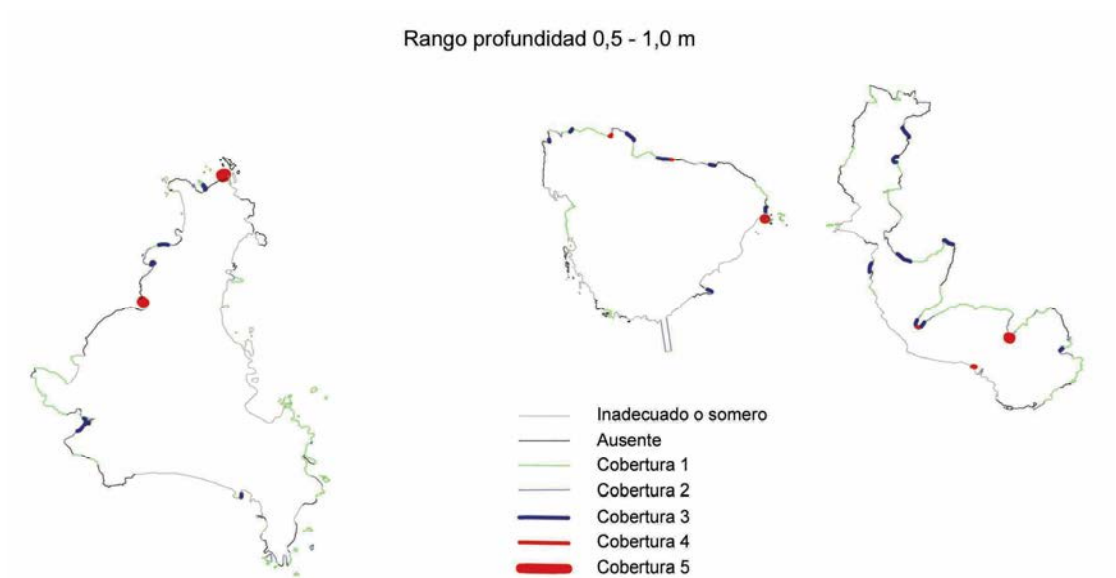


Figura 5. Distribución de *Astroides calycularis* en las islas Chafarinas entre los 0,5 y 1 metro de profundidad.

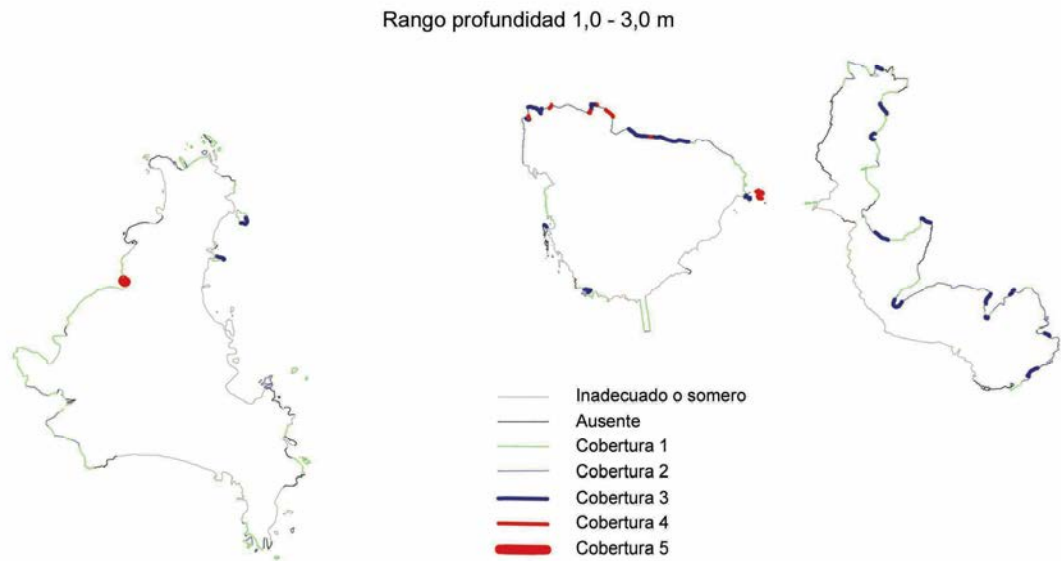


Figura 6. Distribución de *Astroides calycularis* en las islas Chafarinas entre 1 y 3 metros.

La metodología utilizada se ha revelado útil para representar la abundancia en elementos con una distribución de tipo lineal, en un cinturón superficial (es, por ejemplo, adecuado para *Patella ferruginea* o *Dendropoma petraeum*), pero para *A. calycularis* sólo sirve para representar las colonias más superficiales. Sin embargo, este coral tiene una amplia repartición batimétrica (en las islas se ha observado hasta 30 m) y se distribuye de una manera muy irregular y dispersa. Por ello es preciso realizar también transectos verticales si se pretende tener una idea más aproximada de su distribución en las islas.

3.2. Transectos verticales

3.2.1. Material y Métodos

Durante la campaña llevada a cabo en junio de 2008, se llegaron a completar un total de 10 transectos verticales desde 3 m hasta unos 20 m de profundidad (véase Figura 7), mediante inmersiones con escafandra autónoma. Los datos correspondientes a dichos transectos pueden verse en la Tabla I. Estos transectos se seleccionaron tomando en consideración la

C01

abundancia y distribución de la especie que se había observado en los recorridos por el perímetro de las islas. La metodología utilizada consistió en recorridos lineales, siguiendo un cabo guía cuando las condiciones de la pared lo permitían. Cada 0,5 m se llevaron a cabo estimas visuales en transectos de hasta 3 metros de ancho. Se realizaron estimas de abundancia de la especie, así como de la inclinación de la pared rocosa. Para la caracterización de la inclinación se siguieron las mismas categorías que para el cartografiado de la especie hasta los 3 m de profundidad.

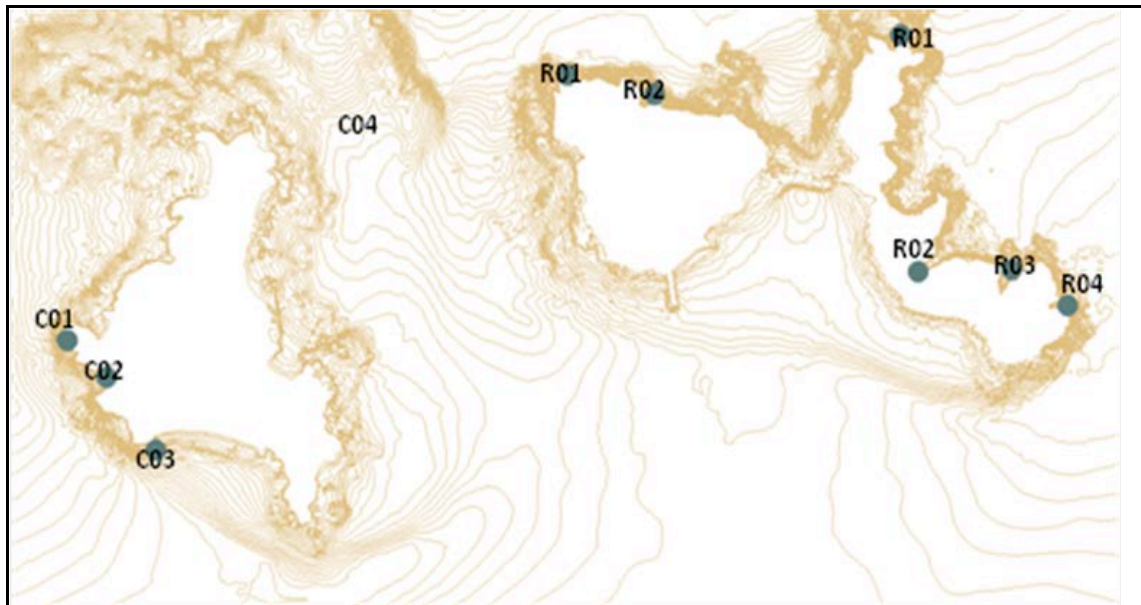


Figura 7. Localización de los transectos verticales donde se llevó a cabo el estudio de la abundancia relativa de *A.calycularis* en el archipiélago de las Islas Chafarinas. **Congreso:** C01 Punta de la Ermita, C02 Cuevas del Lobo, C03 Norte de Playa Larga, C04 Banco de Congreso. **Isabel II:** I01 Norte de Isabel II, I02 Noroeste de Isabel II. **Rey Francisco:** R01 Balcón de Pilatos, R02 Tajo de los Piratas, R03 Tajo del Halcón, R04 Tajo del Cementerio.

Tabla I. Transectos verticales, indicando la localización, la profundidad máxima alcanzada y la clave.

Isla	Localidad	Profundidad máxima (m)	clave
W Congreso	Punta de la Ermita	más de 25	C01
W Congreso	Cuevas del Lobo	2,5	C02
W Congreso	N de Playa Larga	3,5	C03
NE Congreso	Banco de Congreso	40	C04
NW Isabel II	Noroeste de Isabel	25	I01
N Isabel II	Norte de Isabel	35	I02
N Rey Francisco	Balcón de Pilatos	20,5	R01
E Rey Francisco	Tajo de los Piratas	4	R02
SE Rey Francisco	Tajo del Halcón	6	R03
SE Rey Francisco	Tajo del Cementerio	5	R04

A lo largo de los transectos verticales, se utilizaron cuadrados de 50x50 y se tomaron fotografías de cada uno de ellos, siempre y cuando existieran colonias del coral ubicadas dentro de los mismos. Se tomaron fotografías cada 0,5 m de profundidad en 3 cuadrados distanciados entre sí 1,75 m (ver Figura 8). Posteriormente, el tratamiento de imágenes se llevó a cabo con el programa Photoshop CS3. El cálculo del porcentaje de cobertura se realizó a cabo a través de la medición del área ocupada por las colonias en los cuadrados y el cálculo posterior de la media entre cada uno de los tres cuadrados. Se registró también la presencia de otras especies animales y/o vegetales relevantes.

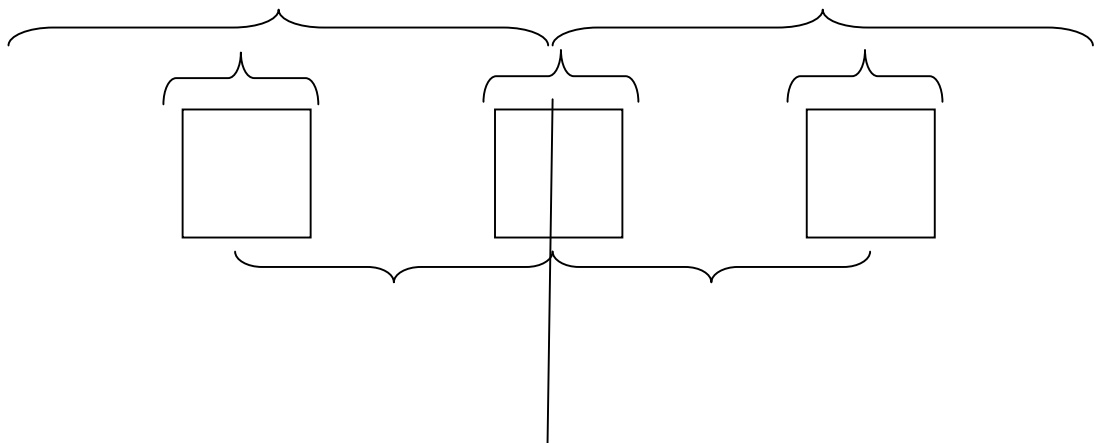


Figura 8. Metodología seguida en cada uno de los transectos verticales para el cálculo de la abundancia (en porcentaje de cobertura de la pared vertical) de la especie *A. calycularis*.

3.2.2. Resultados (descripción de los transectos)

Isla Congreso

C01. Punta de la Ermita

Pared caracterizada por la abundancia de extraplomos y grietas, entre las cuales se encuentran buena parte de las colonias de *A. calycularis* en este transecto. La pared vertical alcanza aquí más de los 25 m de profundidad. Las colonias del coral son más frecuentes hasta los 12 m de profundidad, observándose algunas colonias pequeñas a mayores cotas batimétricas. Hasta los 12 m de profundidad, se observa una repartición más o menos homogénea de la especie, con una mejor representación en las cotas más superficiales (véase Figura 9).

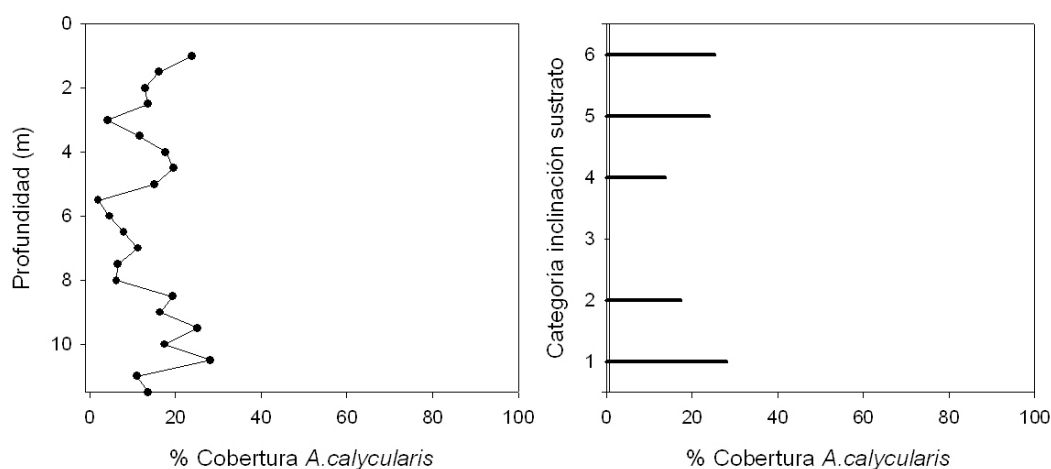


Figura 9. Representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* de la pared muestreada a lo largo del gradiente batimétrico en el transecto C01, del oeste de la isla de Congreso (izquierda) y abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa (derecha).

En el transecto, predominan sobre todo colonias de la especie de aspecto incrustante y redondeadas (Figura 10).

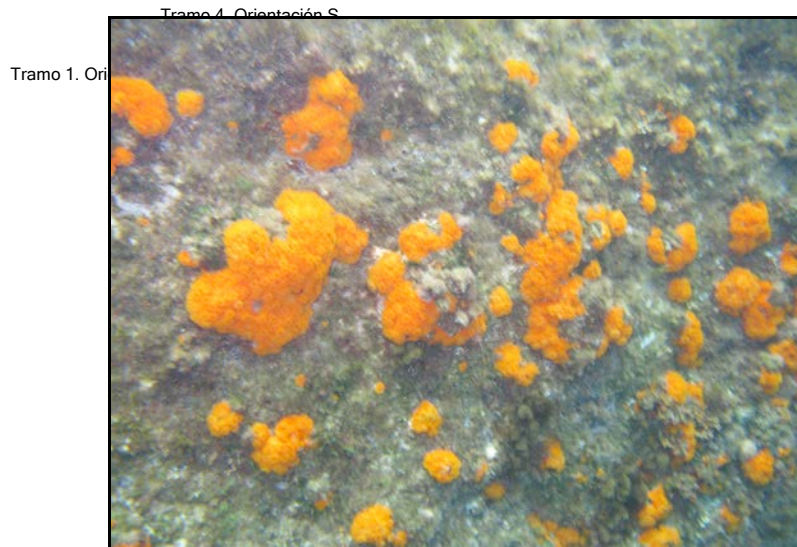


Figura 10. Detalle de las colonias de *A. calycularis* en el transecto de Punta de la Ermita (oeste de la isla de Congreso).

C02. Cuevas del Lobo

Es en este enclave donde se encuentra la mayor abundancia de la especie. Las paredes de las cuevas se encuentran prácticamente en su totalidad cubiertas por las colonias del coral. Se llevaron a cabo cuatro transectos siguiendo el esquema de la Figura 11. Se observó una mayor abundancia en los tramos 2 y 3, correspondientes a partes más internas y umbrías de la cueva.

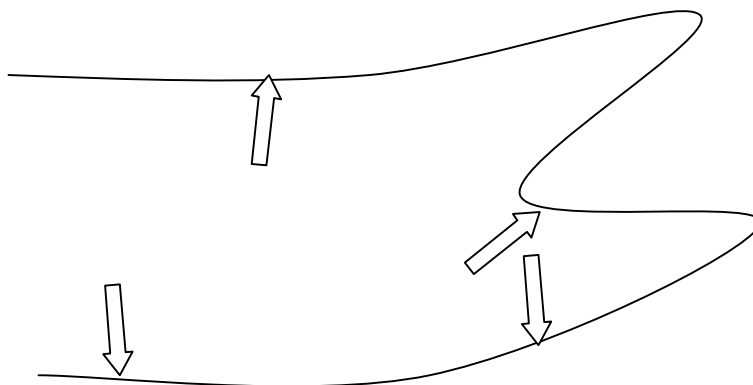


Figura 11. Esquema de los transectos llevados a cabo en las Cuevas del Lobo.



Figura 12. Detalle de las paredes de las Cuevas del Lobo donde se aprecian las manchas naranjas correspondientes a las colonias de *Astroides calycularis*.

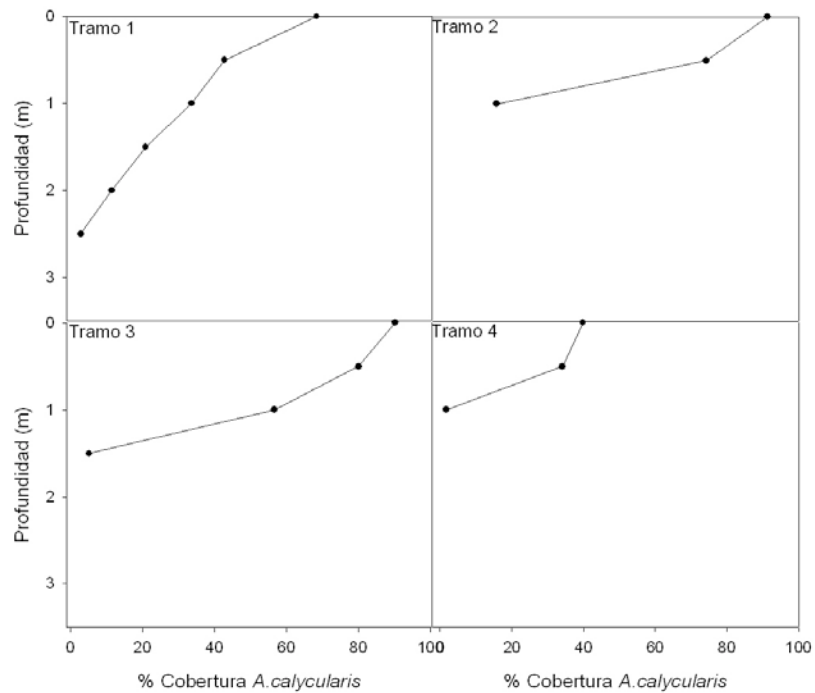


Figura 13. Representación gráfica de la abundancia relativa de *A. calycularis* en cada uno de los tramos muestreados en las Cuevas del Lobo en relación a la profundidad.

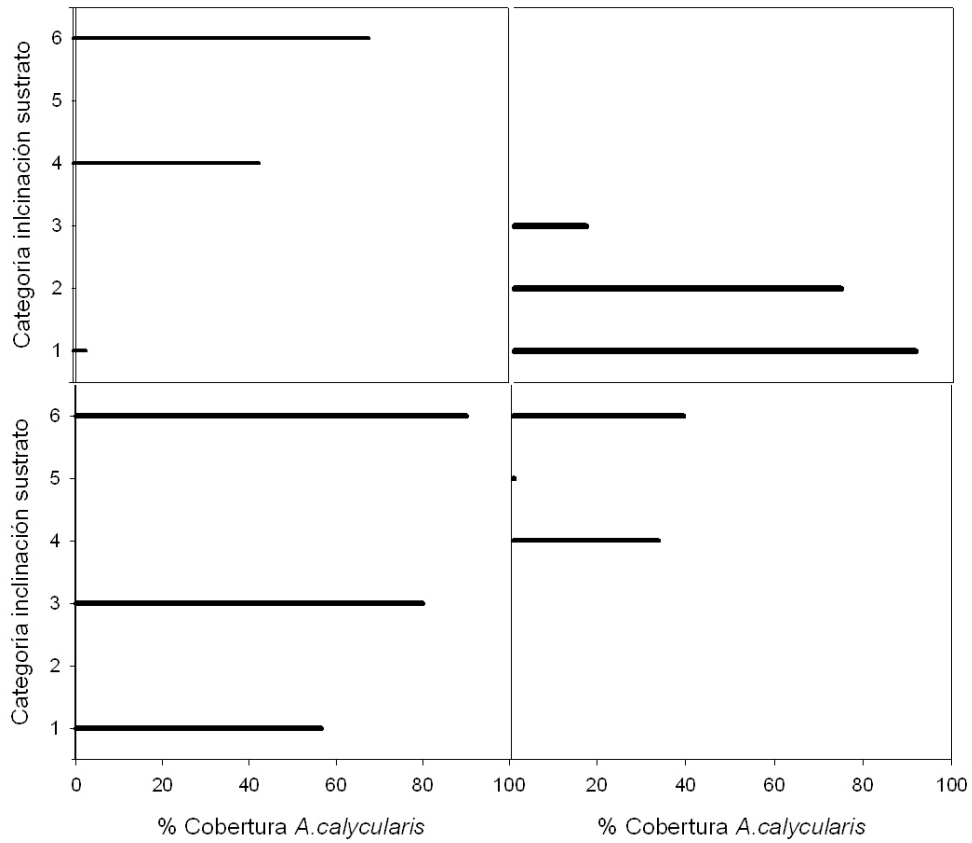


Figura 14. Abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared.

C03. Norte de Playa Larga

La pared rocosa en este transecto llega hasta los 18 m, donde comienzan las praderas del gorgoniáceo *Ellisella paraplexauroides*. De los 0 a los 0,5 m de profundidad no se localizaron colonias de la especie. La profundidad a la que llega *A. calycularis* en este transecto es de 3,5 m, habiéndose observado sólo algunas colonias dispersas hasta los 5 m.

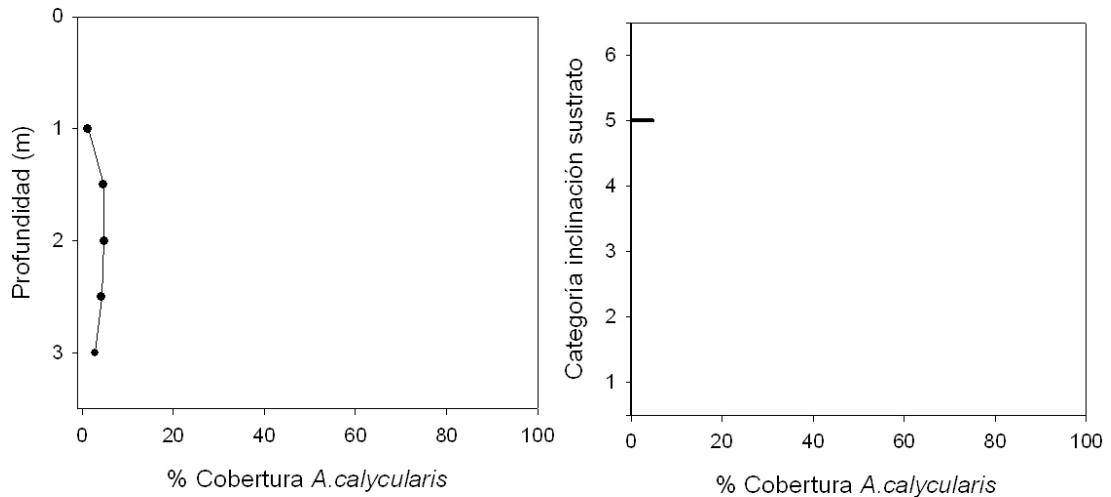


Figura 15. A la izquierda, representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad de la pared al norte de la localidad de Playa Larga en la Isla de Congreso. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.

C 04. Banco de Congreso

El dominado como Banco o Laja de Congreso es una roca cuya parte superior es plana y se encuentra a 4 m de profundidad. Por su parte externa (cara norte) las paredes llegan a los 40 m y dominan en ellas las comunidades del gorgonáceo *Paramunicea clavata* (Figura 16). Se encontraron aquí pocas colonias de *A. calycularis*, con una mayor abundancia sobre todo a unos 14 m de profundidad, donde las colonias aparecían recubiertas de sedimento (Figura 17).



Figura 16. Comunidades de *Paramunicea clavata* de las paredes de la Laja de Congreso.

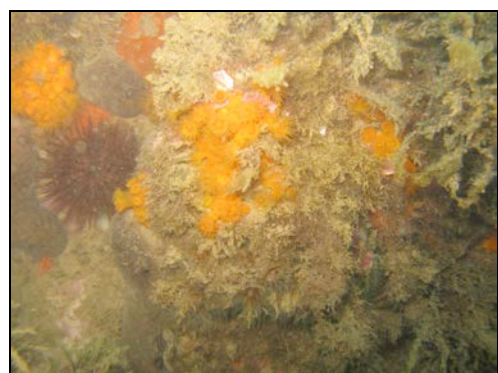


Figura 17. Colonias de *A. calycularis* cubiertas de sedimento a 15 m de profundidad en la laja de Congreso

Isla de Isabel II

I01. Norte de Isabel II

La zona se caracteriza por acantilados prácticamente verticales muy afectados por el hidrodinamismo y que alcanzan profundidades máximas de 30-35 m. Se denota una mayor abundancia de la especie entre los 3 y los 12 metros, disminuyendo su cobertura a partir de esta profundidad (Figura 18). La mayor franja de abundancia de la especie se ha observado a los unos 11 m. En superficie se observa menor presencia de la especie, probablemente debido a la intensidad del oleaje en esta parte de la isla. En esta zona, *A. calycularis* se encuentra preferentemente en superficies verticales con comunidades de algas calcáreas (Figura 19). La gorgonia *Eunicella singulares* predomina a partir de los 10 metros de profundidad (Figura 20).

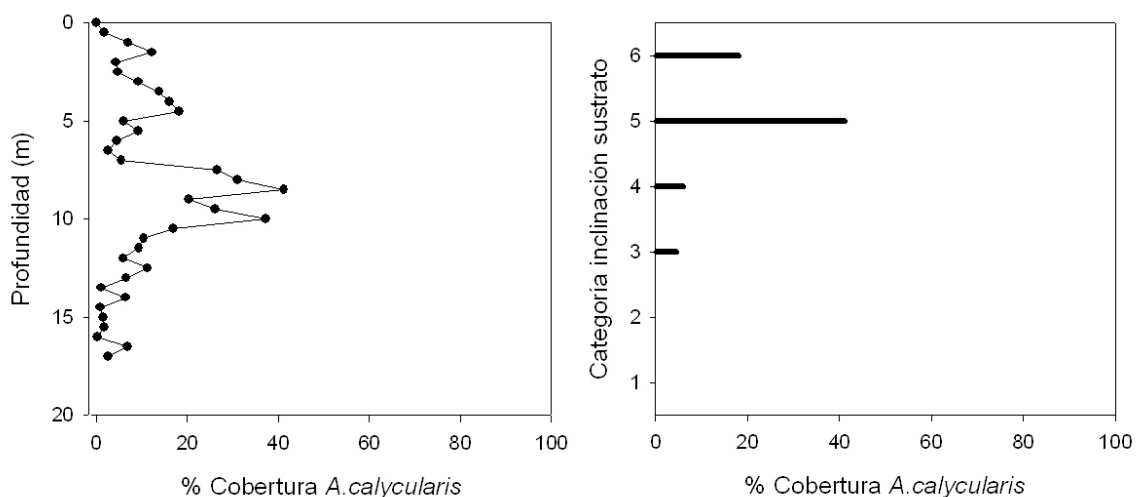


Figura 18. A la izquierda representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en la pared de la cara Norte de Isabel II. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.



Figura 19. Comunidades de algas calcáreas y *A. calycularis*

Figura 20. *Eunicella singularis* y colonias de *A. calycularis* al fondo.

I02. Transecto Noroeste de Isabel II

La mayor abundancia de la especie se localiza entre los 2,5 y 9 m de profundidad (Figura 21). La parte superficial de esta zona de la isla de Isabel II se encuentra muy expuesta al oleaje y a los temporales, por lo que el gran hidrodinamismo de la zona dificulta la presencia de colonias en la parte superficial. A partir de los 20 m de profundidad la visibilidad disminuye, así como la cobertura debido a la gran cantidad de sedimento proveniente del fondo. En los primeros metros dominan en la pared las comunidades algales (Figura 22) y a partir de unos 10 la comunidad de *Eunicella singulares*.

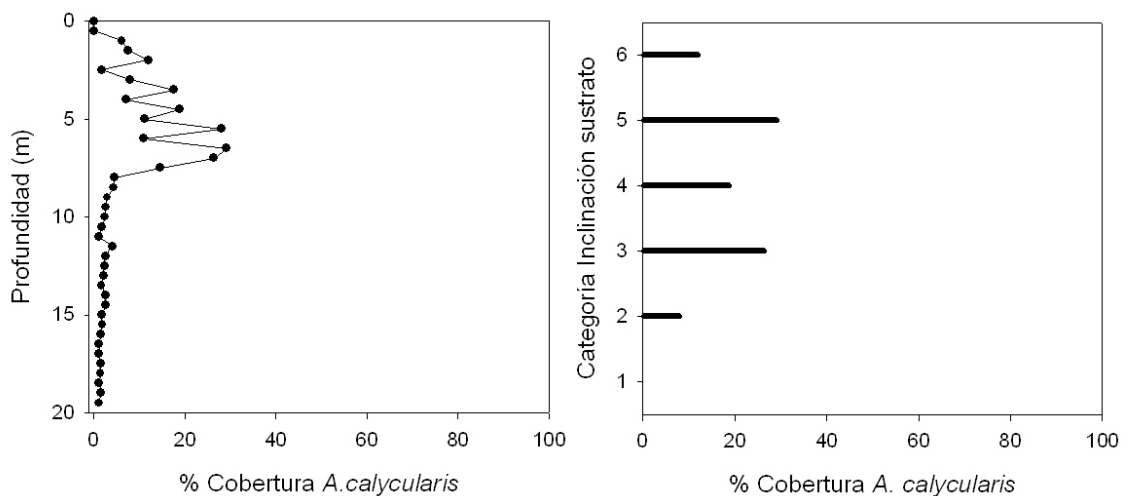


Figura 21. A la izquierda representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en la cara Noroeste de Isabel II. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.

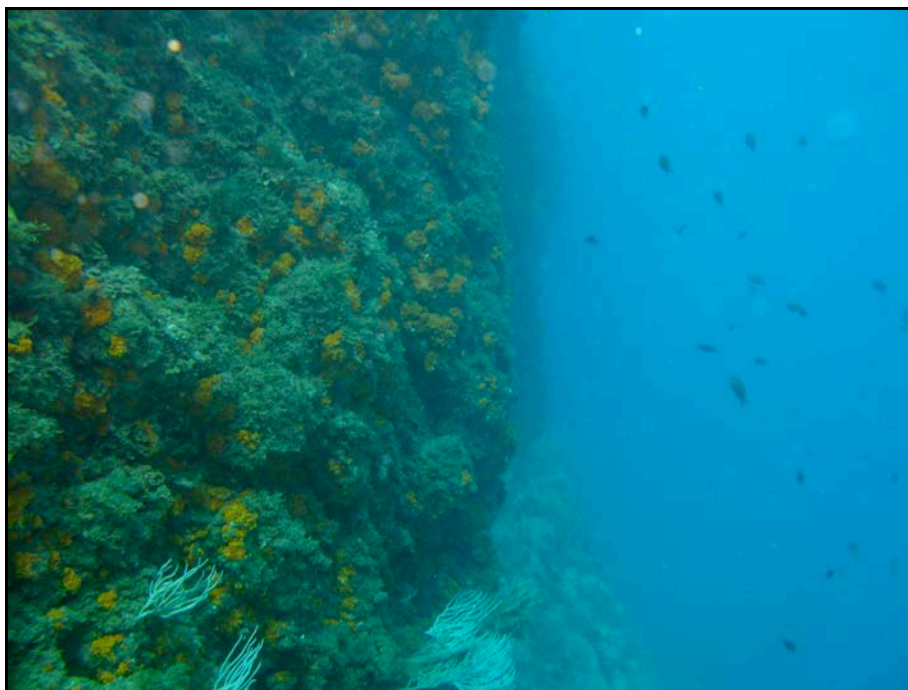


Figura 22. Colonias dispersas de *A. calycularis* a partir de los 6 m de profundidad en el noroeste de Isabel II.

Isla de Rey Francisco

R01. Balcón de Pilatos

Este transecto se caracteriza por la presencia de paredes mayoritariamente verticales con algunas zonas extraplomadas. La profundidad máxima que se alcanza en la zona es de unos 30 m. Las colonias de *A. calycularis* se han observado hasta los 16 m de profundidad, con una mayor abundancia de la especie entre 2 y 5 m (Figura 23). Por debajo de esta cota batimétrica la cobertura es muy baja. En superficie las colonias quedan a menudo descubiertas en los periodos de bajamar. Las principales especies acompañantes aquí son algas verdes y rodofíceas incrustantes (Figuras 24 y 25).

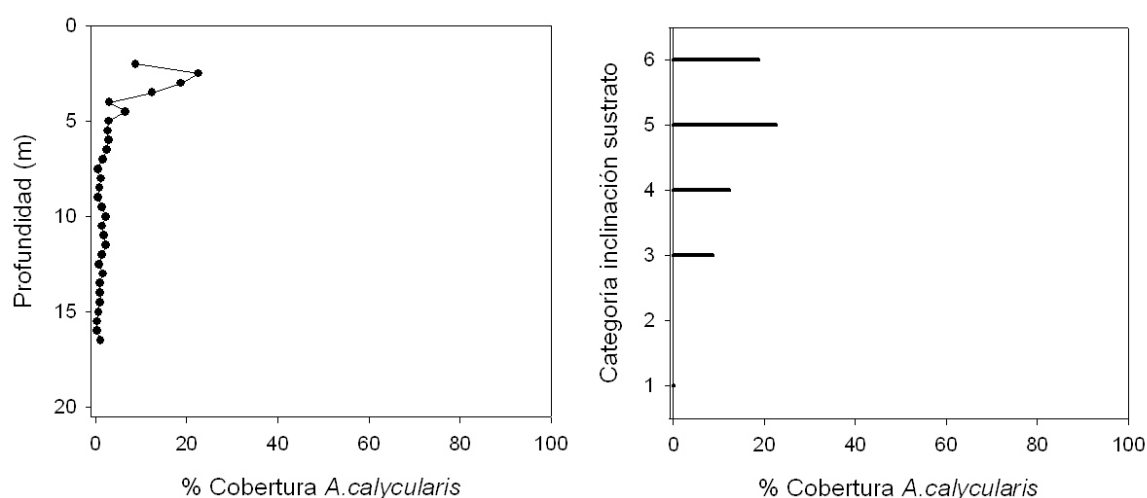


Figura 23. A la izquierda, representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en el transecto del Balcón de Pilatos, localizado en la cara norte de la Isla Rey Francisco. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.

Figura 23. Pared con abundancia de algas verdes, rodofíceas incrustantes y colonias de *A. calycularis*.



Figura 24. Imagen en superficie del transecto Balcón de Pilatos en el norte de la Isla Rey Francisco

R02. Tajo de los Piratas

En esta zona las colonias de *A. calycularis* son de pequeño tamaño y forma aplanada, característica de áreas protegidas. La profundidad máxima que alcanzan las paredes de este tajo es de 4 m, con predominio de superficies extraplomadas. Las colonias del coral están distribuidas por toda la pared (Figura 26), pero se encuentran mayoritariamente cerca de la superficie. Las principales especies acompañantes son algas incrustantes y la esponja *Crambe crambe* (Figura 27).

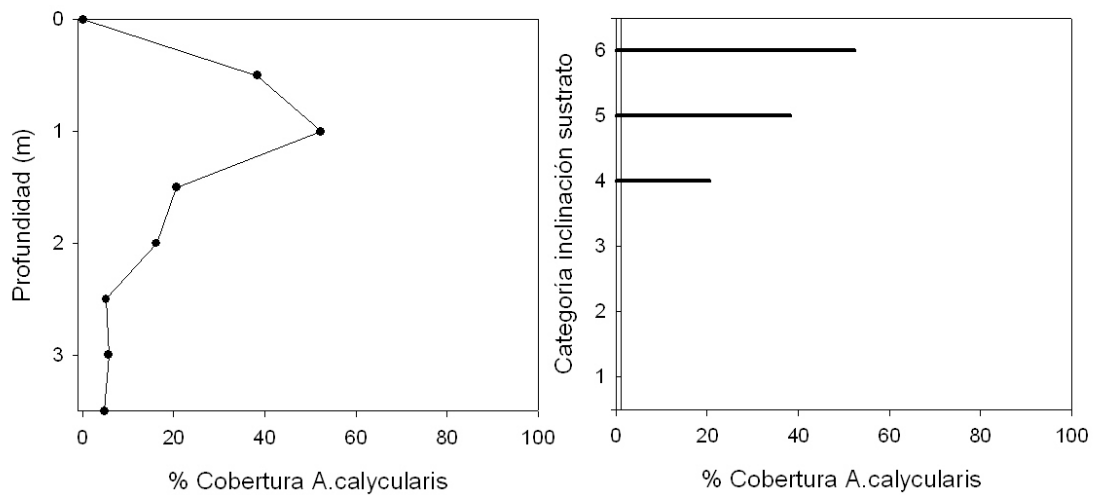


Figura 26. A la izquierda, representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en el Tajo de los Piratas. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.



Figura 27. Detalle de las colonias de *A. calycularis* presentes en el Tajo de los Piratas y comunidades asociadas de algas rodofíceas incrustantes y de la esponja *Crambe crambe*

R03. Tajo del Halcón

Las paredes verticales de este Tajo (Figura 28) llegan hasta los 6 m de profundidad. Las colonias de *A. calycularis*, aunque están presente por toda

la superficie de las paredes, la mayor parte de las colonias se sitúan a unos 2 m de profundidad (Figura 29).



Figura 28. Fotografía en superficie del Tajo del Halcón en la Isla Rey Francisco.

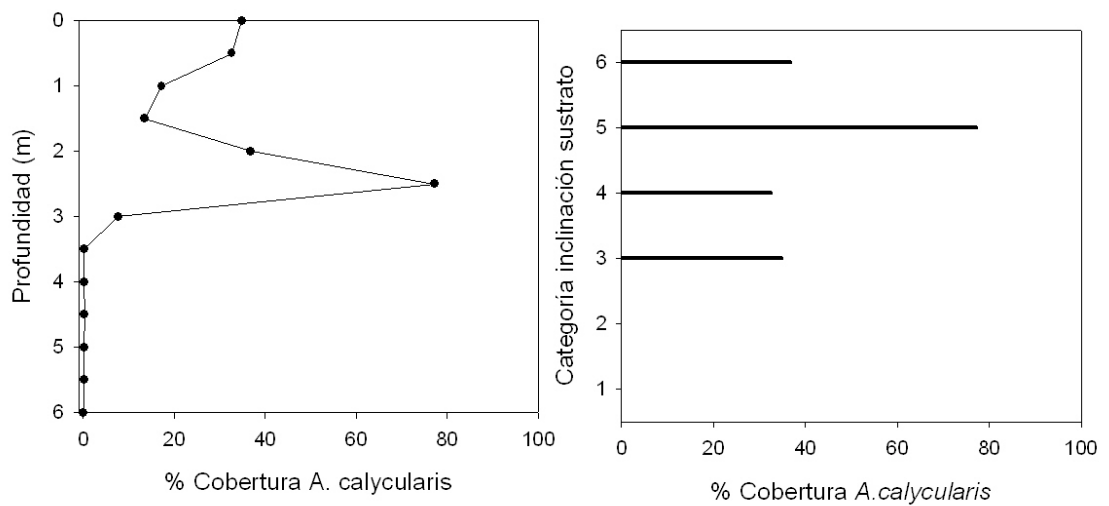


Figura 29. A la izquierda, representación gráfica de la superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en el Tajo del Halcón. A la derecha, abundancia de la especie con respecto al grado de inclinación de la pared rocosa.

R04. Tajo del Cementerio

Las paredes laterales del tajo llegan hasta una profundidad aproximada de unos 20 m. Se observa una clara disminución de la abundancia con la profundidad (Figura 30). En la superficie del tajo se puede apreciar una gran dominancia de las colonias de este coral, con un grado de cobertura muy alto (Figura 31), a pesar de que se trata sobre todo de colonias pequeñas y con pocos pólipos, características de zonas tranquilas. Esta mayor abundancia se observa predominantemente en la parte más interna del tajo, donde además se incrementa el grado de inclinación del sustrato hasta llegar a formar extraplomos. Se observan colonias dispersas hasta los 20 m, profundidad a la que comienza a aparecer la comunidad del gorgonáceo *Elisella paraplexauroides*. En el esqueleto de esta especie pueden crecer también pequeñas colonias de *Astroides calycularis*.

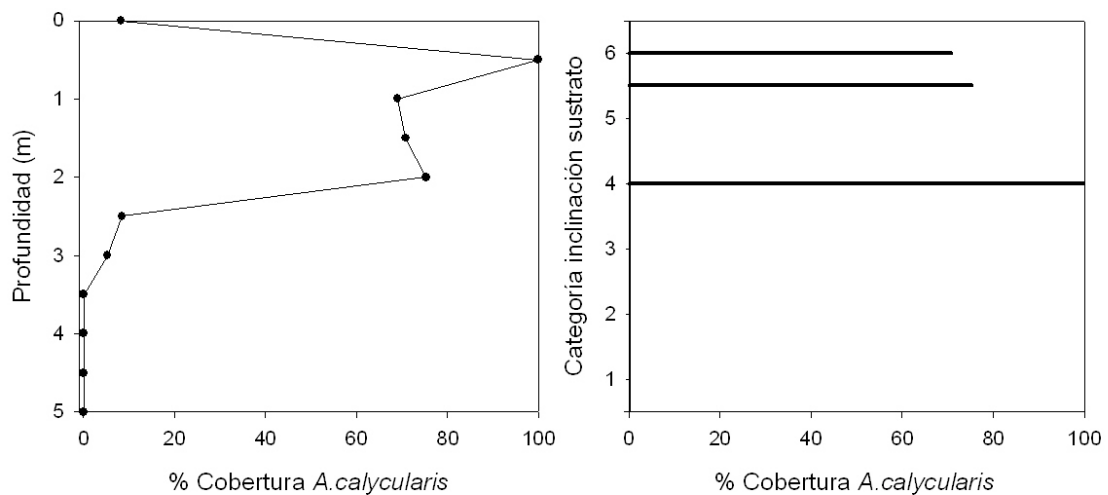


Figura 30. A la izquierda representación gráfica del porcentaje de superficie cubierta por *A. calycularis* con respecto a la profundidad en el transecto del Tajo del Cementerio. A la derecha, abundancia de la especie con respecto a la inclinación de la pared.



Figura 31. Colonias de *A. calycularis* de pequeño tamaño y con pocos pólipos, características de localidades de aguas relativamente tranquilas, como el interior de los tajos.

3.2.2. Conclusiones

Astroides calycularis muestra una amplia repartición espacial y batimétrica en las islas (se ha encontrado entre 0 y 30 m), aunque las mayores coberturas se dan en la zona más superficial (entre 0 y 2 m de profundidad). Asimismo, este coral parece precisar de cierto grado de exposición al oleaje, siendo escaso en las zonas más resguardadas (cara sur de las islas).

La comunidad a la que se asigna esta especie es a la de “algas esciáfilas infralitorales en ambiente batido”. Esta comunidad es la propia de enclaves umbríos superficiales, expuestos al oleaje y protegidos de la iluminación directa, como los extraplomos de paredes verticales o grietas. Aunque suele situarse formando un cinturón justo por debajo del nivel medio del mar, puede llegar a extenderse hasta una profundidad considerable (hasta 30 m en el caso de las islas).

La comunidad se caracteriza, aparte de por el coral, por la presencia de algas esciáfilas y pequeños animales sésiles. Es abundante la rodófitica *Gelidium latifolium*, acompañada de diversas algas esciáfilas o ubiquestas (*Cladophora pellucida*, *Pterocladia capillacea*, *Schottera nicaensis*, *Rhodophyllis divaricata*, *Valonia utricularis*, *Palmophyllum crassum*, *Corallina elongata*, *Plocamium cartilagineum* y *Peyssonnelia rosa-marina*). La fauna es muy diversa, formada por especies esciáfilas, muchas de ellas típicas de

niveles más profundos. Son comunes la esponja *Crambe crambe*, *Halichondria panicea*, los hidrozooos *Coryne muscoides* y *Sertularella ellisi*, el antozoo *Actinia equina*, el bivalvo *Lithophaga lithophaga* (que perfora la roca), el briozoo *Turbicellepora magnicostata* o la ascidia *Pseudodistoma cyrnusense*.

En los lugares que le son favorables, *Astroides calycularis* compite con éxito frente a las algas antes mencionadas y llega a dominar en algunos puntos formando un cinturón, justo por debajo de la cota 0 (ver Figura 32). Puede afirmarse, por tanto, que este coral sustituye al cinturón de *Cystoseira mediterranea*, propio de las zonas iluminadas, en los enclaves umbríos.



Figura 32. Cinturón de *Astroides calycularis* superficial.

4. ESTUDIO DE LA REPRODUCCIÓN

4.1. Introducción

La reproducción sexual juega un papel crucial en los ciclos vitales de los organismos, garantizan la supervivencia y evolución de las especies e incide sobre sus características demográficas. La información sobre la reproducción sexual es, por tanto, esencial para comprender la estructura genética y la dinámica de las poblaciones de una especie, así como para estimar su resistencia y resiliencia frente a perturbaciones naturales o impactos antrópicos. La consecución de la madurez sexual es el resultado del balance entre crecimiento y riesgo de mortalidad y, por otro lado, depende de la edad y el tamaño del organismo. Las variaciones en la edad y tamaño al que se alcanza la madurez sexual y diferencias en la proporción de sexos, determinan la tasa de crecimiento de las poblaciones. Estas variaciones son muy importantes y pueden representar el inicio de divergencias evolutivas.

Los primeros datos básicos sobre la reproducción sexual se refieren a la alternativa gonocorismo/hermafroditismo, al tipo de fecundación (interna/externa) y al tipo de desarrollo larvario (con una fase larvaria libre o sin ella). En lo que se refiere a los corales escleractinios, en buena parte de las especies los gametos masculinos y femeninos son expulsados al medio de forma sincrónica en determinados momentos del año. La sincronización del desarrollo gonadal y del momento de expulsión de los gametos al medio es muy importante para maximizar la probabilidad de la fecundación y del éxito reproductor, pues la rápida dispersión de gametos en el medio disminuye la probabilidad de encuentro entre ellos. La regulación del ciclo reproductor está controlada por factores ambientales, como la temperatura del agua, el fotoperiodo, las fases lunares o las mareas. Los eventos masivos y sincronizados de expulsión de gametos muchas veces propician fenómenos de hibridación interespecífica e introgresión, como ha sido documentado en los arrecifes coralinos. Por otro lado, en algunas especies de corales la

fecundación es interna. Los espermatozoides son expulsados al medio, pero la fecundación de los óvulos se produce en las colonias o pólipos femeninos. En estos casos las larvas plánulas suelen ser incubadas en las mismas colonias. Asimismo, en los corales puede existir reproducción asexual a través de la emisión de propágulos.

Los corales de los arrecifes tropicales han sido muy estudiados desde muy diversos puntos de vista, pero se conoce muy poco sobre las especies de aguas templadas o frías. En lo que se refiere al Mediterráneo sólo se conoce algo de la biología reproductora de unas pocas especies, como los corales solitarios *Balanophyllia europea* y *Leptosamia pruvoti* (GOFFREDO ET AL. 2002 y 2005) o de la especie colonial *Cladocora caespitosa* (KRUZIC ET AL. 2008). Sin embargo, nada se ha publicado sobre la reproducción de *Astroides calycularis*. Por este motivo, en el presente estudio se han abordado los siguientes aspectos:

- Ciclo gonadal (a través de cortes histológicos) y periodo de emisión de gametos.
- Tipo de fecundación (interna o externa) y la existencia de larvas plánulas libres o incubadas.
- Comportamiento de las plánulas y asentamiento de las mismas.
- Existencia o no de reproducción asexual.

4.2. Metodología

Se recogieron pólipos en noviembre de 2007 y marzo y junio de 2008. Cada uno de estos meses se tomaron cinco pólipos por colonia en un total de 10 colonias de la isla Isabel II, a unos 5 m de profundidad. Los pólipos se fijaron en una solución de Bouin para su posterior estudio histológico. A las 48 horas fueron trasladados a alcohol etílico al 50% durante 24 horas a fin de eliminar los restos de la solución fijativo. Posteriormente, los pólipos se conservaron en alcohol al 70% hasta su estudio en el laboratorio de histología del Museo Nacional de Ciencias Naturales.

Para proceder a realizar los cortes histológicos, los pólipos se descalcificaron en EDTA (ácido etilendiaminotetracético) durante al menos siete horas. Posteriormente se realizó la deshidratación en una serie de alcoholes de concentración creciente. De esta forma se eliminan todos los restos de carbonato cálcico. Una vez descalcificados y deshidratados, los pólipos se incluyeron en parafina y se realizaron cortes de 7 μm de grosor siguiendo una secuencia serial desde el polo oral al aboral. Las preparaciones histológicas resultantes fueron coloreadas mediante la emulsión de Mayer y eosina.

En la zona noroeste de la isla Isabel II se delimitó una zona de unos 10 m^2 , entre 3 y 9 m de profundidad) con abundancia de colonias del coral, para su observación detallada mediante *visu* y mediante fotografías con el fin de detectar la posible presencia de larvas plánulas.

4.3. Resultados

Los pólipos sexualmente maduros presentaron sólo células germinales masculinas (espermatoцитos) o femeninas (ovocitos) y no se ha encontrado ninguno con los dos tipos celulares. Asimismo, los pólipos de cada colonia presentaban todos la misma condición sexual (macho o hembra), por lo que se trata de una especie gonocórica.

La maduración gonadal parece producirse durante los meses de primavera y los ovocitos presentaron un tamaño máximo de cerca de 1,5 mm en el mes de junio. La liberación de espermatozoides parece suceder durante los meses de abril y mayo y la fecundación tiene lugar en el interior de los pólipos hembra. Por tanto, se trata de una especie de fecundación interna.

Durante el mes de junio se observaron abundantes larvas plánulas, tanto en las proximidades de las colonias como en el interior de éstas. Estas plánulas son ovaladas y alongadas en el sentido del eje oral-oboral y presentan un vivo color naranja (Figura 33) similar al del coral. Presentan toda su superficie cubierta de cilios (Figura 34) y su tamaño oscila entre 2 y 3 mm.



Figura 33. Larva plánula de *Astroides calycularis*.



Figura 34. Detalle de los cilios presentes en la superficie de las plánulas de *A. calycularis*.

Las larvas plánulas presentan escasa capacidad de natación, suelen desplazarse reptando y se asientan al sustrato unos 30 días después de su liberación de la colonia materna. Por tanto, su capacidad de dispersión parece ser muy reducida.

Una vez asentada la plánula al sustrato, ésta se transforma en el pólipo madre, el cual mediante reproducción asexual por gemación da lugar a una nueva colonia (Figura 35). Por otro lado, las colonias pueden ir aumentando de tamaño (o de número de pólipos) mediante un proceso de sucesivas fisiones de los pólipos (Figura 36), lo que supone otra forma de reproducción asexual.

Por tanto, se puede concluir que *Astroides calycularis* es un coral gonocórico (de sexos separados), con fecundación interna y una fase larvaria plánula con escasa capacidad de dispersión y que se suele asentar cerca de la colonia materna.



Figura 35. Reproducción por gemación del pólipo madre y formación de una nueva colonia de *Astroides calycularis*.



Figura 36. Fisión transversal de un pólipo adulto.

5. ESTUDIO GENÉTICO

5.1. Introducción

En las dos últimas décadas se ha desarrollado de forma muy notoria la biología molecular, lo que ha hecho posible el uso de técnicas muy precisas de caracterización del ADN. Ello, a su vez, ha contribuido de forma muy notable al entendimiento de muchos aspectos de la evolución de las especies marinas y de sus parámetros poblacionales.

La eficacia del flujo génico entre poblaciones determina la variabilidad de las mismas y su estructuración, y ello constituye la finalidad básica en los estudios de recuperación y manejo de las especies amenazadas. Una capacidad de dispersión limitada tenderá a favorecer las diferencias genéticas entre poblaciones.

En el Mediterráneo la mayor parte de los estudios genéticos realizados se centran sobre todo en peces o en especies de invertebrados con valor comercial. En lo que se refiere a los corales, sólo se ha estudiado hasta ahora desde el punto de vista genético una especie solitaria, *Balanophyllia europea*, mediante electroforesis enzimática (GOFFREDO ET AL., 2004).

Los objetivos concretos que se han perseguido con el presente estudio son los siguientes:

- 1) caracterizar genéticamente la especie *Astroides calycularis* en base a la secuenciación de genes mitocondriales y nucleares.
- 2) cuantificar la diferenciación a escala macro y microgeográfica mediante el análisis de regiones microsatélites,
- 3) estimar los parámetros poblacionales indicadores de su condición genética (polimorfismo, heterocigosis, número teórico de migrantes, etc.),
- 4) establecer patrones de correlación entre las características de la biología reproductora y el flujo génico entre sus poblaciones.

Como objetivo final de todo lo anterior, se persigue la aplicación de los resultados obtenidos a la conservación, con la propuesta de planes para el manejo, gestión, recuperación y conservación de este coral.

5.2. Material y métodos

5.2.1. Recolección de ejemplares

Para el estudio general de caracterización de la especie se utilizaron ejemplares de 12 localidades repartidas por el área de distribución de la especie, desde el estrecho de Gibraltar hasta el golfo de Nápoles (ver Tabla II y Figura 37). Todos los ejemplares se recogieron en el mismo horizonte batimétrico en torno a los 3-5 m de profundidad. Se recogieron pólipos de diferentes colonias distantes entre ellas por lo menos 5 m.

Para el estudio intrapoblacional en las islas Chafarinas con marcadores microsatélites se utilizaron 68 ejemplares procedentes de las distintas islas (22 de Rey Francisco, 22 de Congreso y 24 de Isabel II), más otros 23 especímenes de referencia, procedentes del Cabo de Gata.

Tabla II. Poblaciones y ejemplares analizados para cada gen. N= número de pólipos analizados.

POBLACIÓN	Nº REFERENCIA EN MAPA	N	
		COI	ITS
Tánger/Marruecos	1	10	9
Isla Perejil /España	2	8	9
Monte Hacho /España	3	7	7
Cabo Negro /Marruecos	4	8	8
Tarifa/España	5	2	2
Cabo Tres Forcas /España	6	10	10
Islas Chafarinas /España	7	4	3
Granada/España	8	8	9
Murcia/España	9	2	2
Islas Eólicas/Italia	10	2	2
Isla de Capri/Italia	11	4	2
Massa Lubrense/Italia	12	2	2

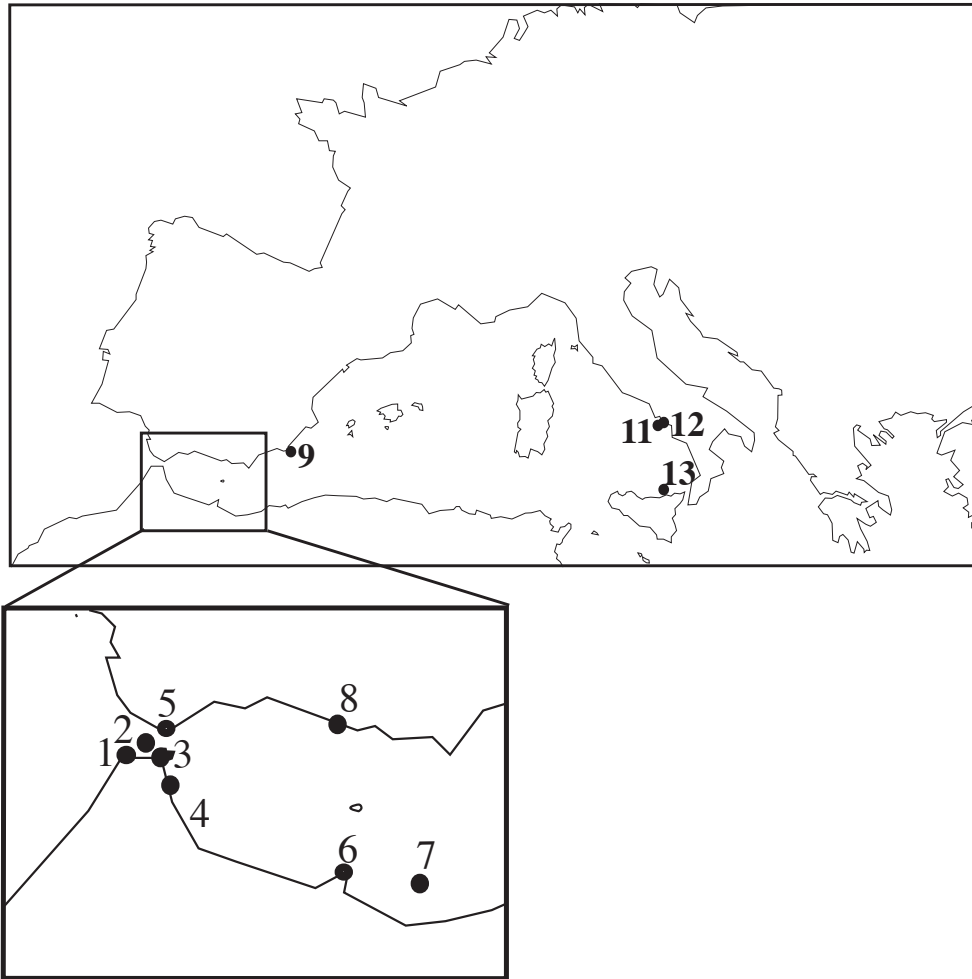


Figura 37. Localidades de procedencia de los ejemplares analizados para COI e ITS. Los números se corresponden con los de la Tabla II.

5.2.2. Análisis de laboratorio

El ADN total se extrajo de los pólipos fijados en alcohol absoluto. Para el estudio general de la caracterización genética se analizaron el gen mitocondrial citocromo oxidasa subunidad I (COI) y la region nuclear ribosomal “*internal transcribed spacers*” (ITS1+5.8S+ITS2= ITS). Las secuencias parciales fueron amplificadas mediante los siguientes cebadores o *primers*: LCO1490 5'-GGT CAA CAA ATC ATA AAG ATA TTG G-3' y COI-H 5'-TCA GGG TGA CCA AAA AAT CA-3'; ITS2.1 5'-CGT AGG TGA ACC TGC GGA AGG ATC-3' y ITS2.2 5'-CCT GGT TAG TTT CTT TTC CTC CGC-3'.

Los fragmentos amplificados (unos 700 pares de bases) fueron purificados mediante precipitación en etanol y secuenciados con “BigDye Terminator” (Applied Biosystems, ABI). Las secuencias fueron corridas en geles en un ABI 3730 *genetic Analyzer* (Applied Biosystems).

Dados los resultados obtenidos, pusimos a punto 4 marcadores microsatélites para contar con herramientas que pudieran mostrarnos variaciones a una menor escala que la anteriormente utilizada. De esta forma, se amplificó el ADN extraído con los siguientes cebadores, marcados con distintos fluorocromos:

Ac-L7-F: **6FAM**-CAAGCTGGTGATTATGACAAATG

Ac-L7-R: TGAAGTCGAAAGTGTGCATGT

Ac-L7E-AC-F: **NED**-TGTTGTGAAACCCAAACCAA

Ac-L7E-AC-R: GTCGGCTTCCCTGAAAATA

Ac-L10-F: **VIC**-GCTTTCGTGGAGCAGTTCAT

Ac-L10-R: CTGCCCAAATGTACAATGC

Ac-L11-F: **PET**-TATCATCGCGTGAGTTGCTC

Ac-L11-R: TCACATCGCCATGCTTATTT

5.2.3. Análisis de las secuencias y genotipos de microsatélites

Las secuencias de ADN obtenidas para cada ejemplar fueron alineadas y revisadas por medio del programa *Sequencher* (*Gene Code*) después de eliminar las regiones de los *primers*. Asimismo, se efectuó una búsqueda en el GenBank, a fin de utilizar el grupo externo más adecuado. Las secuencias más próximas de las existentes en el GenBank fueron las de *Porites astreoides* (nº acceso GenBank AY451379) para el COI y *Tubastrea aurea* (nº acceso GenBank AY722796) para el ITS. En los análisis conjuntos para ambos genes se usó *Tubastrea* sp. como grupo externo (nº acceso GenBank DQ 445807 para el COI y AY722796 para el ITS).

Se realizó primero el análisis para cada gen por separado y, posteriormente la congruencia entre la topología de dichos árboles fue

evaluada mediante el test de “partition homogeneity” de PAUP* (MICKEVICH Y FARRIS, 1981; FARRIS *ET AL.*, 1994). La saturación de nucleótidos fue evaluada mediante la comparación del número de transiciones y transversiones con respecto al valor de divergencia en tanto por ciento. El análisis de las secuencias se basó en los principios de máxima parsimonia (*maximum parsimony*, MP), vecino más próximo (*neighbour-joining*, NJ) y máxima verosimilitud (*maximum likelihood*, ML), así como en los principios Bayesianos. El modelo evolutivo que mejor se ajustaba a nuestros datos se seleccionó con el programa Modeltest 3.06. El análisis de máxima verosimilitud se llevó a cabo mediante búsqueda heurística. Por último, estimamos el soporte en los análisis fenéticos y de parsimonia mediante “*bootstrapping*” (1000 repeticiones) (FELSENSTEIN, 1985). Asimismo, para testar la estructura genética de las variaciones halladas, usamos NCPA (PANCHAL, 2006), aplicando los principio de los clados anidados y su relación con la distribución geográfica.

Los resultados de los microsatélites se analizaron con los programas GenMapper, GenPop y GenAlex, para la visualización de los cromatogramas y cálculos de parámetros genéticos como la comprobación de la existencia de equilibrio según la ley de Hardy-Weinberg, el polimorfismo, heterozigosis, diferenciación entre las distintas poblaciones o grado de identidad entre las mismas.

5.2. Resultados

5.2.1. Estudio macrogeográfico. COI e ITS.

De los 1334 caracteres obtenidos (658 del gen COI y 676 para la región ITS), 1201 (90,03%) resultaron constantes y 100 fueron variables pero no informativos desde un punto de vista de parsimonia (=caracteres autapomórficos o caracteres propios de una única población o individuo). Por tanto, sólo 33 caracteres resultaron informativos. De acuerdo con las posiciones del COI, el más informativo fue el tercer codón y todas las

sustituciones fueron sinónimas. La secuencias de bases resultó homogénea en todas las poblaciones estudiadas. Las proporciones empíricas de los diferentes nucleótidos fueron: A = 0.232, C = 0.209, G = 0.251, T = 0.306.

En lo que se refiere a la región ITS, ésta mostró más variabilidad que el COI. Los segmentos más variables dentro del grupo interno fueron los de las posiciones: 374-390, 480-493, 568-588, y otros como 783, 819, 849, 882, 936, 1008, 1026, 1062 y 1120. Los primeros intervalos corresponden a la región ITS y el resto al COI. En total se analizaron 67 secuencias para el COI y 55 para el ITS, de las cuales 45 representaban datos de ambos genes para sus respectivos ejemplares.

La divergencia entre el grupo externo (*Tubastrea* sp.) y el interno varió del 1,28% para el COI (con respecto a los ejemplares de Italia) y el 7,33% para el ITS. El porcentaje de divergencia entre los 8 haplotipos diferentes de *Astroides calycularis*, excluyendo el grupo externo, osciló entre el 0% para ejemplares pertenecientes a la misma población y el 1,39% (para el COI) o el 2,06% (para el ITS) entre los ejemplares de Italia (Massa Lubrense en el golfo de Nápoles) y los procedentes de Murcia. Entre los ejemplares del Mediterráneo occidental (de Marruecos y de la península Ibérica), la población estudiada de Murcia presentó las mayores divergencias con respecto a las otras.

Dado que el test de homogeneidad no mostró diferencias significativas ($p= 0,29$) entre los datos correspondientes al COI y los del ITS, el análisis de las secuencias de ambos genes se presenta de manera conjunta. El modelo que mejor se ajusta a la matriz global fue el “*Transversional model with equal base frequencies*” (TVM+I, fue $I= 0.84$).

El árbol filogenético (Figura 38) muestra la relación entre los 8 haplotipos diferentes encontrados. El principal cluster (Figura 38, nodo 6) representa ejemplares procedentes de las costas de la península Ibérica y poblaciones del norte de África. En la base de este grupo, la población del este ibérico (Murcia) presentó la mayor divergencia con respecto al resto de ejemplares, lo que se corresponde con el mayor alejamiento geográfico entre ellos. Por otro lado, los ejemplares de Italia mostraron en un área más pequeña un mayor número de haplotipos, los cuales se agrupan sin mostrar una relación

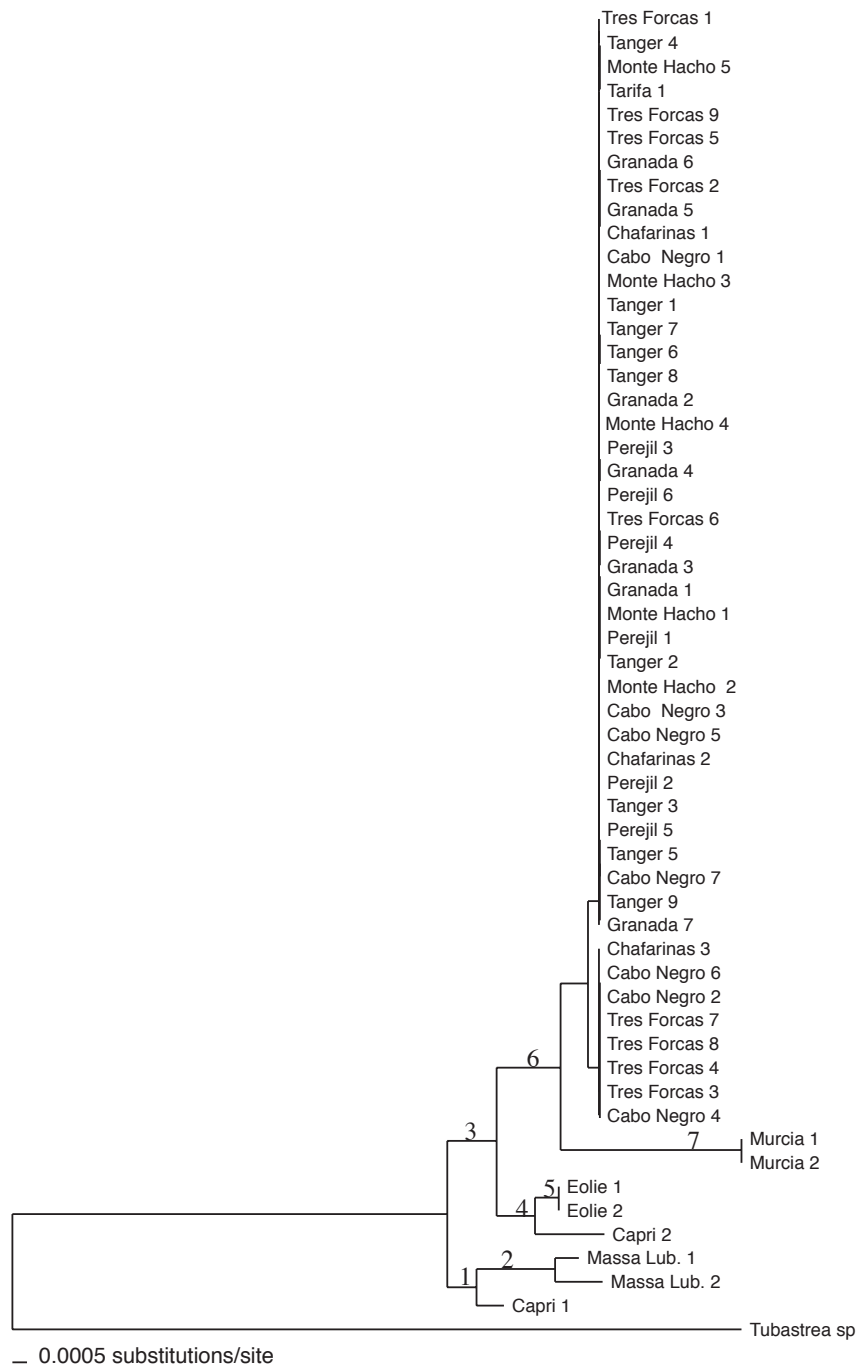


Figura 38. Hipótesis filogenética basada en las secuencias de COI e ITS. Los números sobre las ramas indican los distintos grupos sobre los que se habla en el texto.

con respecto a su posición geográfica. Así, los ejemplares de Massa Lubrense y las Eólicas se agruparon juntos, mientras que las dos poblaciones de Capri aparecen en diferentes grupos. El soporte para los principales nodos fue alto sólo para las ramas terminales. La escasa variación resultante (sólo 33 caracteres informativos, contando los huecos, y 23 sin contarlos), es determinante de este escaso soporte.

En el estudio filogeográfico y en los análisis genéticos usamos los “clados anidados” (“nested clade análisis”, NCA) sobre la red de haplotipos (Figura 39). Dicha red fue convertida en una red de clados anidados, siguiendo las reglas propuestas por TEMPLETON (2004) y aplicadas al programa NCPA (PANCHAL, 2006).

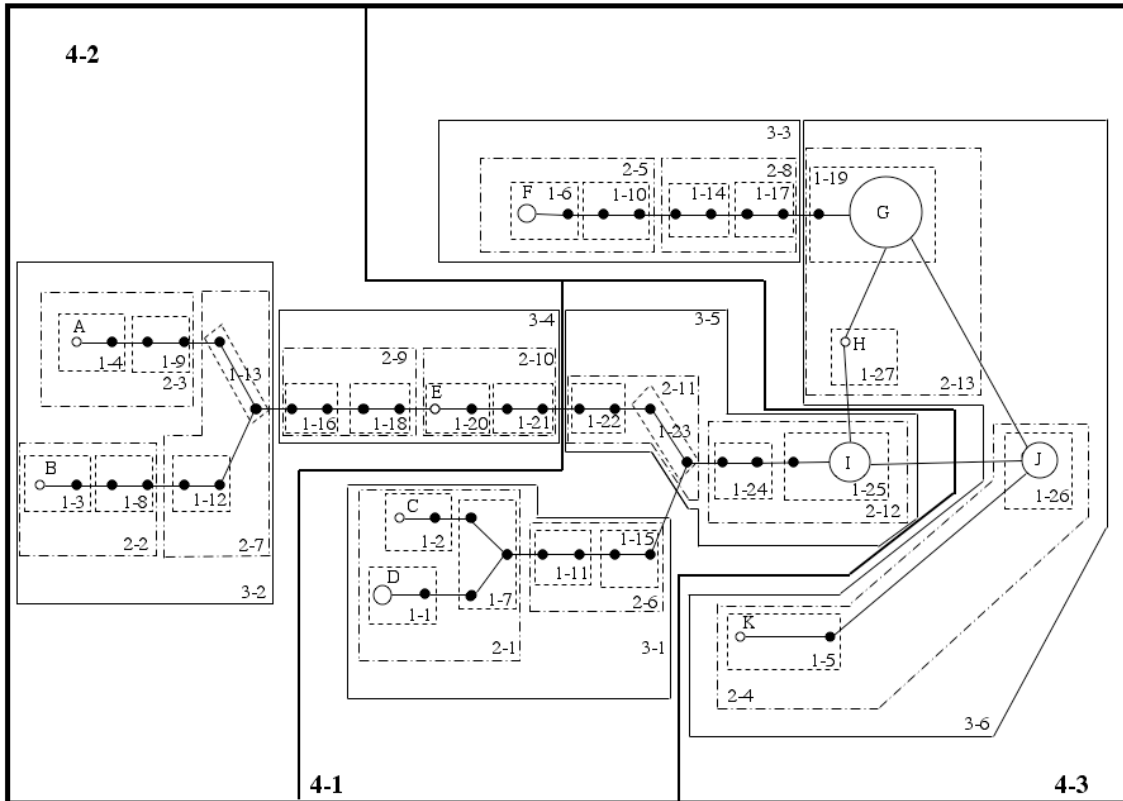


Figura 39. Los círculos blancos indican haplotipos encontrados en nuestras muestras y los negros, los teóricos haplotipos intermedios, no encontrados, inferidos por el tratamiento de datos. Se representan todos los clados, indicando el nivel al que corresponden y las letras indican los haplotipos a los que corresponden: **A**: Massa Lubrense1; **B**: Massa Lubrense2; **C**: Capri3; **D**: Eólidias1, Eólidias4; **E**: Capri1; **F**: Murcia1, Murcia2; **G**: Chafarinas1, Chafarinas2, Tres Forcas6, Tres Forcas11, Monte Hacho2, Monte Hacho3, Monte Hacho6, Monte Hacho9, Perejil2, Perejil3, Perejil5, Perejil6, Perejil9, Perejil10, Cabo Negro1, Cabo Negro8, Cabo Negro9, Cabo Negro10, Granada2, Granada3, Granada6, Granada 8, Granada9, Granada 10, Granada11, Tánger1, Tánger2, Tánger3, Tánger7, Tánger9, Tánger10, Tánger12, Tánger13; **H**: Cabo Negro6; **I**: Chafarinas3, Tres Forcas4, Tres Forcas7, Tres Forcas8, Tres Forcas12, Cabo Negro2, Cabo Negro9; **J**: Tarifa1, Tres Forcas5, Tres Forcas9, Tres Forcas10, Monte Hacho7; **K**: Tánger6.

El análisis NCA mostró una red de haplotipos organizada a diferentes niveles, siendo los primeros cinco niveles los más simples y el quinto el que reúne la serie completa de haplotipos. Observando la red final resultante (Figura 39), encontramos en el nivel 1 que todos los haplotipos incluidos en el grupo del Mediterráneo occidental (costas de Marruecos y de España)

estaban directamente relacionados formando un grupo homogéneo, con ausencia de haplotipos intermedios no identificados, con excepción del haplotipo K (de Tánger) y el F (de Murcia), existiendo 1 y 8 pasos intermedios (diferencias en las secuencias), respectivamente. Las mayores diferencias se observaron con respecto a los haplotipos del grupo más oriental (poblaciones italianas), habiéndose encontrado entre 5 y 14 pasos intermedios o diferencias entre ellos y el resto. Los dos haplotipos más estrechamente relacionados de las dos áreas geográficas mostraron 10 pasos intermedios.

En el nivel 2 encontramos asociados los haplotipos de las islas Eólicas (D) y uno de Capri (C). Algunos clusters incluyen haplotipos de ambos lados del estrecho de Gibraltar, como el cluster 2-13 que incluye el haplotipo G (el más ampliamente distribuido en el grupo del Mediterráneo occidental, desde la localidad marroquí de Cabo Negro), y el cluster 2-4 con dos haplotipos minoritarios observados en Tánger, Tarifa, Tres Forcas y Monte Hacho.

En el nivel 3 todos los haplotipos del grupo occidental, excepto el I y el F, aparecen en el cluster 3-6. El grupo oriental aparece dividido en diferentes subgrupos (clusters 3-1, 3-2 y 3-4). El cuarto nivel de asociación denota un salto geográfico, ya que todos los haplotipos occidentales aparecen en el cluster 4-3, el haplotipo I en el 4-1, aunque incluso un solo paso diferencia los haplotipos I con respecto al H o al J, haplotipos encontrados en la misma área. De hecho, este haplotipo I aparece en el cluster 4-1 junto con el D (de las Eólicas) y el C (de Capri).

En definitiva, dos de los tres clusters de cuarto orden incluyen haplotipos sólo pertenecientes a Italia, por un lado, o a España/Marruecos, por otro, mientras que el tercero incluye ejemplares de las dos áreas geográficas. Esto es especialmente patente para las poblaciones de Chafarinas, que precisamente aparecen en dos grupos: haplotipos "G" e "I", que se engloban en dos clusters distintos, 1-19 y 1-25 en los de primer orden, pero son aún más distinguidos en los siguientes agrupamientos, 2-13 y 2-12 respectivamente, hasta 4-1 y 4-3. Hay que tener en cuenta que estos tratamientos proponen relaciones entre los haplotipos encontrados, pero estas relaciones podrían ser de otro tipo si unimos los haplotipos G, H e I de una forma más directa, puesto que realmente sólo se distinguen por un único cambio en la secuencia.

En todo caso, vemos que los dos haplotipos encontrados en Chafarinas no se diferencian de los de otras localidades como Tres Forcas, Perejil, Cabo Negro, Granada o Tánger.

5.2.2. Estudio microgeográfico. Marcadores microsatélites.

Tras estos resultados, se procedió a estudiar la variación existente en los 4 microsatélites puestos a punto para esta especie. En las siguientes figuras pueden observarse los perfiles obtenidos para 4 individuos para cada uno de los loci microsatélites, que fueron marcados con distinto fluorocromo: VIC, verde, para el locus Ac-L10 (Figura 40), NED, para el locus Ac-7E-AC (negro en la Figura 41), PET, rojo, para el locus Ac-L11 (Figura 42) y finalmente 6-FAM, azul, para el Ac-L7 (Figura 43).

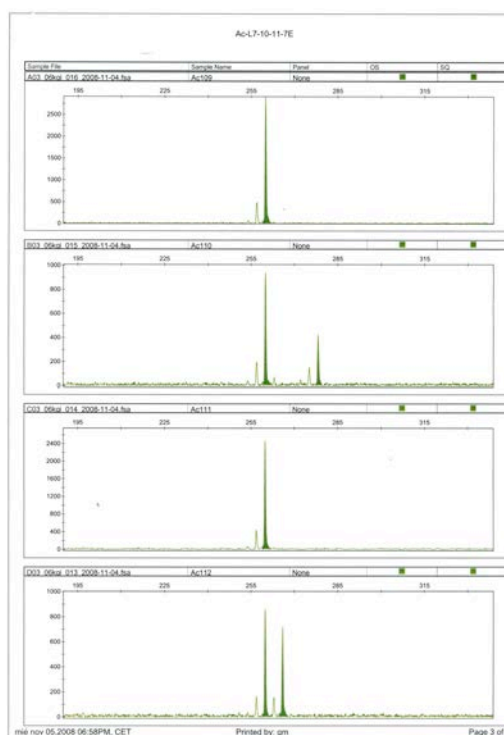


Figura 40. Se representan aquí los genotipos de 4 individuos (Ac109 a 112) para el locus Ac-L10. El primero y el tercero son homocigotos, mientras que el segundo y el cuarto son heterocigotos para este locus. Todos comparten un alelo (el que denominamos “260”).

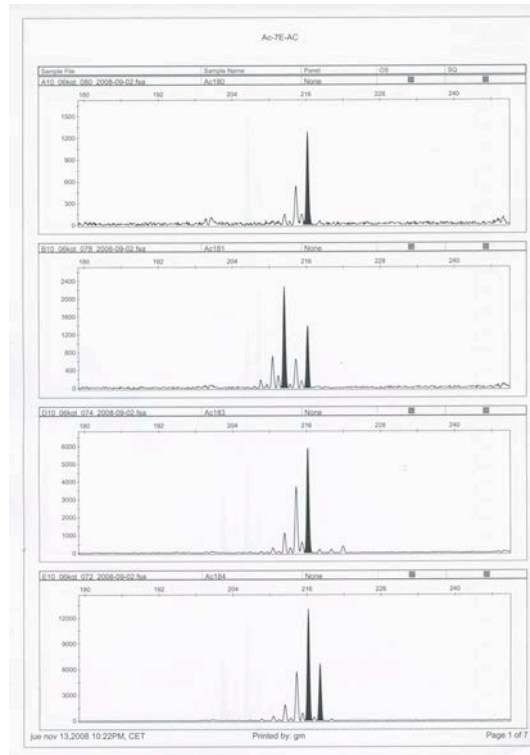


Figura 41. Locus AC7E-AC: cuatro perfiles (individuos Ac180 a 184). Como en la figura anterior, los individuos primero y tercero son homocigotos para este locus, mientras que el segundo y el cuarto son heterocigotos. También en esta ocasión los cuatro individuos comparten un alelo, en este caso el “216”.

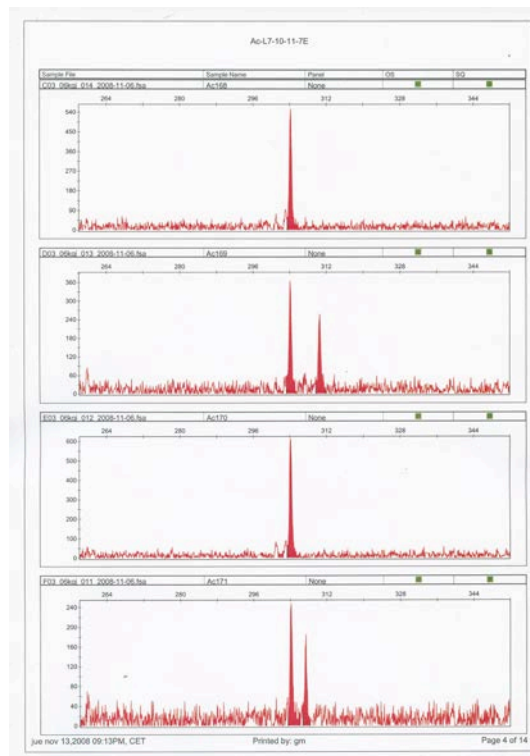


Figura 42. Locus Ac-L11. Caso idéntico a los anteriores (en cuanto al número de homocigotos/heterocigotos). El alelo compartido aquí es el “304”.

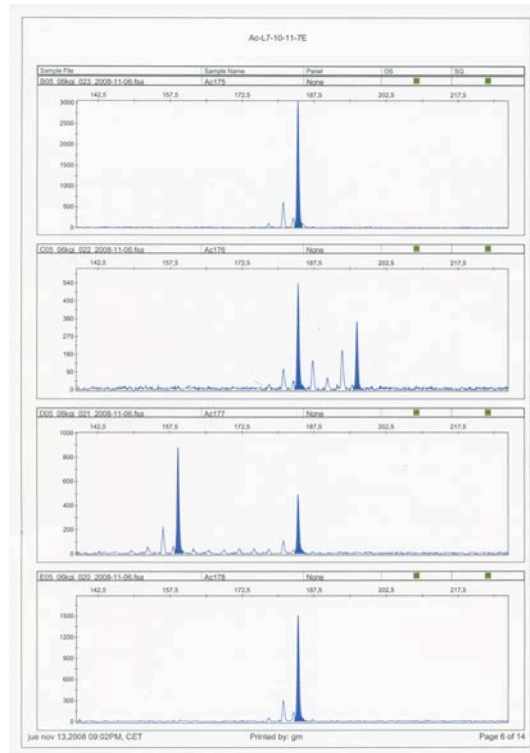


Figura 43. Locus Ac-L7. Primer y último individuos resultaron homocigotos, mientras que el segundo y el tercero, heterocigotos: en un caso tenía un alelo mayor que el común (el “184”), mientras que el tercer individuo tenía, además del común, otro de menor tamaño.

Los cuatro loci analizados mostraron, en general, un equilibrio en las frecuencias genotípicas según lo esperado de cumplirse la ley de Hardy-Weinberg, con lo que parecen mostrarse como poblaciones de reproducción sexual, donde el cruzamiento ocurre al azar y hay un equilibrio entre mutación y migración (Tabla III).

A pesar de ese “equilibrio” general, hay que destacar que hay dos loci, el Ac-L11 y el Ac-L7, en Congreso e Isabel II respectivamente, que muestran un desacuerdo con la ley mencionada. Este desequilibrio se debe a un cierto déficit de heterocigotos, aunque en el segundo caso, quizá sólo se deba a un muestreo insuficiente, ya que el locus tiene numerosos alelos en la población. Es de destacar también que, si bien la Isla de Congreso es una de las que presenta mayor riqueza alélica (Tabla IV), el locus Ac-L10 sólo haya

Tabla III. Valores obtenidos en la comprobación de equilibrio en las frecuencias genotípicas, según Hardy-Weinberg. ns=no significativo, *** P<0.001.

Población	Locus	Grados libertad	Probabilidad	Significación
Cabo de Gata	AcL7	1	0,392	ns
Cabo de Gata	AcL7E	1	0,911	ns
Cabo de Gata	AcL10	3	0,952	ns
Cabo de Gata	AcL11	3	0,354	ns
Rey Francisco	AcL7	10	1,000	ns
Rey Francisco	AcL7E	15	0,447	ns
Rey Francisco	AcL10	3	0,974	ns
Rey Francisco	AcL11	10	0,999	ns
Congreso	AcL7	15	1,000	ns
Congreso	AcL7E	10	0,070	ns
Congreso	AcL10		Monomórfico	
Congreso	AcL11	6	0,000	***
Isabel II	AcL7	21	0,001	***
Isabel II	AcL7E	15	0,996	ns
Isabel II	AcL10	10	1,000	ns
Isabel II	AcL11	1	0,533	ns

presentado un alelo. Esto puede representar una cierta selección positiva para este alelo en esta población o, quizá más plausible sea considerar que la población pasó en cierto momento por un cuello de botella, un descenso drástico de los efectivos de su población y hubo una pérdida de riqueza alélica. En todo caso, y como normal general, podemos destacar el mayor número de alelos y heterozigosis en las poblaciones de Chafarinas que en la de Cabo de Gata (Tabla IV).

Tabla IV. Parámetros genéticos de las poblaciones analizadas. N= número de individuos analizados, Na= número de alelos encontrados, Ho= heterozigosis observada, He= heterozigosis esperada y F= parámetro de fijación.

Población		Locus			
		AcL7	AcL7E	AcL10	AcL11
Cabo de Gata	N	23	21	23	22
	Na	2	2	3	3
	Ho	0,348	0,048	0,217	0,636
	He	0,423	0,046	0,199	0,492
	F	0,179	-0,024	-0,090	-0,294
Rey Francisco	N	22	21	22	22
	Na	5	6	3	5
	Ho	0,227	0,524	0,182	0,409
	He	0,211	0,621	0,168	0,347
	F	-0,078	0,157	-0,080	-0,179
Congreso	N	22	22	22	22
	Na	6	5	1	4
	Ho	0,273	0,591	0,000	0,136
	He	0,250	0,552	0,000	0,379
	F	-0,091	-0,071	---	0,640
Isabel II	N	24	21	24	24
	Na	7	6	5	2
	Ho	0,333	0,714	0,292	0,375
	He	0,395	0,601	0,264	0,430
	F	0,156	-0,189	-0,105	0,127

Aunque los resultados han de considerarse preliminares por deducirse de únicamente 4 loci, estos nos han permitido comprobar, además, que si bien la mayor parte de la variabilidad observada se debe a la diferenciación encontrada dentro de cada población (las 3 de las islas Chafarinas y la de Cabo de Gata), como podría esperarse de un marcador muy variable y poblaciones próximas, otra parte importante de la variación genética se debe a la diferenciación entre los dos grupos considerados (el 41% cuando enfrentamos Cabo de Gata *versus* islas Chafarinas) (Figura 44). Puede igualmente comprobarse que las tres poblaciones consideradas en Chafarinas únicamente se distinguen en un 1%.

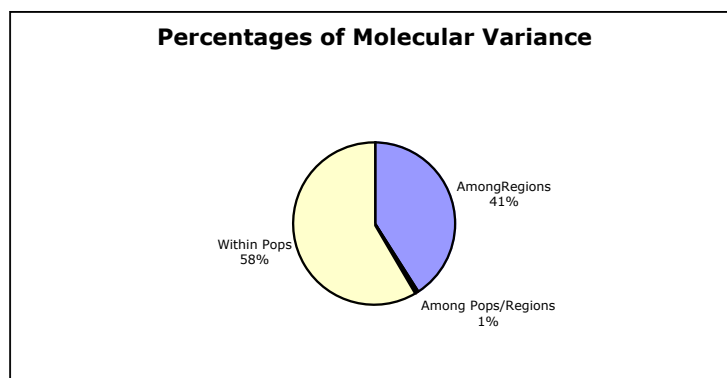


Figura 44. Análisis de AMOVA (análisis molecular de la varianza) de las 4 poblaciones analizadas, considerando dos grupos: por una parte la población de Cabo de Gata y, por la otra, las 3 poblaciones de Chafarinas.

De hecho, en una clasificación de los individuos realizada sin tener en cuenta su procedencia, es decir, considerando todos los individuos juntos y asignándolos a las 4 poblaciones según su genotipo compuesto (con los 4 loci analizados), observamos que si bien no resulta posible clasificar adecuadamente los ejemplares analizados de las 3 poblaciones de Chafarinas (distinguir exactamente su isla de procedencia), sí puede identificarse éstos respecto de la población de Cabo de Gata (Figura 45). De hecho, mientras que 16, 13 o sólo 3 de los 22, 24 y 22 ejemplares analizados de Congreso, Isabel II y Rey Francisco respectivamente eran asignados correctamente a su población de referencia, sólo 4 de los 23 de Cabo de Gata eran asignados de forma incorrecta (es decir, 19 fueron clasificados adecuadamente). Además, los ejemplares mal asignados a las islas de Chafarinas, lo eran siempre “equivocando” la isla dentro del Complejo de Chafarinas, excepto en dos únicos casos de 68 posibles, donde esos dos ejemplares se consideraron procedentes de Cabo de Gata. Esta incorrecta asignación podría corresponder a individuos migrantes, aunque la posibilidad de grandes migraciones de las larvas parece descartado, los análisis muestran cómo más de un posible migrante podría llegar desde Cabo de Gata hasta las Chafarinas, mientras que los valores encontrados entre las 3 islas es casi 20 veces superior.

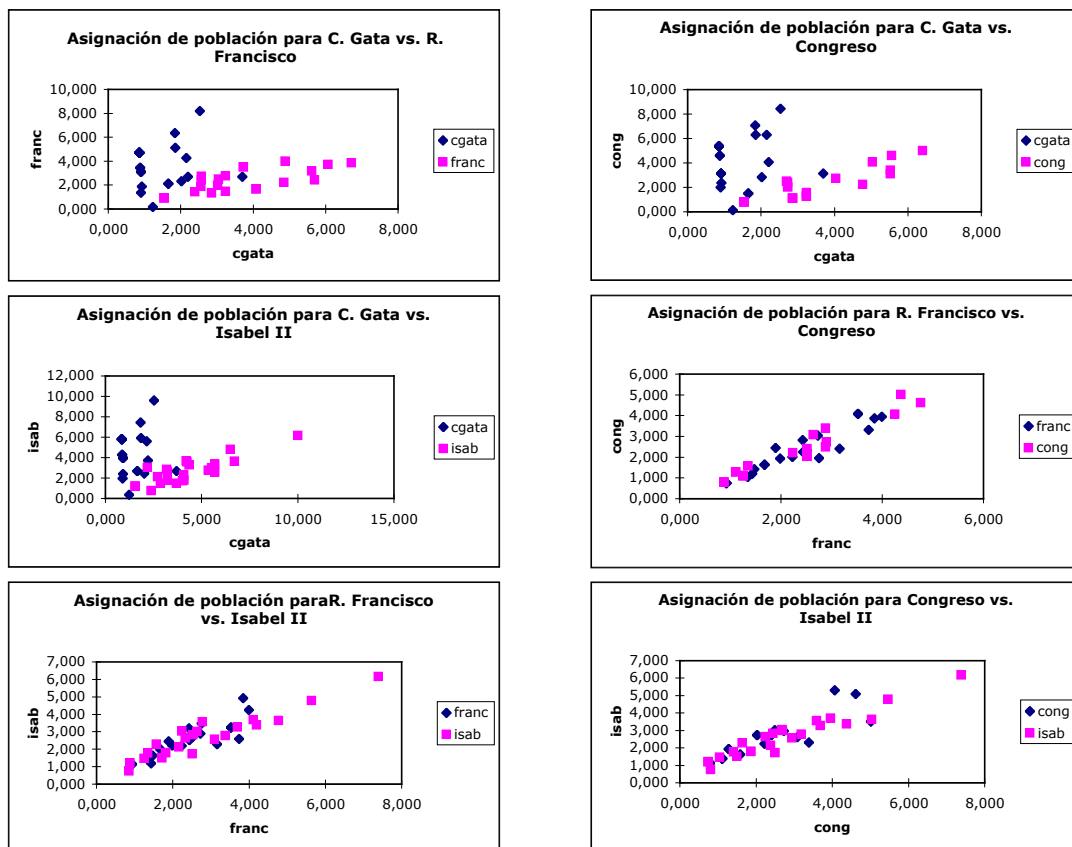


Figura 45. Asignación de los 91 ejemplares a cada una de las poblaciones, en comparaciones dos a dos.

De hecho, si consideramos las distancias genéticas de Nei que resultan de las frecuencias alélicas encontradas, la diferencia es al menos 13 veces mayor entre las islas de Chafarinas y Cabo de Gata que entre las primeras entre sí (Tabla V).

Tabla V. Distancias de Nei entre las distintas poblaciones analizadas

	C. Gata	R. Francisco	Congreso	Isabel II
C. Gata	0,000			
R. Francisco	0,223	0,000		
Congreso	0,208	0,006	0,000	
Isabel II	0,224	0,017	0,015	0,000

5.3. Discusión

Por primera vez se ha estudiado la estructura genética de un coral escleractinio del Mediterráneo utilizando marcadores de ADN. En un trabajo anterior GOFFREDO *ET AL.* (2004) estudiaron el coral solitario coral *Balanophyllia europaea* mediante marcadores de alozimas.

De acuerdo con la escasa capacidad de dispersión que parece mostrar *Astroides calycularis* (véanse los resultados obtenidos del estudio de la reproducción), cabría esperar que en esta especie el flujo génico sólo fuera posible entre áreas geográficas contiguas, con una consecuente correlación genética decreciente según aumenta la distancia entre ellas. Sin embargo, no se ha encontrado relación entre la distancia geográfica entre poblaciones y su grado de diferenciación genética en *Astroides calycularis* a pequeña escala.

No se han encontrado diferencias significativas entre los ejemplares analizados procedentes del sur de la península Ibérica y norte de África. Posiblemente la continuidad geográfica de todas estas poblaciones ha posibilitado una dispersión “paso a paso” y un flujo génico entre todas ellas, al menos hasta épocas recientes. Sin embargo, sí se han encontrado diferencias entre todas estas últimas poblaciones y aquellas otras separadas geográficamente (las de Murcia, en el SE de España, y las italianas). Existe una notoria discontinuidad geográfica entre las poblaciones que se distribuyen de una manera más o menos continua por el mar de Alborán (allá donde se encuentran sustratos y condiciones apropiadas) y las de Murcia. Probablemente el frente oceanográfico Almería-Orán constituya una barrera infranqueable par las larvas plánulas de este coral. Las poblaciones de Murcia podrían ser relictas de una distribución en el pasado más amplia o el resultado de una dispersión reciente de tipo excepcional. Las diferencias genéticas encontradas en estas poblaciones murcianas parecen indicar lo primero.

Por el contrario, no se han encontrado diferencias genéticas significativas a ambos lados del estrecho de Gibraltar, tanto en el sentido norte-sur como en el eje este-oeste. Hoy día parece muy improbable que

pueda existir un flujo génico entre las poblaciones peninsulares y africanas del Estrecho por las fuertes corrientes que lo cruzan. Las larvas plánulas no están habilitadas para cruzar en estas condiciones de corrientes en el sentido oeste-este la distancia mínima de 12 km que supone dicho estrecho. Por tanto, la homogeneidad genética entre todas estas poblaciones parece responder a un flujo génico que ha debido mantenerse hasta fechas relativamente recientes en épocas de glaciaciones con un nivel del mar muy inferior al actual. Hace 20.000 años, con la última glaciación, el nivel del mar llegó a situarse 120 m por debajo del actual, por lo que en esta época sí podía ser factible el flujo génico entre las poblaciones de ambos márgenes del Estrecho.

Por otro lado, es de reseñar la extremadamente baja diferenciación encontrada a nivel intrapoblacional en el estudio del gen mitocondrial COI y de la región ITS. Esto puede deberse a que en la historia reciente de estas poblaciones pueden haber experimentado eventos de reducción extrema del tamaño de sus poblaciones durante las últimas glaciaciones.

En cualquier caso hay que reseñar que los genes mitocondriales muestran unas tasas de variación a nivel evolutivo muy lentas en los corales (en nuestro estudio el gen nuclear ITS mostró unas tasas de variación tres veces superiores a las del gen mitocondrial COI).

Por ello, es preciso desarrollar marcadores microsatélites para el estudio de las variaciones intrapoblacionales y para determinar si en la actualidad las poblaciones se hallan en alarmante regresión o en recuperación tras una reducción muy drástica de sus efectivos en épocas recientes. Los primeros resultados presentados aquí, aunque basados en sólo 4 loci, parecen indicar que efectivamente estos marcadores van a ser de gran utilidad en el análisis del estado genéticos de las poblaciones y, por tanto, de las medidas que deben tomarse de cara a su conservación.

De esta forma, hemos podido comprobar con los datos procedentes de estos marcadores, la diferenciación antes no detectada entre Cabo de Gata y Chafarinas, la variabilidad existente dentro y entre las poblaciones de Chafarinas, la existencia de alelos únicos en estas poblaciones, la posible existencia de flujo más allá de lo supuesto inicialmente y que podemos, tomando estos datos en conjunto, clasificar adecuadamente los ejemplares

con respecto a sus poblaciones de origen. Debemos incidir, nuevamente, en que estos datos se basan en únicamente 4 loci, y que sería necesario ampliar netamente este número para que las deducciones puedan considerarse significativas. En este sentido seguimos trabajando, intentando aislar nuevos microsatélites polimórficos que permitan cuantificar sin error los parámetros aquí apuntados y afirmar con más rigor lo aquí señalado. Sería igualmente necesario incluir poblaciones próximas a Chafarinas y más alejadas también, para comprobar el comportamiento de las distintas poblaciones y la relación genética existente entre todas ellas, de cara a determinar la evolución que podría seguir la especie y cómo podrían afectar distintos parámetros, como la desaparición o reducción drástica de los especímenes de algunas de ellas, para prever cómo el empobrecimiento que están sufriendo las poblaciones va a influir en su futuro.

5. CARACTERIZACIÓN DEL CNIDOMA

5.1. Metodología

Las muestras destinadas a este estudio fueron anestesiadas con cristales de mentol y fijadas posteriormente en formol al 8%. Posteriormente, en el laboratorio se realizaron preparaciones microscópicas de las distintas partes de los pólipos (tentáculos, faringe, filamentos mesentéricos y pared del cuerpo), usando gel de glicerina (según la metodología de OCAÑA, 1994). Los nematocistos se estudiaron y fotografiaron utilizando un microscopio óptico dotado con el sistema Nomarski (“*differential interference contrast optic system*”). La clasificación y nomenclatura de los nematocistos que se sigue es la propuesta por SCHMIDT (1972, 1974) y adaptada por DEN HARTOG (1980) y den HARTOG *ET AL.* (1993).

5.2. Resultados

Las observaciones obtenidas sobre el cnidoma de *Astroides calycularis* se muestran en los cuadros que siguen (Figuras 46 a 49). Por otro lado, los resultados obtenidos se resumen en la Tabla VI, en la cuales se dan los rangos de variación de las medidas de longitud y anchura de los diferentes tipos de nematocistos en las distintas partes del cuerpo. Aunque las frecuencias que se dan proceden de apreciaciones subjetivas basadas en lo observado en las preparaciones, nos dan una idea de la abundancia relativa de los distintos tipos de nematocistos.

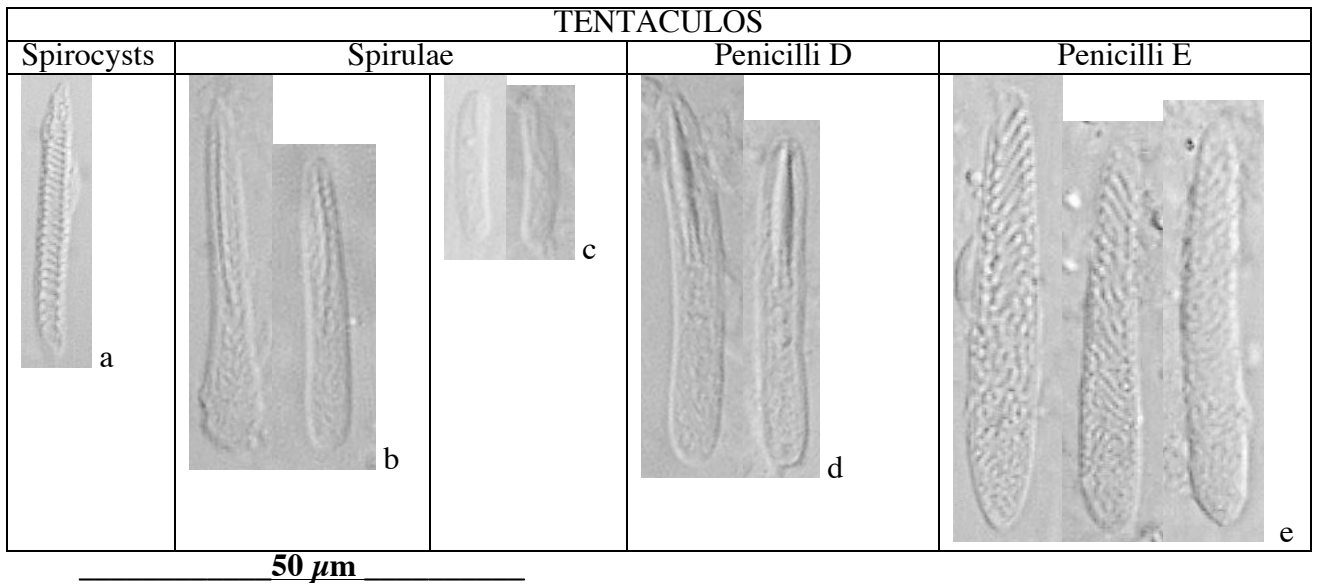


Figura 46. Tipos de nematocistos presentes en los tentáculos. Las letras corresponden con lo indicado en la Tabla VI.

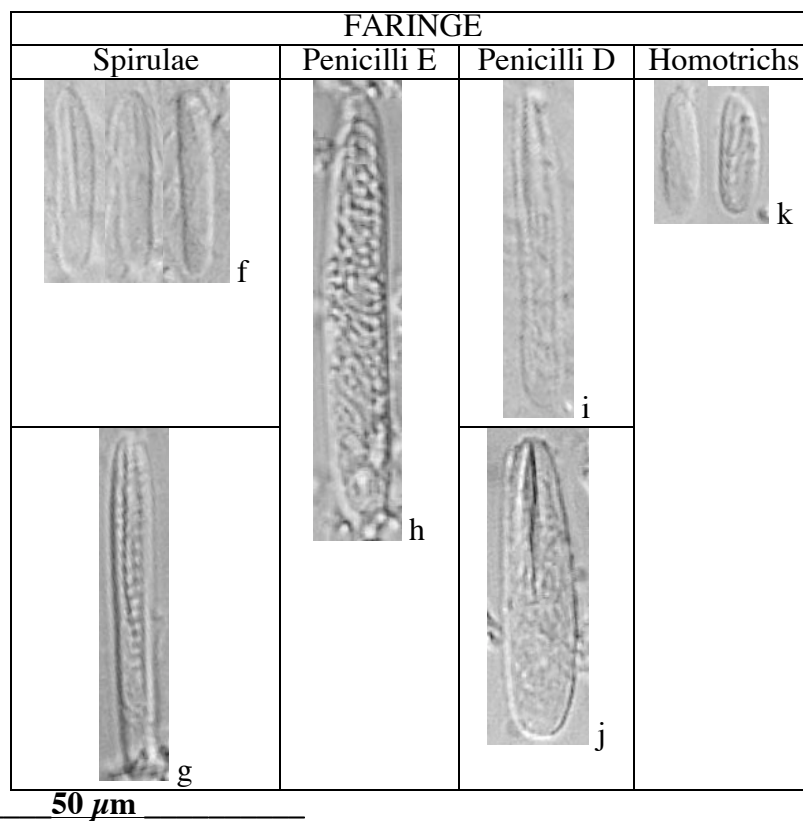


Figura 47. Tipos de nematocistos presentes en la faringe. Las letras corresponden con lo indicado en la Tabla VI.

FILAMENTOS			
Spirulae	Penicilli D	Penicilli E	Homotrachs

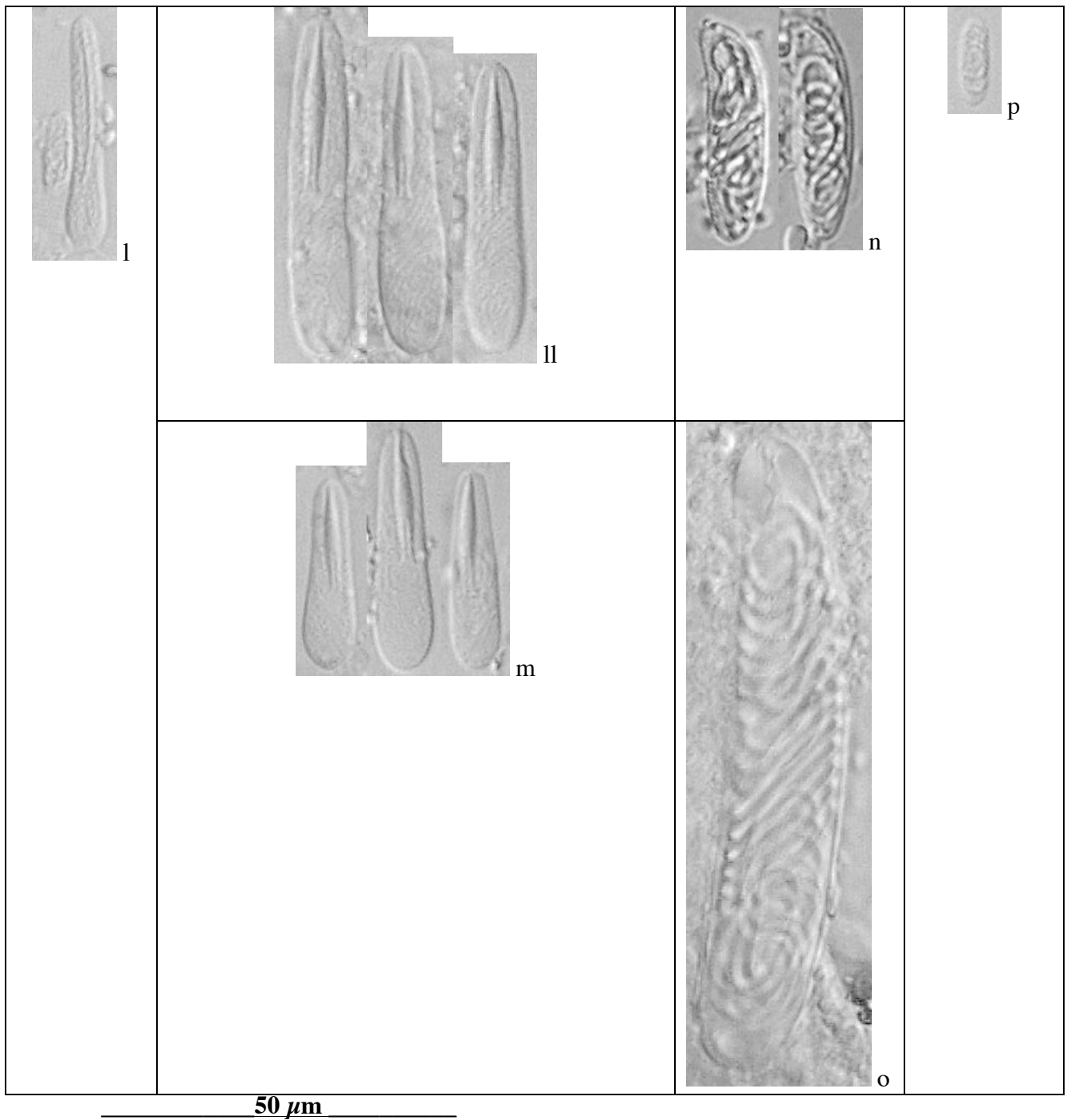


Figura 48. Tipos de nematocistos presentes en los filamentos. Las letras corresponden con lo indicado en la Tabla VI.

PARED DEL CUERPO			
Spirulae	Homotrachs	Penicilli E	Penicilli D

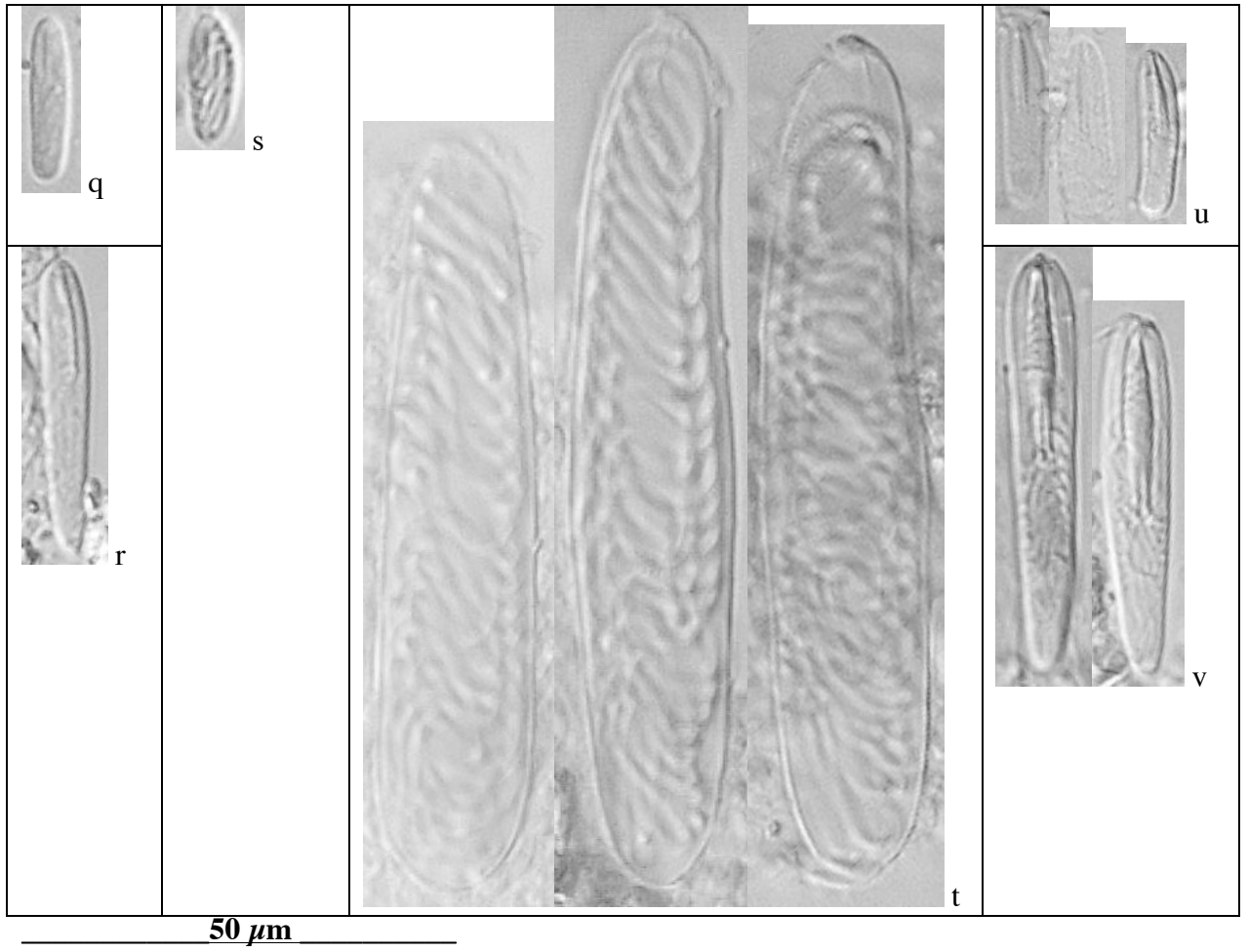


Figura 49. Tipos de nematocistos presentes en la pared del cuerpo. Las letras corresponden con lo indicado en la Tabla VI.

Tabla VI. Tipos de nematocistos observados en las distintas partes del cuerpo, abundancia relativa y rangos de variación de las medidas de longitud y anchura.

TEJIDO		TIPO	LONGITUD	ANCHURA	Nº	ABUNDANCIA
Tentáculos	a	Spirocysts				Muy común
	b	Spirulae	23.3 (23-30)	2.8 (2.5-4)	10	Común
	c	Spirulae	13.4 (12.5-15)	2.3 (2-2.5)	5	Poco común
	d	Penicilli D	33 (28-39)	3.8 (3-5)	20	Muy común
	e	Penicilli E	36.3 (33-40)	5.4 (5-6)	15	Bastante común
Faringe	f	Spirulae	14.5 (13-16)	2.9 (2.5-3)	5	Poco común
	g	Spirulae	26.2 (25-30)	3.1 (2.5-4)	15	Bastante común
	h	Penicilli E	39 (36.3-41)	6.18 (6-6.36)	2	Esporádico
	i	Penicilli D	25	3.1	1	Raro
	j	Penicilli D	27	6	1	Raro
	k	Homotrichs	11.35 (8-15)	3 (2-4)	10	Bastante común
Filamentos	l	Spirulae	25	3	1	Raro
	l	Penicilli D	34.2 (31-40)	6.3 (6-8)	15	Común
	m	Penicilli D	23.6 (21-26)	5.3 (4-7)	15	Bastante común
	n	Penicilli E	23 (21-27)	5.1 (4-6)	15	Común
	o	Penicilli E	72.5 (70.5-75)	11.5 (10-13)	2	Esporádico
	p	Homotrichs	11.3 (9-15)	3 (2.5-3.5)	20	Muy común
Pared del cuerpo	q	Spirulae	15.4 (15-20)	3 (2.5-3.5)	15	Bastante común
	r	Spirulae	26	4	1	Raro
	s	Homotrichs	10.9 (10-13)	2.9 (2.5-4)	15	Bastante común
	t	Penicilli E	75.3 (67-84)	14.6 (12-18)	10	Bastante común
	u	Penicilli D	16.2 (15-18)	3.7 (3.5-4)	15	Bastante común
	v	Penicilli D	33.6 (5-6.5)	5.7 (5-6.5)	5	Esporádico

6. CONCLUSIONES GENERALES

Este estudio nos ha permitido iniciar un análisis detallado de la especie *Astroides calycularis*, especialmente centrado en las islas Chafarinas.

Podemos destacar los siguientes resultados:

-Distribución: *Astroides calycularis* parece distribuirse preferentemente entre los 0 y los 30 m, aunque las mayores coberturas se dan en las zonas más superficiales (entre 0 y 2 m), semiexpuestas al oleaje.

-Reproducción: se ha estudiado por primera vez en este coral. Se trata de una especie gonocórica, con fecundación interna, cuya maduración se da fundamentalmente durante los meses de primavera. Las larvas plánulas parecen presentar escasa capacidad de natación.

-Análisis genético: los genes o regiones génicas COI e ITS muestran una gran similitud en la mayor parte del área de repartición de la especie, diferenciándose únicamente las poblaciones italianas. Entre las que se encuentran más al oeste, sólo la de Murcia parece mostrar cierta diferenciación. Sin embargo, los 4 loci microsatélites han permitido reconocer características propias de las poblaciones de Chafarinas, con respecto a la población de Cabo de Gata, evaluando distintos parámetros genéticos y detectando un cierto flujo, importante entre las islas de Chafarinas y muy reducido con respecto a la población almeriense.

Sería deseable poder ampliar este estudio, sobre todo en lo que respecta al análisis de la reproducción y de los parámetros genéticos, para poder estimar correctamente las medidas a tomar para paliar el empobrecimiento acentuado de las poblaciones existentes, como parece haberse detectado.

7. REFERENCIAS

- BENEDETTI-CECCHI, L., AIROLDI, L., ABBIATI, M. Y CINELLI, F. 1996. Estimating the abundance of benthic invertebrates: a comparison of procedures and variability between observers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 138: 93-1001.
- CAIRNS, S.D. 1999. Species richness of recent Scleractinia. *Atoll Res Bulletin*, 459: 1-12.
- CAIRNS, S.D. 1999. Appendix: list of extant stony corals. *Atoll Res Bulletin*, 459: 13-46.
- CALVÍN, J.C. (ed.) 2001. *Especies marinas singulares en el litoral de Murcia*. Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente, Dirección General de Medio Ambiente, Murcia, 6 pp.
- FATTORUSSO, E., LANZOTTI, V., MAGNO, S. Y NOVELLINO, E. 1985. Tryptophan derivatives from a mediterranean anthozoan, *Astroides calycularis*. *Journal of Natural Products*, 48: 924-927.
- GARCIA RASO, E., LUQUE, A.A., TEMPLADO, J., SALAS, C., HERGUETA, E., MORENO, D. Y CALVO, M. 1992. *Fauna y flora marinas del Parque Natural de Cabo de Gata-Níjar*. Madrid, 288 p.
- GOFFREDO, S., ARNONE, S. Y ZACCANTI, F. 2002. Sexual reproduction in the Mediterranean solitary coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophyllidae). *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 229: 83-94.
- GOFFREDO, S., MEZZOMONACO, L. Y ZACCANTI, F. 2004. Genetic differentiation among populations of the Mediterranean hermaphrodite brooding coral *Balanophyllia europaea* (Scleractinia, Dendrophyllidae). *Mar. Biol.*, 145(6): 1075-1083.
- GOFFREDO, S., RADETIĆ, J., AIRI, V. Y ZACCANTI, F. 2005. Sexual reproduction of the solitary subset coral *Leptopsammia provoti* (Scleractinia, Dendrophyllidae) in the Mediterranean. *Mar. Biol.*, 147: 485-495.
- GRUBELIĆ, I., ANTOLIĆ, B., DESPALATOVIĆ, M., GRBEC, B. Y PAKLAR, G.B. 2004. Effect of climatic fluctuations on the distribution of warm-water coral *Astroides calycularis* in the Adriatic Sea: new records and review. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, 84: 599-602.
- KRUZIC, P., ZULJEVIĆ, A. Y NIKOLIĆ, V. 2008. Spawning of the colonial coral *Cladocora caespitosa* (Anthozoa, Scleractinia) in the Southern Adriatic Sea. *Coral Reefs*, 27(2): 337-341.

RICHTER A. Y LUQUE Á.A. 2004. *Epitonium dendrophylliae* (Gastropoda: Epitoniidae) feeding on *Astroides calycularis* (Anthozoa, Scleractinia). *Journal of Molluscan Studies*, 70(1): 99-101.

SEPTEM NOSTRA, 2004. *Manual de conservación y de actividades didácticas del coral anaranjado (Astroides calycularis) y sus hábitats*. Papel de Aguas, Ceuta, 28 pp.

TEMPLADO, J., CALVO, M., GARVÍA, A., LUQUE, A.A., MALDONADO, M. y MORO, L. 2004. *Guía de Invertebrados y peces marinos protegidos por la legislación nacional e internacional*. Naturaleza y Parques Nacionales, Serie Técnica, Ministerio de Medio Ambiente, Madrid, 214 pp.

ZIBROWIUS, H. 1980. Les Scléactiniaires de la Méditerranée et de l'Atlantique nord-oriental. *Mem. Inst. Océanogr.*, Monaco, 11: 1-284, 107, láms.

ZIBROWIUS, H. 1995. The "southern" *Astroides calycularis* in the Pleistocene of the northern Mediterranean - An indicator of climatic changes (Cnidaria, Scleractinia). *GEOBIOS*, 28(1): 9-16.