

**Protocolo para identificar la resistencia a la  
enfermedad de banda blanca en genotipos de  
*Acropora cervicornis* y *Acropora palmata* en el  
Caribe: Revisión de Literatura**

**Valeria Fernanda Reyes Ferrera**

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano  
Honduras**

Noviembre, 2020

ZAMORANO  
CARRERA DE AMBIENTE Y DESARROLLO

**Protocolo para identificar la resistencia a la  
enfermedad de banda blanca en genotipos de  
*Acropora cervicornis* y *Acropora palmata* en el  
Caribe: Revisión de Literatura**

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar  
al título de Ingeniera en Ambiente y Desarrollo en el  
Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

**Valeria Fernanda Reyes Ferrera**

**Zamorano, Honduras**

Noviembre, 2020

# **Protocolo para identificar la resistencia a la enfermedad de banda blanca en genotipos de *Acropora cervicornis* y *Acropora palmata* en el Caribe: Revisión de Literatura**

**Valeria Fernanda Reyes Ferrera**

**Resumen.** El aumento global de enfermedades en corales ha afectado gravemente los ecosistemas de arrecifes coralinos. Estos sistemas dinámicos tienen la capacidad innata de recuperarse de manera natural, sin embargo, la intensidad, frecuencia y severidad del blanqueamiento masivo de corales, olas de enfermedades, eventos climáticos y actividades antropogénicas están aumentando. La enfermedad de la banda blanca (EBB) ha sido un importante causante de la disminución en la cobertura viva de *Acropora cervicornis* y *Acropora palmata* en el Caribe. Actualmente, existen técnicas de restauración de arrecifes coralinos que surgen como respuesta a la necesidad de nuevas estrategias de gestión para abordar la disminución de las diferentes especies de coral. Con el objetivo de probar resistencia a la EBB en genotipos de estas especies cultivadas en vivero, se desarrolló un protocolo de campo que consiste en cinco fases: establecimiento en sitio, determinación de inoculantes apropiados, establecimiento de ensayo, mantenimiento y monitoreo, selección de fragmentos resistentes y análisis de datos. Se validaron únicamente las primeras cuatro fases del protocolo, por lo que al implementarse completamente se espera proporcionar resultados comparables y organismos resistentes que influyan significativamente a la prevención de futuros brotes en la población de corales restaurados.

**Palabras clave:** Restauración de arrecifes coralinos, sistema arrecifal mesoamericano, vivero de coral.

**Abstract.** The global increase in coral diseases has seriously affected coral reef ecosystems. These dynamic systems have the innate capacity for natural recovery, however, the intensity, frequency and severity of massive coral bleaching, disease outbreaks, weather events, and anthropogenic activities are widespread. White band disease (WBD) has been a cause of decreasing live coral cover, especially in *Acropora cervicornis* and *Acropora palmata* in the Caribbean. Currently, there are emergent coral reef restoration techniques responding to the need for new management strategies to address the reduction of different coral species. In order to test WBD resistance in genotypes of these species grown in nurseries, I suggest a five-phase field protocol: colony establishment, determination of appropriate disease inoculants, assay establishment, maintenance and monitoring, final stage and data analysis. The first four phases of the protocol were validated in the field, so when fully implemented this will provide comparable results and resistant organisms to prevent future outbreaks in the restored coral population.

**Key words:** Coral nursery, coral reef restoration, mesoamerican reef.

# ÍNDICE GENERAL

Portadilla .....	i
Página de firmas .....	ii
Resumen.....	iii
Índice General .....	iv
Índice de Figuras.....	v
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. METODOLOGÍA.....</b>	<b>5</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>7</b>
<b>4. CONCLUSIONES.....</b>	<b>14</b>
<b>5. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>15</b>
<b>6. LITERATURA CITADA.....</b>	<b>16</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Enfermedad de la banda blanca presente en <i>A. cervicornis</i> .....	3
2. Sitio seleccionado para la implementación de las primeras cuatro fases.....	6
3. Selección y corte de fragmentos de prueba. ....	9
4. Unión entre fragmento saludable y fragmento activo con enfermedad de banda blanca. .	10
5. Etiquetado de fragmentos por especie, genotipo y número de réplica. ....	11
6. Monitoreo de pérdida de tejido en fragmento de prueba. ....	11

# 1. INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos son considerados como uno de los ecosistemas más diversos e importantes del planeta. Estas estructuras submarinas complejas están formadas por material calcáreo (carbonato de calcio) depositado por los corales. Por su parte, son ecosistemas que proveen bienes y servicios ecosistémicos como la protección contra huracanes, evitan la erosión costera y son la principal fuente de proteína a las comunidades costeras (Pandolfi, Cannolly, Marshall y Cohen, 2011). Los sistemas arrecifales se desarrollan en la zona costera tropical a nivel mundial, ya que brinda las condiciones adecuadas para su desarrollo. De acuerdo con Spalding, Ravilious y Green, (2001) el agua en la zona costera cuenta con alta penetración de luz solar por lo que la presencia de lecho marino rígido poco profundo favorece su adhesión.

Honduras forma parte del Sistema Arrecifal Mesoamericano (SAM), un ecosistema de aproximadamente 1,000 km de longitud localizado en el mar Caribe. Inicia en Cabo Catoche, al norte de Quintana Roo, México, bordea las costas de Belice y Guatemala y finaliza en el complejo Islas de la Bahía/Cayos Cochinos en la costa norte de Honduras (Ardisson, May-Kú, Herrera-Dorantes, y Arellano-Guillermo, 2011). En él se encuentran aproximadamente 60 especies de coral incluyendo: coral cuerno de alce (*Acropora palmata*), coral cuerno de venado (*Acropora cervicornis*), coral de pilar (*Dendrogyra cylindrus*), gran coral estrella (*Montastrea cavernosa*), coral cerebro (*Diplora strigosa*) y dedo de coral (*Porites porites*) (Spalding et al., 2001).

El SAM comprende 60 áreas naturales protegidas (ANP) que proveen hábitats críticos para la alimentación, anidación y crianza de un elevado número de especies de flora y fauna de alta importancia comercial, amenazadas o en peligro de extinción. Además de tener un alto valor ecológico, estético, cultural y económico para cuatro países, comprende un vasto sistema de hábitats costeros considerado como uno de los puntos más concentrados en biodiversidad (Chollett et al., 2017). Sin embargo, ha sido notoria la disminución de biodiversidad y cobertura de coral en las últimas décadas. Debido a distintos episodios de estrés crónico por disturbios naturales y actividades humanas, se ha visto reflejado el aumento de la cobertura por macroalgas, mortalidad de especies herbívoras importantes, organismos coralinos y frecuentes enfermedades (Healthy Reefs, 2020).

El género *Acropora* cuenta con 379 especies a nivel mundial según el "World Register of Marine Species", siendo las especies más importantes *Acropora palmata* y *Acropora cervicornis* para la región caribeña. Son corales duros de alta importancia caracterizado por su rápido crecimiento (3 - 11.5 cm/año) entre la población de corales constructores de arrecifes, también denominados hermatípicos. Sin embargo, son muy vulnerables ante amenazas ambientales y antropogénicas (Boulon et al., 2005) disminuyendo drásticamente en el Caribe desde inicios de los años 80 (Calle-Triviño, Cortés-Useche, Sellares-Blasco y Arias-González, 2018). Por la aportación de carbonato de calcio proveniente de sus esqueletos, son considerados parte importante en la construcción de un sistema arrecifal (Veron, 2011).

Desde un punto de vista ecológico, la abundancia de *A. cervicornis* y *A. palmata*, por su morfología típicamente ramificada favorecen la formación del hábitat, dan alimento y proporcionan otros bienes y servicios (Hoegh-Guldberg, Poloczanska, Skirving, y Dove, 2017). Esta especie por la

formación de estructura de carbonato de calcio, también, tienen la capacidad de disminuir energía entrante de las olas y ofrecer protección a la costa (Galvis Galindo y Molina Tinjacá, 2017). Por tal motivo, la pérdida o alteración de sus poblaciones podría resultar en una reducción de la estructura del arrecife (Boulon et al., 2005). En los últimos años, acorde a diferentes reportes realizados por “Healthy Reefs for Healthy People” para la evaluación de la salud y el progresivo deterioro de los arrecifes a nivel mundial, se identificó que, las especies mayormente afectadas hasta el momento han sido corales duros (Rivera-Sosa, Muñiz-Castillo, McField y Arias-González, 2018). Boulon et al. (2005) mencionan que tanto enfermedades como tormentas fueron reconocidas como fuentes principales de perturbación hacia estas especies. Durante las últimas 4 décadas se ha hecho evidente que enfermedades que atacan gran cantidad de individuos, también llamadas epizootias, han sido causantes de la mortalidad de *Acropora* spp. en el Caribe y el Atlántico occidental incluyendo Florida (Randall y van Woessik, 2015).

Historicamente se han reportado brotes de enfermedades infecciosas en organismos marinos como plantas, vertebrados e invertebrados (Hughes, 1994). De acuerdo con Goreau et al. (1998) los brotes de enfermedades han sido particularmente evidentes en corales esclerectinos, gorgonias, erizos de mar y algas coralinas. Aunque se desconoce la incidencia habitual de enfermedades en los organismos arrecifales, estas encajan en los criterios establecidos para nuevas enfermedades emergentes (Carey, 2000). Por otra parte, el sistema inmune de organismos coralinos trabaja con la liberación de secreciones mucosas que contiene inmunoglobulina A y otros agentes antimicrobianos formando una barrera protectora contra patógenos y toxinas. Sin embargo, la ruptura de esta barrera deja al coral abierto a cualquier ataque microbiano (Hayes y Goreau, 1998).

Entre las apariciones reportadas de enfermedades de corales en el Caribe, las enfermedades blancas son las más difíciles de diferenciar, estas tienden a ser confundidas visualmente por la similitud que existe entre ellas (Weil, Urreiztieta y Garzón-Ferreira, 2002). Los síndromes blancos incluyen la denominada peste blanca (Dustan, 1977) dividida en I, II y III (Richardson, Smith, Ritchie y Carlton, 2001), tipos de necrosis por estrés llamada también irregular o reacción de cierre (Antonius, 1981a) y la enfermedad de la banda blanca (W. Gladfelter, Gladfelter, Monahan, Ogden y Dill, 1977) actualmente dividida en EBB tipo I y EBB tipo II (Ritchie y Smith, 1998). De acuerdo con (Bythell, Pantos y Richardson, 2004) los signos visibles entre la peste blanca y la enfermedad de la banda blanca son prácticamente idénticos, existe una línea nítida y clara entre el tejido aparentemente sano y el esqueleto coralino recién expuesto sin material microbiano presente.

El brote original de la enfermedad de la banda blanca (EBB) fue reportado en dos especies acroporidas del Caribe, *Acropora cervicornis* y *Acropora palmata* (Aronson y Precht, 2001). Estos casos son reconocidos específicamente por segmentos de esqueleto desnudo y bandas de tejido necrótico en ramas marrón de *Acropora* con aspecto saludable. Ambos tipos son caracterizados por lesiones progresivas que rodean y se extienden a lo largo de las ramas, desde la base hasta la punta siendo rápidamente cubiertos por macroalgas (Gignoux-Wolfsohn, Pretch, Peters, Gintert y Kaufman, 2020) y eventualmente mueren colonias enteras (Aronson y Precht, 2002). Gignoux-Wolfsohn, Marks y Vollmer (2012) señalan que, si el coral se encuentra lesionado, esta enfermedad puede transmitirse por medio del agua y por vectores animales como el caracol coralívoro (*Coralliophila abbreviata*) o por medio de una de sus fuentes de alimento, el zooplancton (Certner, Dwyer y Patterson, 2017).

Antonius (1981b) sugirió que la EBB podría ser una forma de estrés causada por variables ambientales en lugar de un patógeno. Sin embargo, una transmisión mostrada por Gladfelter (1982) indicó un agente infeccioso, propagándose la enfermedad en contra de las corrientes predominantes abriendo así especulaciones sobre un posible organismo vector en lugar de transmisión por medio del agua. Esta enfermedad es caracterizada por una lesión progresiva que, desde su punto de infección, se extiende a una velocidad extremadamente uniforme a lo largo del límite de la lesión (Gignoux-Wolfsohn et al., 2012). Dicho límite forma un arco uniforme que progresa por ramas separadas de especies ramificadas a la misma velocidad y en el esqueleto desnudo, algas forman comunidades altamente visibles (Aronson y Precht, 2002). Investigaciones anteriores realizadas por Peters (1984) establecen que tanto en el Indo-Pacífico como en el Caribe, la enfermedad de la banda blanca se limita a dos especies dominantes de *Acropora* (Figura 1).



Figura 1. Enfermedad de la banda blanca presente en *A. cavicornias*.

Por ser una enfermedad coralina agresiva, la enfermedad de la banda blanca tiene el potencial de matar aproximadamente 1 cm por día del tejido coralino compuesto por miles de pólipos (Kline y Vollmer, 2011). De acuerdo con Jordán-Garza, Muller, Burman y van Woesik (2011), al extenderse rápidamente, esta enfermedad puede causar mortalidad en una colonia entera de corales a varios días de la infección inicial. Por otra parte, se ha demostrado que la ruptura de los umbrales de temperatura como resultado del calentamiento de la superficie del mar ha impulsado la incidencia de enfermedades de corales en los últimos años (Randall y van Woesik, 2015).

Estudios moleculares han identificado diferencias significativas en comunidades microbianas de los tejidos con y sin signos macroscópicos de la banda blanca, sugiriendo que la enfermedad puede ser causada por patógenos bacterianos (Pantos y Bythell, 2006). Por otro lado, experimentos en cautiverio con tratamientos farmacológicos utilizando en conjunto ampicilina y paromomicina dieron resultados efectivos para detener la EBB en *A. cervicornis* confirmando que el agente causal puede ser más de una bacteria (Sweet, Croquer y Bythell, 2014). Otros estudios han encontrado microbios en tejidos sanos de *A. cervicornis*, abriendo posibilidades a que la EBB sea el resultado de infecciones microbianas ya existentes en el coral. De acuerdo con Lesser, Bythell, Gates, Johnstone y Hoegh-Guldberg (2007) diferentes hipótesis se han planteado que por condiciones ambientales estresantes, estos microbios pueden convertirse en un problema para el organismo coralino. Es decir, estos microbios pueden no ser patógenos, pero al romperse el umbral ambiental tanto la virulencia como la densidad microbiana puede aumentar convirtiéndolos en patógenos.

Comprender completamente la etiología de la EBB sigue siendo complicado, sin embargo, múltiples estudios desarrollados han tenido resultados sobre posibles causas de esta enfermedad.



Los postulados de Koch según Sutherland, Porter, y Torres (2004), son utilizados para determinar la causa de enfermedades por un solo patógeno y establecen: (1) El patógeno debe ser abundante en todos los organismos infectados y ausente de organismos sanos; (2) El patógeno debe aislarse y cultivarse de un organismo enfermo; (3) El patógeno cultivado debe ser capaz de inducir signos de enfermedad en un organismo sano y (4) El patógeno debe volverse a aislar de ese organismo. Arboleda y Reichardt (2010) tuvieron éxito utilizando estos postulados con cepas de *Vibrio*, los patógenos de coral mayor conocidos en el Pacífico por ser causantes de síndromes blancos. A partir de esto, se intentó su aplicación en el Caribe, pero han tenido menor éxito en comparación con el Pacífico (Gignoux-Wolfsohn, 2016).

Múltiples factores son los que contribuyen a las dificultades que permite saber con exactitud la etiología de las enfermedades de coral utilizando los postulados originales de Koch. Sutherland et al. (2016) describieron recientemente que las enfermedades de los corales están en un estado casi constante de flujo y sus signos no son confiables. Por otro lado, la hipótesis de los probióticos de coral establece que los patógenos actúan sobre los hospedantes que ya albergan un conjunto de bacterias cambiantes a ritmo constante y pueden servir para crear resistencia a la enfermedad Reshef, Koren, Loya, Zilber-Rosenberg y Rosenberg (2006). Por otra parte, se demostró por medio de estudios que el sistema inmune de los corales es robusto y algunos tienen resistencia genética a estas enfermedades enfatizando la importancia del huésped al momento de infectar con un posible patógeno (Libro y Vollmer, 2016).

Almada-Villela, McField, Kramer, Richards y Arias-Gonzalez (2002) afirman que en el Caribe, los patrones recientes de enfermedades y mortalidad de los corales son bastante complejos. El estrés generado por los contaminantes arrastrados por escorrentía agrícola en Honduras puede ser explicación de los niveles constantemente altos de enfermedades. Además, la tasa de infecciones de enfermedades en corales tuvo una variación de 2.1 a 8% con una media de 4.4% considerándose la más alta para esta región. Según Altizer et al. (2006) el papel de la estacionalidad natural de la temperatura del agua, está completamente relacionado con diferentes enfermedades infecciosas en los ecosistemas de arrecifes de coral.

La EBB es parcialmente responsable de la inclusión de los *Acroporidae* del Caribe en la lista de Especies en peligro de EE.UU. y categorizados como “peligro crítico” en la Lista Roja de Especies Amenazadas creada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Aronson, Bruckner, Moore, Precht y Weil, 2008). Aronson y Precht (2001) mencionan que existen diferentes estresores antropogénicos locales que afectan y pueden estar implicados como la causa principal de su disminución. De igual forma, actividades marino-pesqueras tienen diferentes impactos provenientes de derrame de aceites y combustibles en el agua, basura marina y el abandono de material utilizado para la pesca. Como consecuencia, se ha producido la disminución de cobertura de coral vivo, mayor población de algas causando desequilibrio en la diversidad marina dentro del ecosistema y el aumento de enfermedades (Casas, 2011). Con base en lo anterior, el presente estudio realizado con la colaboración del Parque Marino de Roatán propone:

- Desarrollar un protocolo para probar la resistencia de dos especies de *Acropora* a la EBB en el Caribe.
- Validar de forma preliminar el protocolo de resistencia a la EBB en campo.

## 2. METODOLOGÍA

En esta sección se presenta los procedimientos que se aplicaron para la recolección de información secundaria y así dar respuesta al desarrollo de los pasos a seguir para probar la resistencia de dos especies de *Acropora* a la EBB en el Caribe y validarlo. Al responder estos objetivos, se estableció un protocolo para conocer más el efecto de la EBB en el SAM y favorecer a su conservación.

Para obtener la revisión de literatura y responder al objetivo se realizó una búsqueda de artículos científicos y estudios relacionando a la temática a través de motores de búsquedas como “Google academic”, “Semantic” y bases de datos de gran relevancia a nivel internacional como “Research Gate, Scopus y Springer Link”. Así mismo, se realizó una búsqueda en las revistas indexadas de “PeerJ, Experimental Marine Biology and Ecology, Nature Climate Change, PlosOne, Invertebrate Pathology y Scientific Reports”, utilizando las palabras claves: “Coral health, coral disease, white band disease, wbd resistance, coral pathogens, enfermedades coralinas, Caribbean wbd, Caribbean coral disease, coral restoration, *Acropora cervicornis*, *Acropora palmata*”. Y en algunos casos se utilizó la combinación de términos booleanos de acuerdo con los objetivos específicos de investigación: “or, not, and, in”.

Los criterios de selección de literatura fueron: 1) El Artículo/estudio contiene información sobre la EBB, relacionada al Sistema Arrecifal Mesoamericano 2) Estudios con el género *Acropora* y 3) Publicaciones clásicas y recientes. Posterior a la clasificación, se realizó una base de datos en Excel de todos los artículos y estudios, la cual contiene cuatro variables: palabras clave, autores, título y resumen (síntesis de los hallazgos relacionados EBB, *Acropora* y Jardinería de Coral). Esto ayudó a tener a primera mano o directamente el estudio para incorporarlo en desarrollo de la introducción, resultados y discusión.

### **Elaboración de protocolo de campo**

Para probar la resistencia a la enfermedad de la banda blanca (EBB) en *Acropora cervicornis* y *Acropora palmata*, se proponen las siguientes fases: puesta en escena, determinación de inoculantes apropiados, establecimiento de ensayo, mantenimiento y monitoreo, selección de fragmentos resistentes y análisis de datos utilizando como base el protocolo de Miller y Williams (2016) con diferentes modificaciones.

### **Validación de protocolo en campo**

El sitio seleccionado para poner en marcha las primeras cuatro fases del protocolo fue Seaquest Shallow. El cual es un parche de arena poco profundo (10 – 12 m) localizado en West End, Islas de la Bahía, Honduras (Figura 2). Los fragmentos puestos a prueba ya formaban parte del vivero localizado en el sitio antes mencionado y de igual forma, fueron previamente estudiados en laboratorio para determinar su genotipo. Para todas las fases del experimento fue necesaria la presencia de marea baja, para evitar complicaciones como pérdida de herramientas, equipo o fragmentos durante todo el proceso. La selección de fragmentos con la enfermedad de la banda blanca requirió de personal altamente capacitado y con previa experiencia en el tema.

Además, el sitio de selección para la extracción de fragmentos enfermos fue previamente monitoreado por medio de organizaciones no gubernamentales ante distintos brotes reportados por buzos y biólogos.

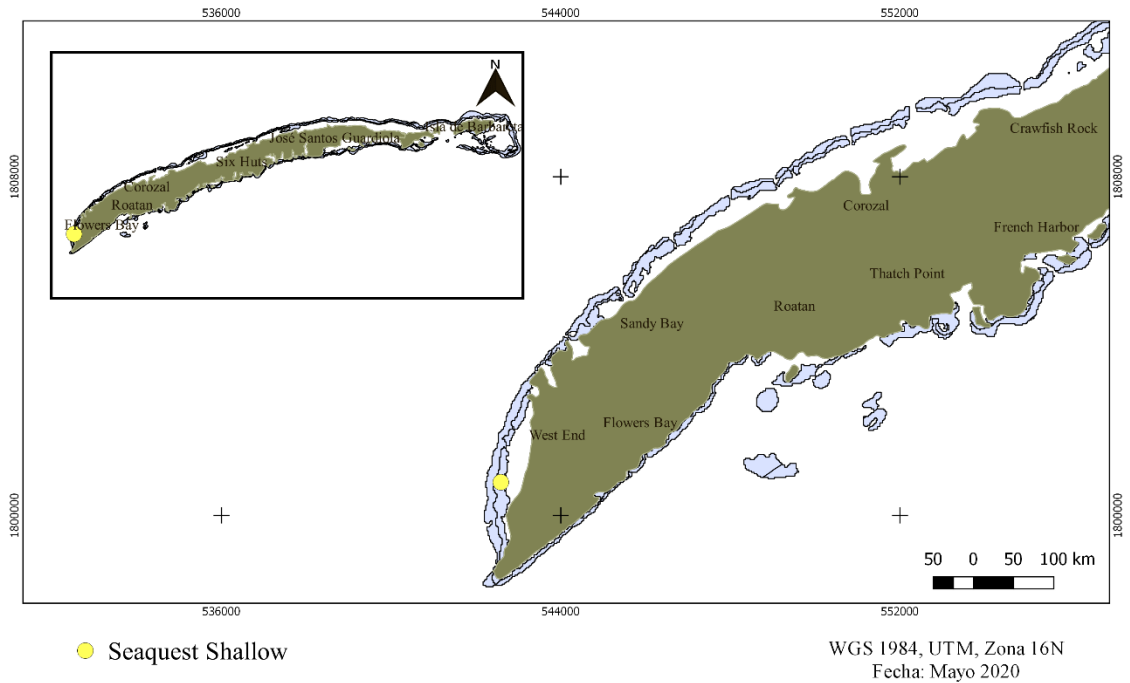


Figura 2. Sitio seleccionado para la implementación de las primeras cuatro fases.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las últimas décadas, los ecosistemas coralinos han sufrido pérdidas sin precedentes de corales duros formadores de arrecifes (Gardner, Côté, Gill, Grant y Watkinson 2003). Estos sistemas dinámicos tiene la capacidad innata de recuperarse de manera natural, sin embargo, la intensidad, frecuencia y severidad del blanqueamiento masivo de corales, olas de enfermedades y eventos climáticos están aumentando (Hughes et al., 2018). Desde el punto de vista de Van Oppen et al. (2017), el tiempo es insuficiente para la recuperación entre eventos de perturbación siendo la recuperación natural poco probable o imposible en diferentes lugares. La relevancia de estos temas, ha llevado al ímpetu e interés creciente en series de intervenciones que pueden aumentar la resiliencia, contribuir a su preservación y restaurar estructura y función de los arrecifes coralinos (Anthony et al., 2017). Tales esfuerzos incluyen: la promoción de políticas y legislaciones para la conservación, mapeo, monitoreo y evaluación de los arrecifes de coral. De igual forma, se llevan a cabo investigaciones toxicológicas, genéticas, de reproducción y microbiológicas que dan como resultado una líneas base o la actualización de ella.

#### **Restauración de arrecifes coralinos**

Según Wiens y Hobbs (2015), la restauración es típicamente usada en áreas que han sido degradadas, con la intención de devolver un área a su estado natural o previo a perturbaciones. Por otro lado, las diferentes causantes del deterioro de los arrecifes de coral y la cotribución global que hacen a los seres humanos, han llevado a la demanda de medidas alternativas de restauración de los arrecifes (Rinkevich, 2014). En relación con lo antes mencionado, se han implementado distintas estrategias de conservación. Estrategias pasivas que consisten en el manejo y mitigación de presiones antropogénicas afectando procesos naturales de recuperación del sistema y las estrategias activas que implican intervención o manipulación del ecosistema con el objetivo de contribuir de manera directa a su recuperación (Edwards et al., 2010).

Estas medidas de restauración están siendo recientemente implementadas por la importancia que tiene estos organismos coralinos. Los esfuerzos de restauración de arrecifes están en curso al rededor del mundo (Baums, 2008) y algunos de los ejemplos incluyen asegurar fragmentos de colonias lesionadas (Bruckner y Bruckner, 2001), crecimiento de fragmentos en viveros dentro del agua y el recate de colonias en hábitats costeros amenazados (University of Florida, 2007). Según Post, Buckley, Schuh y Jernigan, Inc. [PBS&J] (2008), esfuerzos locales y regionales en zonas costeras han dado como resultado el desarrollo de buenas prácticas de gestión (BPG), mejores técnicas de respuesta, campañas coordinadas y diversos mapas mejorados de hábitat. De igual forma, existen técnicas de restauración de arrecifes coralinos que surgen como respuesta a la necesidad de nuevas estrategias de gestión para abordar la disminución de las diferentes especies de coral (Hein, Willis, Beeden y Birtles, 2017).

Chavanich, Soong, Zvuloni, Rinkevich y Alino (2015) establecieron que las técnicas utilizadas para la restauración biológica incluyen la propagación sexual (colecta y crianza de larvas de coral) y asexual (colecta y producción de fragmentos) de los corales con la finalidad de trasplantar colonias o fragmentos de coral a zonas de arrecife con cierto nivel de perturbación. La jardinería de coral o “coral gardening”, es la técnica de restauración más utilizada y ha tenido gran aceptación

con el pasar de los años por su exitosa aplicación a diferentes escalas alrededor del mundo (Shafir, Van Rijn y Rinkevich, 2006). La propagación y trasplante de corales cultivados en viveros se ha vuelto popular y actualmente más de 150 grupos operan viveros en más de 20 países a lo largo de todo el Caribe (Lirman y Schopmeyer, 2016).

El enfoque de la jardinería de coral fue desarrollado con el fin de ampliar la restauración mientras se reduce el estrés en las colonias de donantes (Rinkevich, 2005). Sin embargo, la restauración de estas especies además de suministrar corales para su restauración, brindan beneficios secundarios para los ecosistemas marinos y la economía local. Estos proyectos contribuyen a la creación de hábitats de peces e invertebrados (Nemeth, Griffin, Moore y Meehan, 2016), mejoramiento de las poblaciones adultas creando así nuevas poblaciones reproductivas sexualmente exitosas, se proporciona una fuente para realizar investigación experimental (Towle, Enochs y Langdon, 2015) y se dio espacio al desarrollo de diversos programas y voluntariados junto con profesionales donde realzaron los beneficios de la restauración de corales (Lirman y Schopmeyer, 2016). Por otro lado, se ha mejorado la economía local convirtiendo estos sitios en atracciones de buceo, implementando cursos especializados como “Coral First Aid” o haciendo “Coral Restoration Certifications” impartidos por tiendas locales de buceo o pescadores locales certificados (Galvan, 2016).

Con base en las pérdidas reportadas a causa de la EBB, es imperativo encontrar una medida preventiva o la cura a esta enfermedad. Libro (2014) estableció que, con la misma iniciativa y para evitar el aumento de la enfermedad que ha resultado en pérdida de especies *Acropora*, se han realizado cultivos *in situ* en viveros para probar genotipos resistentes. Según Boyles y Muller (2016) si un genotipo específico tiene mayor resistencia, entonces puede reproducirse y ser cultivado en estructuras que permitan su óptimo crecimiento para un trasplante futuro a los arrecifes del Caribe.

Año tras año, la enfermedad de la banda blanca sigue siendo una amenaza para la recuperación de *A. palmata* y *A. cervicornis*. Según Miller y Williams (2016), se invierte cada vez más en el cultivo y repoblación dejando a un lado la probabilidad que esta enfermedad afecte el resultado final de poblaciones restauradas. Es por eso que, surge la necesidad de identificar los rasgos y el alcance de resistencia a enfermedades naturales (Hunt y Sharp, 2014). El protocolo descrito está destinado para implementarse de manera estandarizada, con el propósito de generar información relacionada con la resistencia o susceptibilidad a la EBB en genotipos reproducidos. La propuesta incluye las siguientes fases:

### **Fase 1. Establecimiento en sitio**

Según Miller y Williams (2016) al menos dos semanas antes del experimento se debe hacer el corte de fragmentos por genotipo a probar. Utilizando tijeras jardineras, se hace el corte de 48 fragmentos de aproximadamente 10 cm de longitud colocados en bolsas “ziploc” para evitar confusiones por genotipo y al no haber punto de partida, se elige una semana de forma arbitraria antes de dar inicio al experimento, esto para que los fragmentos se estabilicen (Figura 3). Estos fragmentos de “prueba” se colocan con línea de multifilamento de 20 lbs que brinda mayor peso y amarres metálicos o “crimps” que aseguran los fragmentos en la estructura flotante del vivero (Figura 3), también conocida como árbol. Previamente, se debe identificar el sitio adecuado para colocar las estructuras flotantes, y para ello se consideran factores como: competencia y depredadores, tipo de fondo, condiciones ambientales, calidad del agua, accesibilidad del sitio y permisos requeridos para

operar. Las estructuras flotantes (3 – 6 m) están hechos de PVC y son ancladas con una “duckbill anchor” al fondo del mar entre 10 – 12 metros de profundidad, de esta forma se puede regular la altura en caso de ser necesario ante el acercamiento de fuertes tormentas y generalmente son suspendidos mediante flotadores o buoyas colocadas en el extremo superior de la estructura.

A diferencia del protocolo base en donde replican múltiples fragmentos de cada genotipo a ser probado, por conveniencia, en este ensayo se trabajarán 4 réplicas de 12 genotipos diferentes colocando 3 en un árbol experimental y 1 en un árbol control que arbitrariamente se colocó a 23 metros de distancia. El contacto mínimo de los organismos, específicamente con superficies, sedimentos o fondos es sumamente importante para evitar cualquier tipo de contaminación o estrés por tejido expuesto, es por eso que se sugiere colocar dichas estructuras sobre un parche de arena.

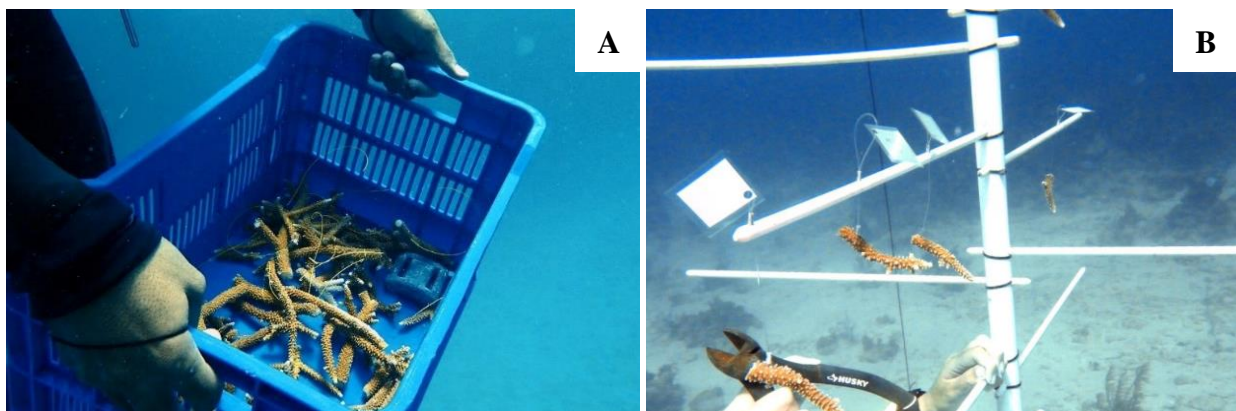


Figura 3. Selección y corte de fragmentos de prueba. (A) Transporte de fragmentos replicados; (B) Establecimiento de los mismos en el árbol.

## Fase 2. Determinación de inoculantes apropiados

Para la identificación de la enfermedad, se debe observar el desprendimiento de tejido en el esqueleto blanco o pequeños parches que indican la pérdida rápida de este tejido. La disponibilidad de fragmentos verdaderamente activos podría ser una limitante, en ese caso, es preferible trabajar con menor cantidad de réplicas activas a tener mayor cantidad de réplicas cuestionables que alteren resultados finales del ensayo. Establecido por Miller y Williams (2016), no es apropiado el transporte de fragmentos enfermos dentro del agua entre sitios, por tal motivo, los fragmentos que son encontrados activos deben ser removidos de su establecimiento, colocados en tinas con agua de mar y transportados por fuera del agua hasta el sitio del experimento. Cabe recalcar que el tiempo de transporte debe ser menor a una hora y media, para evitar estrés sobre estos organismos.

Utilizando abrazaderas plásticas, se une un fragmento activo con EBB (Figura 4) a dos de los fragmentos de prueba previamente colocados en el árbol experimental, dejando el tercer fragmento sin exposición directa ya que servirá para comprobar transmisión a corta distancia (15 mm) si el genotipo fuese susceptible a la enfermedad. Para el establecimiento del experimento es necesario un ambiente calmado dentro del agua, esto minimizará el daño causado por manipulación y tránsito de los fragmentos. Por otra parte, es probable que entre las condiciones de un arrecife natural y las del parche de arena donde se encuentre el vivero haya mayor variabilidad en cuanto a diversidad de macro algas, superficies ricas en microbios, contacto con depredadores u otros animales y

diversos inoculantes de enfermedades presente. Esto se debe a que existen aproximadamente 122 metros entre el arrecife poco profundo y el sitio en donde se ubican, de forma adyacente a algunos arrecifes de espolones y surcos, las estructuras flotantes. De igual forma, es importante mantener distancia entre el sitio donde se encuentra el experimento y las poblaciones sanas del vivero.

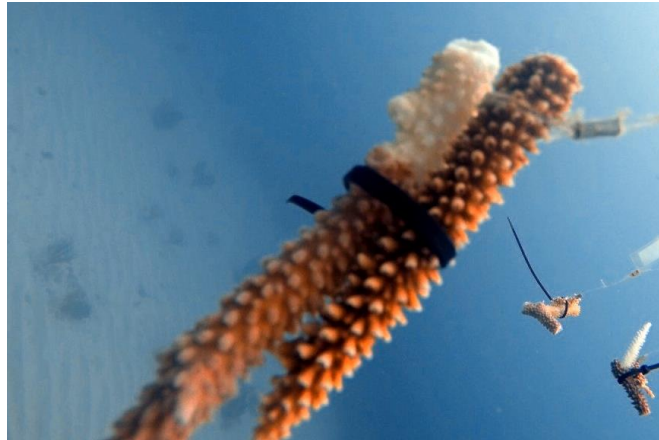


Figura 4. Unión entre fragmento saludable y fragmento activo con enfermedad de banda blanca.

### Fase 3. Establecimiento de ensayo

Estudios realizados afirman que durante o después de episodios de estrés térmico o blanqueamiento son más comunes los brotes de enfermedades coralinas. Miller y Williams (2016) recomiendan que si la enfermedad está disponible en temperaturas inferiores a 29 – 30 °C, se mantenga, esto permitirá comprobar la disponibilidad de la enfermedad en las épocas más cálidas del año. Para fines de este ensayo en el árbol experimental se sugiere la instalación de un dispositivo HOBO® (U20-001-01) que permite el monitoreo y registro de datos de temperatura, profundidad y nivel del agua.

Por otra parte, para un mejor manejo del ensayo, se debe designar de manera individual una etiqueta o identificación (Figura 5). Para tener mejor control de cada fragmento de prueba, Miller y Williams (2016) proponen que la etiqueta debe incluir el genotipo y el número de réplica de ese genotipo (por ejemplo, A3-a para el genotipo "A3" y replicar "a"). Sin embargo, para proporcionar mejor información del fragmento, se sugiere realizar cambios en etiquetado que incluyan especie, genotipo y si la réplica era control o experimental (por ejemplo, AC42 EXP1, es decir *Acropora cervicornis*, genotipo 42 y experimental número 1). Al finalizar este proceso, debe tomar una fotografía a escala inicial de cada una de las réplicas debidamente rotuladas.

Para llevar a cabo este proceso, un factor importante es realizar primero cualquier manipulación o transporte de fragmentos sanos (o delegar a una persona en específico) y luego fragmentos activos (o una segunda persona). Al recolectar muestras, ya sean sanas o enfermas, se recomienda evitar la caída de pequeñas piezas fuera del sitio de muestreo. En cuanto a los recipientes e implementos utilizados, es necesario separar, designar y rotular el uso que se les dará, de esta forma se evitará cualquier tipo de contaminación. De igual forma, los buzos se consideran posibles vectores de enfermedades, para minimizar el riesgo, todo el equipo de buceo debe ser sometido a desinfección y enjuague con agua dulce luego de cualquier inmersión.



Figura 5. Etiquetado de fragmentos por especie, genotipo y número de réplica.

#### **Fase 4. Mantenimiento y monitoreo**

Con el fin de remover sedimentos y competencia como algas, depredadores e invasores que incrementen los niveles de microorganismos en los árboles utilizados se debe realizar mantenimiento y limpieza con ayuda de cepillos y esponjas. Para asegurar el control y estar al tanto de los resultados, el protocolo base plantea monitorear el ensayo los días 1, 3, 5 y finalizar el día 7. En algunas ocasiones el primer día es necesario revisar y ajustar las abrazaderas utilizadas para unir los fragmentos, esto sucede porque el organismo ya tuvo el tiempo suficiente para asentarse. No se debe realizar ningún tipo de manipulación adicional como ser reemplazo de fragmentos. En cada inmersión para monitoreo, los ensayos deben ser examinados cuidadosamente para detectar pérdida de tejido en el fragmento de prueba, con especial atención al punto de contacto con el inoculante. Se propone que, al hacer una observación de pérdida de tejido, haciendo uso de una regla (Figura 6), se puede medir el tamaño de las lesiones (longitud y anchura si la lesión está confinada a una superficie) y registrar estos datos. Alternativamente, se puede medir el tamaño de lesión justo al finalizar los 7 días, pero es importante llevar un registro de fotografías en cada día de monitoreo.



Figura 6. Monitoreo de pérdida de tejido en fragmento de prueba.



### **Fase 5. Selección de fragmentos resistentes**

Al llegar el último día del ensayo, se deben separar los fragmentos inoculantes y tomar una fotografía de los fragmentos de prueba a escala final. Es importante que, si la enfermedad está presente en dichos fragmentos, se mida y se registre el tamaño de la lesión. Por otra parte, el protocolo base sugiere que si después del ensayo los fragmentos inoculantes y los de prueba se encuentran vivos y muestran pérdida de tejido activa, podrían ser utilizados para ensayos posteriores. Sin embargo, en el presente protocolo se recomienda un muestreo que permita realizar análisis de laboratorio con caracterización histopatológica y sacrificar al resto. Según Vollmer y Kline (2008), la transmisión de la enfermedad de la banda blanca ocurre dentro de un rango de 3 - 5 días de contacto directo (injerto) entre un fragmento infectado y uno sano. Por tal motivo, con el propósito de descartar cualquier signo de la enfermedad y reintegrarlos al vivero, los fragmentos de prueba que no contrajeron la enfermedad deberán pasar por un periodo aproximado de una semana en cuarentena. Estos fragmentos, clasificados como resistentes, deben estar bajo observación en la estructura flotante previamente designada como árbol control.

### **Fase 6. Análisis de datos**

Para llevar a cabo un análisis que permita datos reales como resultado, se pueden desarrollar varios parámetros a partir de los datos recopiladas durante el ensayo. Con dichos datos, se obtendrá la media de transmisión por cada genotipo y a partir de eso, se puede aplicar una comparación de medias. Por otra parte, cálculos como la proporción de fragmentos transmitidos, riesgo de transmisión (tras la exposición) y tiempo de transmisión fueron propuestos por Miller y Williams (2016). Se sugiere añadir cálculos que permitan saber datos sobre pérdida del tejido del fragmento de prueba como del inoculante.

Con la implementación del protocolo anteriormente descrito se espera obtener la resistencia genética de individuos que sirvan para ser replicados y crear colonias menos vulnerables. De igual manera, tiene como objetivo proporcionar información comparable con relación a la resistencia de la enfermedad entre distintos genotipos. Comprender la transmisión de esta enfermedad y su resistencia genotípica influirá de forma significativa a la prevención de futuros brotes.

### **Validación preliminar de las fases 1 - 4**

De las seis fases establecidas se comprobaron cuatro en campo y debido a la pandemia por SARS-CoV-2, el experimento tuvo que ser interrumpido. La instalación del dispositivo HOBO® permitió tener mejor monitoreo en cambios de temperatura que pudiesen intervenir en el experimento. Con relación al etiquetado de los fragmentos, se determinó que, para evitar el desprendimiento de las etiquetas y evitar reemplazo y confusiones, se realizaron pruebas con distintos materiales como alternativa que aseguren durabilidad a lo largo del estudio. Fue importante mantener el orden de trabajo entre fragmentos activos y sanos. De igual forma, se debe tener clara cada actividad a realizar antes de la inmersión ya puede haber complicaciones y difícil comunicación bajo el agua.

Debido a que las estructuras flotantes se encuentran alejadas de la barrera arrecifal, se observó una menor cantidad de algas y sedimentos acumulados. El mantenimiento y limpieza se centró en la remoción de organismos que afecten el desarrollo de los organismos coralinos puestos a prueba. Para el monitoreo se estableció llevar la secuencia y orden de fotografías sobre el avance de cada

genotipo expuesto y revisar que ambos fragmentos se encuentren ensamblados correctamente. Para llevar a cabo lo antes mencionado, se requiere de medidas como uso de guantes mientras se manipulan dichos organismos. Se realizó una inmersión el segundo día después del establecimiento del experimento y no se observó ningún cambio en los fragmentos. No se pudo continuar el monitoreo en los días ya seleccionados debido a las medidas de bioseguridad implementadas por el Gobierno de Honduras.

Miller y Williams (2016) en su ensayo incluyeron cinco réplicas de cuatro genotipos distintos y como resultado del primer ensayo obtuvieron que uno de los genotipos no mostró transmisión entre las cinco réplicas. En el segundo ensayo, los mismos genotipos fueron puestos a prueba y uno de los tres fragmentos fue transmitido con la enfermedad, lo que arrojó un riesgo general de transmisión del 12%. Por lo antes mencionado, se clasificó el genotipo C4 como relativamente resistente a la enfermedad en comparación con los otros tres analizados (riesgo de 50 – 62%) a un nivel de 8 repeticiones realizadas en un entorno de vivero. De igual forma, es posible que tanto la temperatura como la virulencia de la enfermedad de fondo fue mayor y pudo reflejarse en los resultados obtenidos.

## 4. CONCLUSIONES

- Al probar la resistencia a la EBB en genotipos de *Acropora* cultivadas en vivero, se espera proporcionar resultados comparables y organismos resistentes que sirvan para restaurar áreas afectadas y a su vez, que reduzcan significativamente la vulnerabilidad de futuros brotes en la población de corales restaurados.
- En las primeras cuatro fases comprobadas no hubo efecto de transmisión de la enfermedad banda blanca para los genotipos de *Acropora* puestos a prueba.

## 5. RECOMENDACIONES

- Implementar este protocolo (todas las fases) de resistencia a la EBB en viveros de coral para prevenir futuros brotes en la población de corales restaurados en el Caribe.
- Adicionar un tratamiento con los fragmentos previamente clasificados como resistentes para determinar si en una exposición subsiguiente siguen siendo resistentes.
- Realizar investigaciones futuras aplicando este mismo ensayo a diferentes temperaturas con el objetivo de comparar resultados del tiempo de transmisión de la enfermedad.
- Utilizar el software Coral Point Count con extensión a Excel (CPCe) para hacer mediciones planas (longitud y área) en las imágenes y determinar tendencias de crecimiento.

## 6. LITERATURA CITADA

- Almada-Villela, P., McField, M., Kramer, P., Richards, P. y Arias-Gonzalez, E. (2002). Status of coral reefs of Mesoamerica- Mexico, Belize, Guatemala, Honduras, Nicaragua and El Salvador. *Status of coral reefs of the world*, 303-324.
- Altizer, S., Dobson, A., Hosseini, P., Hudson, P., Pascual, M. y Rohani, P. (2006). Seasonality and the dynamics of infectious diseases. *Ecology Letters*, 9(4), 467-484. doi:10.1111/j.1461-0248.2005.00879.x
- Anthony, K., Bay, L. K., Costanza, R., Firn, J., Gunn, J., Harrison, P., . . . Walshe, T. (2017). New interventions are needed to save coral reefs. *Nature Ecology & Evolution*, 1, 1420-1422. doi:10.1038/s41559-017-0313-5
- Antonius, A. (1981a). Coral reef pathology: a review. *Fourth International Coral Reef Symposium* 2, pp. 3-6. Manila, Philippines: Marine Science Center, University of Philippines.
- Antonius, A. (1981b). The "band" disease in coral reefs. *4th International Coral Reef Symposium*, 2, 7-14.
- Arboleda, M. y Reichardt, W. (2010). *Vibrio* sp. causing Porites ulcerative white spot disease. *Disease of Aquatic Organisms*, 90(2), 93-104. doi:10.3354/dao02222
- Ardisson, P.-L., May-Kú, M. A., Herrera-Dorantes, M. T. y Arellano-Guillermo, A. (2011). The Mesoamerican Barrier Reef System-Mexico: consideration for its designation as a Particularly Sensitive Sea Area. *Hidrobiológica*, 21(3), 261-280.
- Aronson, R., Bruckner, A., Moore, J., Precht, B. y Weil, E. (2008). *Acropora cervicornis*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T133381A3716457. Sitio web de la UICN. doi: 10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T133381A3716457.en
- Aronson, R. y Precht, W. (2001). White-band disease and the changing face of Caribbean coral reefs. *The ecology and etiology of newly emerging marine diseases*, 159, 25-38. doi:10.1007/978-94-017-3284-0\_2
- Baums, I. B. (2008). Restoration genetic guide for coral reef conservation. *Molecular Ecology*, 17(12), 2796-2811. doi: 10.1111/j.1365-294X.2008.03787.x
- Boulon, R., Chiappone, M., Halley, R., Jaap, W., Keller, B., Kruczynski, B., . . . Rogers, C. (2005). *Atlantic Acropora Status Review*. National Marine Fisheries Services, Southeast Regional Office.
- Boyles, A. y Muller, E. (2016). Identifying Genotypes of *Acropora cervicornis* that are Resilient to White Band Disease. *Acta Spartae*, 2(1), 5-8.
- Bruckner, A. y Bruckner, R. (2001). Condition of restored *Acropora palmata* fragments off Mona Island, Puerto Rico, 2 years after the Fortuna Reefer ship grounding. *Coral Reefs*, 20(3), 235-243. doi:10.1007/s003380100164
- Bruno, J. y Selig, E. (2007). Regional Decline of Coral Cover in the Indo-Pacific: Timing, Extent, and Subregional Comparisons. *Plos One*, 2(8). doi:10.1371/journal.pone.0000711
- Bythell, J., Pantos, O. y Richardson, L. (2004). White Plague, White Band and Other "White" Diseases. *Coral Health and Disease*, 351-365. doi:10.1007/978-3-662-06414-6\_20

- Calle-Triviño, J., Cortés-Useche, C., Sellares-Blasco, R. I. y Arias-González, J. E. (2018). Assisted fertilization of threatened Staghorn Coral to complement the restoration of nurseries in Southeastern Dominican Republic. *Regional Studies in Marine Science*, 18, 129-134. doi:10.1016/j.rsma.2018.02.002
- Carey, C. (2000). Infectious Disease and Worldwide Declines of Amphibian Populations, with Comments on Emerging Diseases in Coral Reef Organisms and in Humans. *Environmental Health Perspectives*, 108(1), 143-150. doi:10.1289/ehp.00108s1143
- Casas, D. C. (2011). *Estado de conservación de la comunidad arrecifal presene en Isla Fuerte-Bolívar (Colombia)* (Tesis de grado). Pontificia Universidad Javeriana, Colombia.
- Certner, R., Dwyer, A. y Patterson, M. (2017). Zooplankton as a potential vector for white band disease transmission in the endangered coral, *Acropora cervicornis*. *PeerJ*, 5, 3502. doi:10.7717/peerj.3502
- Chavanich, S., Soong, K., Zvuloni, A., Rinkevich, B. y Alino, P. (2015). Conservation, management, and restoration of coral reefs. *Zoology*, 118(2), 132-134. doi:10.1016/j.zool.2015.01.002
- Chollett, I., Garavelli, L., Holstein, D., Cherubin, L., Fulton, S. y Box, S. J. (2017). A case for redefining the boundaries of the Mesoamerican Reef Ecoregion. *Coral Reefs*, 36(4), 1039-1047. doi:10.1007/s00338-017-1595-4
- Dustan, P. (1977). Vitality of reef coral populations off Key Largo, Florida: Recruitment and mortality. *Environmental Geology*, 2(1), 51-58. doi:10.1007/BF02430665
- Edwards, A., Guest, J., Shafir, S., Fisk, D., Gomez, E., Rinkevich, B., . . . Wells, S. (2010). *Reef Rehabilitation Manual*. St. Lucia, Australia: The Coral Reef Targeted Research & Capacity for Management Program.
- Galvan, V. M. (2016). *Pilot program: diversifying fishermen income generation activities to reduce local impacts on Punta Cana's coral reef communities, Dominican Republic*. Poster presentado en 13th International Coral Reef Symposium, Honolulu, Hawai'i.
- Galvis Galindo, I. y Molina Tinjacá, B. (2017). *Sobrevivencia, crecimiento, salud y reclutamiento de Acropora palmata (Lamarck, 1816) y Acropora cervicornis (Lamarck, 1816) en El Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) y en El Parque Nacional Natural Corales del Rosario en San Bernardo (PNNCRSB)*. Bachelor's thesis, Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano.
- Galvis, I. y Molina, B. (2006). *Sobrevivencia, crecimiento, salud y reclutamiento de Acropora palmata (Lamarck, 1816) y Acropora cervicornis en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) y en el Parque Nacional Natural Corales del Rosario y San Bernardo (PNNCRSB)* (Tesis de grado). Universidad Jorge Tadeo Lozano, Colombia.
- Gardner, T. A., Côté, I. M., Gill, J. A., Grant, A. y Watkinson, A. R. (2003). Long-Term Region-Wide Declines in Caribbean Corals. *Science*, 301(5635), 958-960. doi:10.1126/science.1086050
- Gignoux-Wolfsohn, S. (2016). *Towards a Better Understanding of White Band Disease: Transmission, Causes, and Effect* (Tesis doctoral). Northeastern University, Estados Unidos.

- Gignoux-Wolfsohn, S., Marks, C. y Vollmer, S. (2012). White Band Disease transmission in the threatened coral, *Acropora cervicornis*. *Scientific Reports*, 2, 804. doi:10.1038/srep00804
- Gignoux-Wolfsohn, S., Precht, W., Peters, E., Gintert, B. y Kaufman, L. (2020). Ecology, histopathology, and microbial ecology of a white-band disease outbreak in the threatened staghorn coral *Acropora cervicornis*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 137(3), 217-237. doi: 10.3354/dao03441
- Gladfelter, W. (1982). White-band disease in *Acropora palmata*- implications for the structure and growth of shallow reefs. *Bull Mar Sci*, 32(2), 639-643.
- Gladfelter, W., Gladfelter, E., Monahan, R., Ogden, J. y Dill, R. (1977). *Environmental studies of Buck Island Reef National Monument*. St. Croix, USVI: U.S. National Park Service.
- Goreau, T., Cervino, J., Goreau, M., Hayes, R., Hayes, M., Richardson, L., . . . Porter, K. (1998). Rapid spread of diseases in Caribbean coral reefs. *Revista de Biología Tropical*, 46(5), 157-171.
- Hayes, R. y Goreau, N. (1998). The significance of emerging diseases in the tropical coral reef ecosystem. *Revista de Biología Tropical*, 173-185.
- Healthy Reefs. (2020). Boleta de calificaciones del arrecife mesoamericano: una evaluación de la salud del ecosistema. *Iniciativa Arrecifes Saludables*. Recuperado de [https://www.healthyreefs.org/cms/wp-content/uploads/2020/02/SmithReefs\\_RC19\\_Pages\\_BIL\\_f\\_E\\_LO.pdf](https://www.healthyreefs.org/cms/wp-content/uploads/2020/02/SmithReefs_RC19_Pages_BIL_f_E_LO.pdf)
- Hein, M. Y., Willis, B. L., Beeden, R. y Birtles, A. (2017). The need for broader ecological and socioeconomic tools to evaluate the effectiveness of coral restoration programs. *Restoration Ecology*, 25(6), 873-883. doi:10.1111/rec.12580
- Hoegh-Guldberg, O., Poloczanska, E. S., Skirving, W. y Dove, S. (2017). Coral Reef Ecosystems under Climate Change and Ocean Acidification. *Frontiers in Marine Science*, 4, 158. doi:10.3389/fmars.2017.00158
- Hughes, T. (1994). Catastrophes, phases shifts, and large-scales degradation of Caribbean coral reef. *Science*, 265(5178), 1547-1551.
- Hughes, T. P., Kerry, J. T., Baird, A. H., Connolly, S. R., Dietzel, A., Eakin, M. C., . . . Torda, G. (2018). Global warming transforms coral reef assemblages. *Nature*, 556(7702), 492-496. doi:10.1038/s41586-018-0041-2
- Hunt, J. y Sharp, W. (2014). *Developing a comprehensive strategy for coral restoration for Florida*. State Wildlife Grant Award T-32-R. 2014.
- Jordán-Garza, A., Muller, E., Burman, S. y van Woesik, R. (2011). Susceptibility of coral-disease models. *PNAS*, 108(20). doi:10.1073/pnas.1102711108
- Kline, D. y Vollmer, S. (2011). White Band Disease (type I) of Endangered Caribbean Acroporid Corals is Caused by Pathogenic Bacteria. *Scientific Reports*, 1(7). doi:10.1038/srep00007
- Lesser, M. P., Bythell, J. C., Gates, R. D., Johnstone, R. W. y Hoegh-Guldberg, O. (2007). Are infectious diseases really killing corals? Alternative interpretations of the experimental and ecological data. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 346(1-2), 36-44. doi:10.1016/j.jembe.2007.02.015

- Libro, S. (2014). *Genetic bases of immunity and disease resistance to White Band Disease in the Caribbean Staghorn coral Acropora cervicornis (Doctoral dissertation, Northeastern University)*. Doctoral dissertation , Northeastern University.
- Libro, S. y Vollmer, S. (2016). Genetic Signature of Resistance to White Band Disease in the Caribbean Staghorn Coral *Acropora cervicornis*. *Plos One*, 11(1), e0146636. doi:10.1371/journal.pone.0146636
- Lirman, D. y Schopmeyer, S. (2016). Ecological solutions to reef degradation: optimizing coral reef restoration in the Caribbean and Western Atlantic. *PeerJ*, 4, 4:e2597. doi:10.7717/peerj.2597
- Miller, M. y Williams, D. (2016). A Standard Field Protocol for Testing Relative Disease Resistance in *Acropora palmata* and *Acropora cervicornis*. *Peer J*, 4, e2668v1. doi:10.7287/peerj.preprints.2668v1
- Nemeth, M., Griffin, S., Moore, T. y Meehan, S. (2016). The structure of fish assemblages on restored and un-restored coral reef habitats impacted by ship grounding. *13th International Coral Reef Symposium, Honolulu*, 246.
- Pandolfi, J. M., Cannolly, S. R., Marshall, D. J. y Cohen, A. L. (2011). Projecting coral reef futures under global warming and ocean acidification. *Science*, 333(6041), 418-422. doi:10.1126/science.1204794
- Pantos, O. y Bythell, J. C. (2006). Bacterial community structure associated with white band disease in the elkhorn coral *Acropora palmata* determined using culture-independent 16S rRNA techniques . *Disease of aquatic organisms*, 69(1), 79-88. doi:10.3354/dao069079
- Peters, E. C. (1984). A survey of cellular reactions to environmental-stress and disease in Caribbean scleractinian corals. *Helgoländer Meeresuntersuchungen*, 37(1), 113-137.
- Post, Buckley, Schuh y Jernigan, Inc. [PBS&J]. (2008). Best Management Practices (BMPs) for Construction, Dredge and Fill and Other Activities Adjacent to Coral Reefs. Southeast Florida Coral Reef Initiative; Maritime Industry and Coastal Construction Impacts Focus Team; Florida Department of Environmental Protection: Coral Reef Conservation Program. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.465.8174&rep=rep1&type=pdf>
- Randall, C. y van Woesik, R. (2015). Contemporary white- band disease in Caribbean coral driven by climate change. *Nature Climate Change*, 5(4), 375-379. doi:10.1038/NCLIMATE2530
- Reshef, L., Koren , O., Loya, Y., Zilber-Rosenberg, I. y Rosenberg, E. (2006). The Coral Probiotic Hypothesis. *Environmental Microbiology*, 8(12), 2068-2073. doi:10.1111/j.1462-2920.2006.01148.x
- Richardson, L., Smith, G., Ritchie, K. y Carlton, R. (2001). Integrating microbiological, microsensor, molecular, and physiologic techniques in the study of coral disease pathogenesis. *Hydrobiologia*, 460(1-3), 71-89.
- Rinkevich, B. (2005). Conservation of coral reefs through active restoration measures: recent approaches and last decade progress. *Environmental Science & Technology*, 39(12), 4333-4342. doi:10.1021/es0482583



- Rinkevich, B. (2014). Rebuilding coral reefs: does active reef restoration lead to sustainable reefs? *Current Opinion in Environmental Sustainability*, 7, 28-36. doi:10.1016/j.cosust.2013.11.018
- Ritchie, K. y Smith, G. (1998). Type II white-band disease . *Revista de Biología Tropical*, 199-203.
- Rivera-Sosa, A., Muñoz-Castillo, A., McField, M. y Arias-González, J. (2018). Unusual "knob-like chimney" growth forms on *Acropora* species in the Caribbean. *Frontiers in Marine Science*, 5, 41. doi:10.3389/fmars.2018.00041
- Shafir, S., Van Rijn, J. y Rinkevich, B. (2006). Steps in the construction of underwater coral nursey, an essential component in the reef restoration act. *Marine Biology*, 149, 679-687. doi:10.1007/s00227-005-0236-6
- Spalding, M., Ravilious, C. y Green, E. P. (2001). *World atlas of coral reefs*. Berkley, USA: University of California Press.
- Sutherland, K. P., Berry, B., Park, A., Kemp, D. W., Kemp, K. W., Lipp, E. K. y Porter, J. W. (2016). Shifting white pox aetiologies affecting *Acropora palmata* in the Florida Keys, 1994-2014. *The Royal Society*, 371(1689), 20150205. doi:10.1098/rstb.2015.0205
- Sutherland, K., Porter, J. y Torres, C. (2004). Disease and immunity in Caribbean and Indo-Pacific zooxanthellate corals. *Marine Ecology Progress Series*, 266, 273-302.
- Sweet, M., Croquer, J. y Bythell, J. (2014). Experimental antibiotic treatment identifies potential pathogens of white band disease in the endangered Caribbean coral *Acropora cervicornis*. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 281(1788), 20140094. doi:10.1098/rspb.2014.0094
- Towle, E., Enochs, I. y Langdon, C. (2015). Correction: Threatened Caribbean Coral Is Able to Mitigate the Adverse Effect of Ocean Acidification on Calcification by Increasing Feeding Rate. *Plos One*, 10(9), e0139398. doi:10.1371/journal.pone.0139398
- University of Florida. (2007, March 16). Cultured coral could help repair damaged reefs. *Science Daily*. Retrieved from [www.sciencedaily.com/releases/2007/03/070315171139.htm](http://www.sciencedaily.com/releases/2007/03/070315171139.htm)
- 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. doi:10.1111/gcb.13647
- Veron, J. E. (2011). Corals: biology, skeletal deposition, and reef-building. *Encyclopedia of Modern Coral Reefs: Structure, Form and Process*, 275-281.
- Vollmer, S. V. y Kline, D. I. (2008). Natural disease resistance in threatened staghorn corals. *Plos One*, 3(11).
- Weil, E., Urreiztieta, I. y Garzón- Ferreira, J. (2002, October 23-27). Geographic variability in the incidence of coral and octocoral diseases in the wider Caribbean. *Proceedings 9th International Coral Reef Symposium, Bali*, 2, 1231-1237.
- Wiens, J. A. y Hobbs, R. J. (2015). Integrating Conservation and Restoration in a Changing World. *BioScience*, 65(3), 302-312. doi:10.1093/biosci/biu235