

Procesos de fecundación, fase larval y sobrevivencia post-aseñamiento *ex situ* de tres especies constructoras de arrecife del Caribe colombiano

Fertilization processes, larval phase and *ex situ* post-settlement survival processes of three reef-building species from the Colombian Caribbean

Dayana Rada-Osorio

dayanaradaosorio@gmail.com

0009-0008-2645-9828

Kathleyn Valiente

kvaliente@unimagdalena.edu.co

0009-0006-6390-8018

Rocío García-Urueña

rgarciau@unimagdalena.edu.co

0000-0002-9667-3386

Universidad del Magdalena, Santa Marta, Colombia.

Recibido / Received: 19/03/2026

Aceptado / Accepted: 13/06/2026

Citación / Citation: Rada-Osorio, D.; Valiente, K.; García-Urueña, R. 2026. Procesos de fecundación, fase larval y sobrevivencia post-aseñamiento *ex situ* de tres especies constructoras de arrecife del Caribe colombiano. Bol. Invest. Mar. Cost., 55(2): 124-146.

RESUMEN

Desde 2023 para la región de Santa Marta se ha avanzado en conocer los tiempos de desove de las especies de coral *Diploria labyrinthiformis*, *Colpophyllia natans* y *Pseudodiploria strigosa*; con el propósito de profundizar en las estrategias de restauración. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo es presentar los avances luego de la fertilización. En 2025 se recolectaron gametos en los eventos reproductivos y en laboratorio se realizó la fertilización asistida y se documentó el desarrollo embrionario y larval describiendo las fases y tiempos del desarrollo. Posteriormente, se siguió el asentamiento de las larvas expuestas a diferentes tipos de sustratos acondicionados. Finalmente, la sobrevivencia post-aseñamiento fue estimada mediante conteos individuales de pólipos en dos fases (laboratorio y tanques externos). Se documentaron 9 estadios de desarrollo para *D. labyrinthiformis* y *P. strigosa* y 12 para *C. natans*. *Diploria labyrinthiformis* presentó el mayor número de larvas asentadas (21172), seguida por *C. natans* (5398 en septiembre y 932 en octubre) y *P. strigosa* (226), con un asentamiento variable entre sustratos. La mayor mortalidad se observó en laboratorio y fue menor en los tanques externos, indicio que la mejora en las condiciones de los sistemas experimentales aumenta las tasas de sobrevivencia en condiciones *ex situ*.

Palabras clave: desarrollo temprano, sustratos de asentamiento, reclutamiento coralino, algas coralinas costrosas

ABSTRACT

Since 2023, progress has been made in understanding the spawning times of the coral species *Diploria labyrinthiformis*, *Colpophyllia natans*, and *Pseudodiploria strigosa* in the Santa Marta region, with the aim of advancing restoration strategies. Therefore, the objective of this study is to present the progress after assisted fertilization. Gametes were collected in 2025 during the reproductive events, and assisted fertilization was performed in the laboratory. Embryonic and larval development were documented, describing the phases and timing of development. Subsequently, larval settlement exposed to different types of conditioned substrates was monitored. Finally, post-settlement survival was estimated by individual polyp counts in two phases (laboratory and external tanks). Nine developmental stages were documented for *D. labyrinthiformis* and *P. strigosa*, and 12 for *C. natans*. *Diploria labyrinthiformis* showed the highest number of settled larvae (21,172), followed by *C. natans* (5,398 in September and 932 in October) and *P. strigosa* (226), with variable settlement rates among substrates. The highest mortality was observed in the laboratory, while lower in external tanks, indicating that improved experimental system conditions increased survival rates under *ex situ* conditions.

Keywords: early development, settlement substrates, coral recruitment, crustose coralline algae

INTRODUCCIÓN

La reproducción sexual en corales es el principal mecanismo generador de variabilidad genética dentro de las poblaciones arrecifales (Matz *et al.*, 2018). En especies desovadoras, la liberación masiva y sincronizada de gametos en la columna de agua incrementa la probabilidad de fecundación cruzada entre colonias genéticamente distintas y favorece la recombinación genética (Omori *et al.*, 2007; Hagedorn *et al.*, 2009; Kaniewska *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2021). Este modo reproductivo es predominante en numerosos corales escleractíneos como *Acropora cervicornis*, *Diploria labyrinthiformis*, *Pseudodiploria strigosa*, *Orbicella faveolata*, *O. annularis* y *Colpophyllia natans*, cuyos gametos son liberados en paquetes en la columna de agua para la fertilización externa, originando larvas planctónicas que experimentan un periodo de dispersión antes de asentarse sobre un sustrato adecuado, donde inician la fase bentónica de su ciclo de vida (Chamberland *et al.*, 2017b; Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022).

Al promover la recombinación genética, este proceso sustenta el mantenimiento y la capacidad adaptativa poblacional, aumenta la probabilidad de que emerjan genotipos con tolerancia diferencial frente a estresores como variaciones en la temperatura del mar, acidificación oceánica y la incidencia de enfermedades (Baums *et al.*, 2013; Quigley *et al.*, 2019; Davies *et al.*, 2023; Afiq-Rosli y Duarte, 2025). Sin embargo, estos mismos estresores afectan de manera desproporcionada las fases tempranas del ciclo de vida, particularmente sensibles a la calidad del sustrato y a las condiciones ambientales; su alteración reduce la incorporación de nuevos individuos y compromete la renovación y estabilidad poblacional (Vermeij *et al.*, 2006; Ritson-Williams *et al.*, 2009; Howells *et al.*, 2021).

Por lo tanto, la reproducción sexual ha emergido como una estrategia central en restauración coralina, dado que el cultivo de larvas a partir de la fertilización asistida permite aumentar la producción de reclutas y maximizar la combinación de genotipos parentales, promoviendo la incorporación de diversidad genética a las poblaciones naturales (Harrison, 2010; Baums *et al.*, 2022). Su implementación depende de una planificación precisa de los eventos reproductivos, por ello los pronósticos de desove desarrollados por Carmabi (2025) para el Caribe han facilitado la sincronización de la colecta de gametos y la estandarización de protocolos de fertilización y cultivo larval, fortaleciendo programas

INTRODUCTION

Sexual reproduction in corals is the main mechanism for generating genetic variability within reef populations (Matz *et al.*, 2018). In spawning species, the massive and synchronized release of gametes into the water column increases the probability of cross-fertilization between genetically distinct colonies and promotes genetic recombination (Omori *et al.*, 2007; Hagedorn *et al.*, 2009; Kaniewska *et al.*, 2015; Lin *et al.*, 2021). This reproductive mode is predominant in numerous scleractinian corals such as *Acropora cervicornis*, *D. labyrinthiformis*, *P. strigosa*, *Orbicella faveolata*, *O. annularis* and *C. natans*, whose gametes are released in bundles into the water column for external fertilization, originating planktonic larvae that undergo a dispersion period before settling on a suitable substrate, where they begin the benthic phase of their life cycle (Chamberland *et al.*, 2017b; Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022).

By promoting genetic recombination, this process supports the maintenance and adaptive capacity of the population, increasing the probability that genotypes with differential tolerance to stressors such as variations in sea temperature, ocean acidification, and disease incidence will emerge (Baums *et al.*, 2013; Quigley *et al.*, 2019; Davies *et al.*, 2023; Afiq-Rosli and Duarte, 2025). However, these same stressors disproportionately affect the early phases of the life cycle, which are particularly sensitive to substrate quality and environmental conditions; their alteration reduces the incorporation of new individuals and compromises population renewal and stability (Vermeij *et al.*, 2006; Ritson-Williams *et al.*, 2009; Howells *et al.*, 2021).

Therefore, sexual reproduction has emerged as a central strategy in coral restoration, given that larval culture from assisted fertilization allows for increased recruit production and maximizes the combination of parental genotypes, promoting the incorporation of genetic diversity into natural populations (Harrison, 2010; Baums *et al.*, 2022). Its implementation depends on precise planning of reproductive events; therefore, the spawning forecasts developed by CARMABI (2025) for the Caribbean have facilitated the synchronization of gamete collection and the standardization of fertilization and larval culture protocols, strengthening regional restoration programs (Marhaver *et al.*, 2025).

Although the early phases of corals are usually conserved among species, the duration and dynamics of each stage can vary (Okubo

regionales de restauración (Marhaver *et al.*, 2025).

Aunque las fases tempranas de corales suelen ser conservadas entre especies, la duración y dinámica de cada etapa pueden variar (Okubo *et al.*, 2013). En especies como *D. labyrinthiformis*, *C. natans*, *P. strigosa* y *O. faveolata* se ha avanzado en la información sobre el desarrollo temprano y son varias las estrategias para la incorporación de nuevos reclutas al medio natural (Miller *et al.*, 2016; Chamberland *et al.*, 2017a, 2017b; Sellares-Blasco *et al.*, 2021). En el Caribe se han venido monitoreado los eventos de desove de las especies mencionadas con la finalidad de obtener gametos para realizar la fertilización sexual *ex situ* garantizando el éxito en esta etapa y asegurando un mayor número de larvas competentes para el asentamiento (Sellares-Blasco *et al.*, 2021; Chamberland *et al.*, 2025). Sin embargo, en Colombia solo en los últimos años se ha iniciado esta estrategia de reproducción asistida para especies como *O. faveolata*, *O. annularis* y *A. cervicornis* (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022). Por lo tanto, el presente estudio tuvo como objetivo mostrar los avances en el Caribe colombiano en la descripción de las fases y tiempos del desarrollo temprano de *D. labyrinthiformis*, *C. natans* y *P. strigosa* y evaluar las tasas de asentamiento y supervivencia post-asentamiento *ex situ* en laboratorio y tanques externos y en diferentes tipos de sustratos, esto con el fin de aportar en los programas de restauración sustentados en reproducción sexual para la región.

ÁREA DE ESTUDIO

Este trabajo fue realizado en el Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT) en los sectores de Granate (11° 18' 06.6" N, 74° 11' 40.0" W) y El Torín en isla Aguja (11° 18' 36.0" N, 74° 11' 27.6" O) (Figura 1). Estos arrecifes son estructuralmente complejos y representativos del área, con registros de cobertura de coral vivo de aproximadamente 51.9% en el PNNT (Coneo-Gómez *et al.*, 2024). Estos sectores presentan una cobertura importante de especies formadoras de arrecifes como *O. faveolata*, *D. labyrinthiformis*, *P. strigosa* y *C. natans*, entre otras (Acosta-Chaparro *et al.*, 2025; Daza-Guerra *et al.*, 2026).

et al., 2013). In species such as *D. labyrinthiformis*, *C. natans*, *P. strigosa* and *O. faveolata*, progress has been made in information regarding early development, and there are several strategies for the incorporation of new recruits into the natural environment (Miller *et al.*, 2016; Chamberland *et al.*, 2017a, 2017b; Sellares-Blasco *et al.*, 2021). In the Caribbean, spawning events of the aforementioned species have been monitored with the aim of obtaining gametes to perform *ex situ* sexual fertilization, guaranteeing success at this stage and ensuring a greater number of competent larvae for settlement (Sellares-Blasco *et al.*, 2021; Chamberland *et al.*, 2025). However, in Colombia, this assisted reproduction strategy for species such as *O. faveolata*, *O. annularis* and *A. cervicornis* has only been initiated in recent years (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022). Therefore, the present study aimed to show the progress in the Colombian Caribbean in describing the phases and timing of the early development of *D. labyrinthiformis*, *C. natans* and *P. strigosa* and to evaluate the *ex situ* settlement and post-settlement survival rates in the laboratory and external tanks and on different types of substrates, in order to contribute to restoration programs based on sexual reproduction for the region.

STUDY AREA

This work was carried out in the Tayrona National Natural Park (PNNT) in the sectors of Granate (11° 18' 06.6" N, 74° 11' 40.0" W) and El Torín on Isla Aguja (11° 18' 36.0" N, 74° 11' 27.6" W) (Figure 1). These reefs are structurally complex and representative of the area, with records of live coral cover of approximately 51.9% in the PNNT (Coneo-Gómez *et al.*, 2024). These sectors present significant coverage of reef-building species such as *O. faveolata*, *D. labyrinthiformis*, *P. strigosa* and *C. natans*, among others (Acosta-Chaparro *et al.*, 2025; Daza-Guerra *et al.*, 2026).

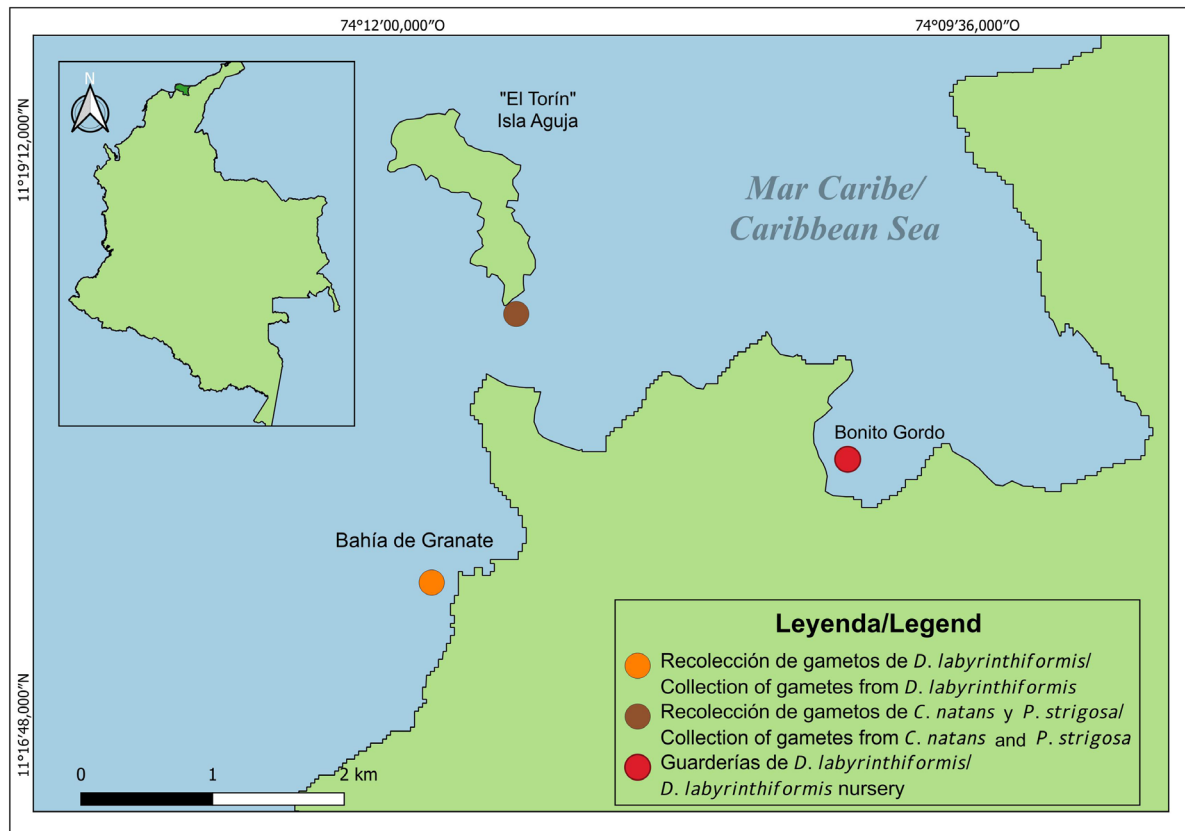


Figura 1. Área de estudio dentro del Parque Nacional Natural Tayrona (PNNT). Sitios de recolección de gametos de *Diploria labyrinthiformis* (círculo naranja), *Colpohyllia natans* y *Pseudodiploria strigosa* (círculo marrón) y montaje de guardería (círculo rojo).

Figure 1. Study area within the Tayrona National Natural Park (PNNT). Gamete collection sites for *Diploria labyrinthiformis* (orange circle), *Colpohyllia natans* and *Pseudodiploria strigosa* (brown circle), and nursery setup (red circle).

Recolección de gametos

Para la recolección de gametos de las tres especies se revisaron los pronósticos de desove (Carmabi, 2025); con ello, dos días antes fueron visitados los sitios de muestreo y se etiquetaron varias colonias con marcas de acrílico codificadas. El desove de *D. labyrinthiformis* ocurrió en el sector de Granate el 24 de mayo de 2025, entre 5:20 y 5:40 pm; fueron recolectados los gametos de cuatro colonias con tamaños entre 327 y 978 cm². Para *C. natans* las observaciones se realizaron en isla Aguja entre 5 y 10 m de profundidad y se recolectaron gametos el 13 de septiembre a las 6:34 pm y el 13 de octubre a las 6:10 pm. En octubre, igualmente se recolectaron gametos de *P. strigosa*, ocurriendo el desove a las 7:13 pm. Los paquetes de gametos fueron recolectados por medio de buceo SCUBA y se utilizaron redes de nailon (ojo de malla: 400 µm), que en su extremo tenían un tubo Falcón de 50 mL (Figura 2A, B). Los gametos fueron llevados a la planta piloto de Taganga para realizar el proceso de fertilización asistida (Figura 2C) (Rada-Osorio et al., 2022; Alvarado-Chacón et al., 2023).

Gamete collection

For the collection of gametes from the three species, the spawning forecasts (CARMABI, 2025) were reviewed; with this, the sampling sites were visited two days prior, and several colonies were tagged with coded acrylic markers. The spawning of *D. labyrinthiformis* occurred in the Granate sector on May 24, 2025, between 5:20 and 5:40 pm; gametes were collected from four colonies with sizes between 327 and 978 cm². For *C. natans*, observations were made on Isla Aguja between 5 and 10 m depth, and gametes were collected on September 13 at 6:34 pm and on October 13 at 6:10 pm. In October, gametes of *P. strigosa* were also collected, with spawning occurring at 7:13 pm. The gamete bundles were collected by SCUBA diving using nylon nets (mesh size: 400 µm), which had a 50 mL Falcon tube at their end (Figure 2A, B). The gametes were taken to the Taganga pilot plant to carry out the assisted fertilization process (Figure 2C) (Rada-Osorio et al., 2022; Alvarado-Chacón et al., 2023).

Fertilización de gametos

La fertilización asistida de cada especie (*D. labyrinthiformis*, *C. natans* y *P. strigosa*) se realizó mezclando gametos provenientes de diferentes colonias en jarras separadoras de grasa de 1 L (Norpro® WA, EE. UU.) (Figura 2D). Inicialmente se estimó el volumen de gametos recolectados de cada especie en un tubo Falcon: para *D. labyrinthiformis* 8 mL, para *C. natans* 4 mL en septiembre y 3 mL en octubre, y para *P. strigosa* 2 mL en octubre. Después de dos horas, la fertilización fue confirmada a través del estereoscopio (Figura 2E). Debido a que los huevos presentan flotabilidad positiva y para eliminar el exceso de espermatozoides, éstos fueron lavados cuatro veces con agua de mar filtrada (5–20 µm) y esterilizada con luz ultravioleta (UV). El recambio de agua de mar se realizó por el mismo canal de la jarra hasta lograr un color translucido, lo cual indica que ya no había exceso de esperma (Banaszak *et al.*, 2018; Rada-Osorio *et al.*, 2022, 2026; Alvarado-Chacón *et al.*, 2023).

Desarrollo embrionario y larval

Después de confirmada la fertilización, los embriones fueron colocados en bandejas plásticas transparentes con 25 L de agua de mar filtrada y esterilizada con UV. Diariamente se realizaron recambios de agua con una manguera que en su extremo tenía un filtro de 100 µm para evitar el paso de los embriones. Además, se eliminaron los lípidos de la superficie del agua con papel vinipel y pipetas plásticas Pasteur de 2 mL. Con estos embriones se procedió a caracterizar su desarrollo, para ello se tomaron tres muestras cada hora y se determinó el número de embriones en cada estadio (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022). Entre cuatro y cinco días permanecieron en los recipientes con una temperatura aproximada de 27 °C hasta que mostraron movimientos de desplazamiento hacia el fondo, por lo cual se consideraron larvas competentes (Figura 2F). Para estimar el número total de larvas obtenidas, el volumen total de las bandejas fue concentrado a 10 L de agua y con ello fueron tomados 10 muestras de 10 mL que se adicionaron en cristalizadores de vidrio para realizar el conteo, separando cada larva una a una (Schutter *et al.*, 2023).

Gamete fertilization

The assisted fertilization of each species (*D. labyrinthiformis*, *C. natans* and *P. strigosa*) was performed by mixing gametes from different colonies in 1 L fat separator jars (Norpro® WA, USA) (Figure 2D). Initially, the volume of gametes collected from each species was estimated in a Falcon tube: for *D. labyrinthiformis* 8 mL, for *C. natans* 4 mL in September and 3 mL in October, and for *P. strigosa* 2 mL in October. After two hours, fertilization was confirmed using a stereoscope (Figure 2E). Because the eggs have positive buoyancy and to eliminate excess sperm, they were washed four times with filtered (5–20 µm) seawater sterilized with ultraviolet (UV) light. The seawater exchange was performed through the same channel of the jar until a translucent color was achieved, which indicates that there was no longer excess sperm (Banaszak *et al.*, 2018; Rada-Osorio *et al.*, 2022, 2026; Alvarado-Chacón *et al.*, 2023).

Embryonic and larval development

After fertilization was confirmed, the embryos were placed in transparent plastic trays with 25 L of filtered and UV-sterilized seawater. Daily water changes were performed with a hose that had a 100 µm filter at its end to prevent the passage of the embryos. In addition, lipids were removed from the water surface with plastic wrap and 2 mL plastic Pasteur pipettes. With these embryos, we proceeded to characterize their development; for this, three samples were taken every hour and the number of embryos in each stage was determined (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020, 2023; Rada-Osorio *et al.*, 2022). They remained in the containers for four to five days at an approximate temperature of 27 °C until they showed displacement movements towards the bottom, for which they were considered competent larvae (Figure 2F). To estimate the total number of larvae obtained, the total volume of the trays was concentrated to 10 L of water, and from this, 10 samples of 10 mL were taken and added to glass crystallizers to perform the count, separating each larva one by one (Schutter *et al.*, 2023).

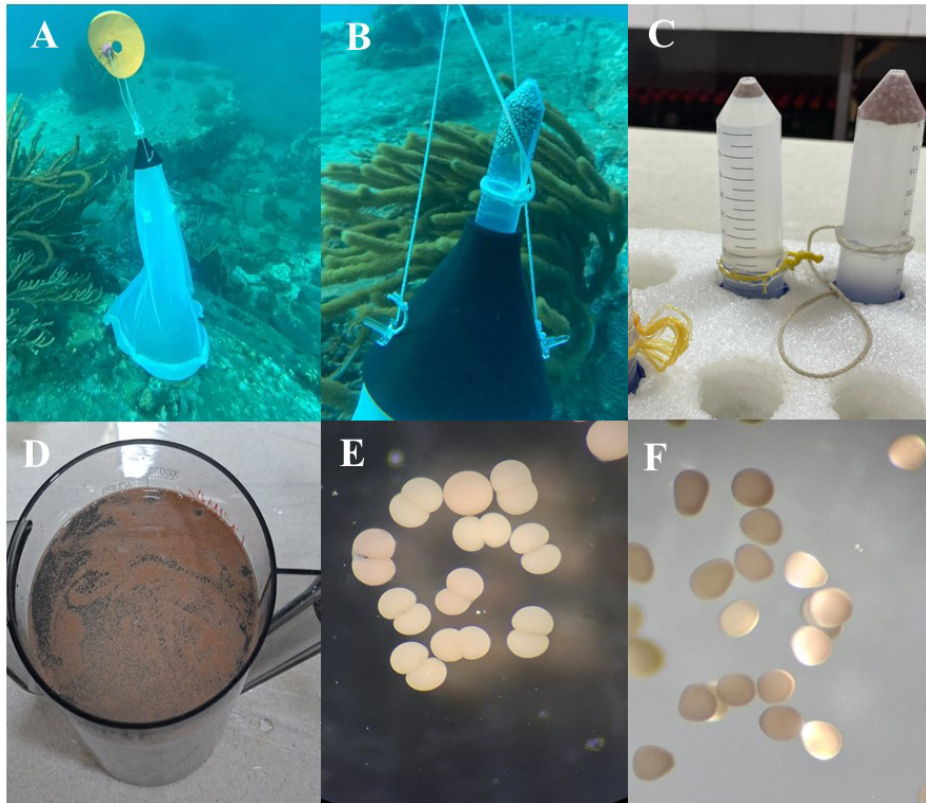


Figura 2. Trampas de gametos (A), tubos con los paquetes de gametos en campo (B) y en el laboratorio (C), fertilización de gametos (D), embriones de dos células (E) y larvas competentes (F).

Figure 2. Gamete traps (A), tubes with gamete bundles in the field (B) and in the laboratory (C), gamete fertilization (D), two-cell embryos (E), and competent larvae (F).

Colecta de sustratos para el asentamiento larval

Para la fase de asentamiento se utilizaron cuatro tipos de sustratos: en forma de estrella (elaborados por Secore International), en forma de triángulo con arcilla (elaborado por Facultad de Diseño de la Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá), tetrápodos de cemento y arena (molde donado por Secore) y placas de piso en cerámica (Figura 3). Estos fueron colocados en el arrecife de isla Aguja un mes antes del desove coralino para que fueran colonizados por algas coralinas costrosas (ACC) e inducir el asentamiento larval (Siboni *et al.*, 2020; Abdul Wahab *et al.*, 2023). Una vez se observó en el laboratorio que las larvas eran competentes, los sustratos fueron recolectados del arrecife y cepillados para eliminar el sedimento y las algas filamentosas. En mayo se recuperaron 119 sustratos (16 tetrápodos, 14 estrellas y 89 placas), en septiembre 168 (102 tetrápodos, 30 estrellas y 36 placas), y en octubre 212 (46 tetrápodos, 113 estrellas, 13 placas y 40 triángulos).

Collection of substrates for larval settlement

For the settlement phase, four types of substrates were used: star-shaped (made by SECORE International), triangle-shaped with clay (made by the Faculty of Design of the Jorge Tadeo Lozano University, Bogotá), cement and sand tetrapods (mold donated by SECORE), and ceramic floor tiles (Figure 3). These were placed on the Isla Aguja reef one month before coral spawning so that they would be colonized by crustose coralline algae (CCA) and induce larval settlement (Siboni *et al.*, 2020; Abdul Wahab *et al.*, 2023). Once it was observed in the laboratory that the larvae were competent, the substrates were collected from the reef and brushed to remove sediment and filamentous algae. In May, 119 substrates were recovered (16 tetrapods, 14 stars, and 89 plates), in September 168 (102 tetrapods, 30 stars, and 36 plates), and in October 212 (46 tetrapods, 113 stars, 13 plates, and 40 triangles).

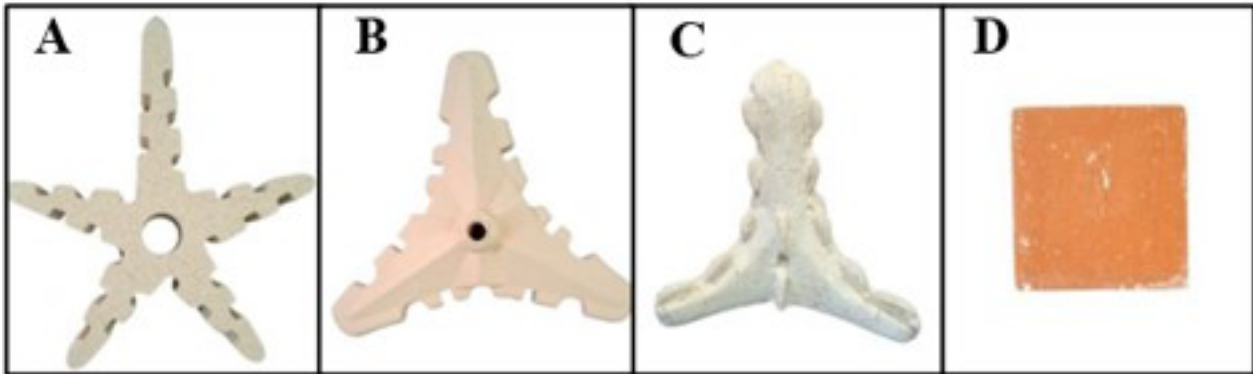


Figura 3. Tipos de sustratos para asentamiento larval. En forma de estrella (A), en forma de triángulo (B), tetrápodos (C) y placas (D).

Figure 3. Types of substrates for larval settlement. Star-shaped (A), triangle-shaped (B), tetrapods (C), and plates (D).

Experimento de asentamiento

Al inicio de la temporada de desove coralino (mayo de 2025), para comprobar la importancia del acondicionamiento de los sustratos en el arrecife (colonización de ACC y biopelículas), se realizó un montaje experimental exponiendo larvas de *D. labyrinthiformis* a tres tratamientos: sustratos acondicionados, sustratos acondicionados lavados con agua dulce durante una hora y sustratos con ACC muerta. Se realizaron cinco réplicas por tratamiento con 30 larvas cada uno. Después de 48 h se contó el número de larvas asentadas y los datos fueron expresados en porcentajes.

Montaje de tanques para asentamiento larval y sobrevivencia post-asentamiento

Las condiciones del laboratorio para todos los procesos de fertilización fueron constantes, con luz artificial y una temperatura entre 27 y 28 °C (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020). En mayo los 119 sustratos fueron divididos en tres tanques con capacidad 80 L aproximadamente y 68600 larvas *D. labyrinthiformis* se repartieron en los tres tanques. En septiembre los 168 sustratos se dividieron en cuatro tanques con 37825 larvas de *C. natans*; en octubre se distribuyeron los 212 sustratos en cinco tanques, dos tanques para *P. strigosa* repartidas 3350 larvas y tres tanques para *C. natans* con 25966 larvas. El proceso de asentamiento se realizó cuando las larvas adquirieron competencia; para *D. labyrinthiformis* fueron competentes a los tres días de desarrollo y para *C. natans* y *P. strigosa* al cuarto día. Esta etapa tuvo una duración aproximada de 72 horas; después de este tiempo se revisaron cada uno de los sustratos y se contó el número de larvas asentadas.

Settlement experiment

At the beginning of the coral spawning season (May 2025), to verify the importance of substrate conditioning on the reef (colonization of CCA and biofilms), an experimental setup was carried out exposing *D. labyrinthiformis* larvae to three treatments: conditioned substrates, conditioned substrates washed with fresh water for one hour, and substrates with dead CCA. Five replicates were performed per treatment with 30 larvae each. After 48 h, the number of settled larvae was counted, and the data were expressed as percentages.

Tank setup for larval settlement and post-settlement survival

Laboratory conditions for all fertilization processes were constant, with artificial light and a temperature between 27 and 28 °C (Alvarado-Chacón *et al.*, 2020). In May, the 119 substrates were divided into three tanks with a capacity of approximately 80 L, and 68,600 *D. labyrinthiformis* larvae were distributed among the three tanks. In September, the 168 substrates were divided into four tanks with 37,825 *C. natans* larvae; in October, the 212 substrates were distributed into five tanks, two tanks for *P. strigosa* with 3,350 larvae distributed, and three tanks for *C. natans* with 25,966 larvae. The settlement process was carried out when the larvae acquired competence; for *D. labyrinthiformis*, they were competent at three days of development, and for *C. natans* and *P. strigosa* at the fourth day. This stage lasted approximately 72 hours; after this time, each of the substrates was checked, and the number of settled larvae was counted.

Tras la evaluación del asentamiento se proporcionó un sistema de aireación a los tanques. En mayo, los pólipos de *D. labyrinthiformis* fueron mantenidos en condiciones controladas por un mes y luego fueron trasplantados a Bahía Concha en el sector de Bonito Gordo. Este trasplante se realizó al no contar aun con los tanques de fibra para condiciones *ex situ*. Para el trasplante los sustratos de placas fueron colocados en mallas con amarres plásticos y puestos en la parte superior de una estructura de metal de 1 m² a 3 m de profundidad, mientras que los sustratos de estrella y tetrápodos fueron colgados con nailon transparente en la misma estructura. Se realizó seguimiento mensual durante 10 meses con limpieza de sedimentos utilizando cepillos de cerda suave.

Por otro lado, los pólipos de *C. natans* y *P. strigosa* se mantuvieron en laboratorio durante dos meses. Cada cuatro días se realizaron recambios de agua y los pólipos se alimentaron con la microalga *Isochrysis galbana* y con el crustáceo *Artemia salina* (Schutter *et al.*, 2023). Luego de este tiempo, los sustratos fueron transferidos a un tanque externo de 1500 L para favorecer el crecimiento y sobrevivencia de los pólipos. Se siguió con el mismo tipo de alimentación y se llevaron a cabo recambios de agua semanalmente para mantener una buena calidad del agua y evitar la proliferación de bacterias. Cada mes se contó el número de pólipos sobrevivientes y los datos se expresaron en porcentaje. Los pólipos de estas especies permanecieron en tanques externos para ser trasplantados al arrecife con mayor tamaño.

Análisis de datos

Los datos del experimento de asentamiento de *D. labyrinthiformis* en sustratos acondicionados, lavados con agua y con ACC muerta cumplieron con los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilk, $p = 0.204$) y homogeneidad de varianza (Levene, $p = 0.630$); se realizó una prueba Anova a una vía con post hoc de Tukey. Los datos de asentamiento para las tres especies en los diferentes tipos de sustratos (tetrápodos, estrellas, placas y triángulos) no cumplieron con los supuestos de normalidad (Shapiro–Wilk, $p < 0.05$) ni homogeneidad de varianza (Levene, $p < 0.05$); por ello se realizaron los análisis con la prueba no paramétrica de Kruskal–Wallis y se utilizó la prueba post hoc de Dunn con corrección de Bonferroni.

Por otro lado, la sobrevivencia se evaluó solo para *C. natans* y *P. strigosa* al poder cuantificar directamente los sustratos en laboratorio y se evaluó mediante curvas de Kaplan–Meier. Se

After the settlement evaluation, an aeration system was provided to the tanks. In May, the *D. labyrinthiformis* polyps were kept under controlled conditions for one month and then outplanted to Bahía Concha in the Bonito Gordo sector. This outplant was carried out as there were no fiber tanks available yet for *ex situ* conditions. For the outplant, the plate substrates were placed in mesh with plastic ties and placed on top of a 1 m² metal structure at a depth of 3 m, while the star and tetrapod substrates were hung with transparent nylon on the same structure. Monthly monitoring was carried out for 10 months with sediment cleaning using soft-bristle brushes.

On the other hand, the *C. natans* and *P. strigosa* were kept in the laboratory for two months. Water changes were performed every four days and the polyps were fed with the microalga *Isochrysis galbana* and the crustacean *Artemia salina* (Schutter *et al.*, 2023). After this time, the substrates were transferred to an external 1500 L tank to promote the growth and survival of the polyps. The same type of feeding was continued, and water changes were carried out weekly to maintain good water quality and prevent bacterial proliferation. Every month, the number of surviving polyps was counted, and the data were expressed as a percentage. The polyps of these species remained in external tanks to be outplanted to the reef at a larger size.

Data analysis

The data from the *D. labyrinthiformis* settlement experiment on conditioned substrates, water-washed substrates, and dead CCA met the assumptions of normality (Shapiro–Wilk, $p = 0.204$) and homogeneity of variance (Levene, $p = 0.630$); a one-way ANOVA test with Tukey's post hoc was performed. The settlement data for the three species on the different types of substrates (tetrapods, stars, plates, and triangles) did not meet the assumptions of normality (Shapiro–Wilk, $p < 0.05$) or homogeneity of variance (Levene, $p < 0.05$); therefore, the analyses were performed using the non-parametric Kruskal–Wallis test, and Dunn's post hoc test with Bonferroni correction was used.

On the other hand, survival was evaluated only for *C. natans* and *P. strigosa*, as the substrates could be directly quantified in the laboratory, and it was evaluated using Kaplan–Meier curves. The Log-rank (Mantel–Cox) test was applied to determine which types of substrates showed differences. The statistical analyses described in this section were performed using the programs IBM SPSS Statistics version 23 and Statgraphics Centurion XVII.

aplicó la prueba Log-rank (Mantel–Cox) para determinar que tipos de sustratos presentaron diferencias. Los análisis estadísticos descritos en esta sección se realizaron con los programas IBM SPSS Statistics versión 23 y Statgraphics Centurion XVII.

RESULTADOS

Fertilización de gametos, desarrollo embrionario y larval

Para *D. labyrinthiformis* después de dos horas la fertilización fue de 78 %. Para *C. natans* recolectada en septiembre fue de 80 % y en octubre de 95 %; para *P. strigosa* recolectada en octubre fue de 85 %. Las primeras etapas de desarrollo fueron rápidas desde el primer clivaje hasta la gastrulación; estas etapas ocurrieron entre 15 y 17 h después de la fertilización (Tabla 1). Posteriormente, los cambios fueron más pausados observándose las primeras plánulas después de 19 h, las cuales tenían un movimiento lento. A partir del tercer día se empezaron a observar plánulas elongadas de *D. labyrinthiformis* y al cuarto día las de *C. natans* y *P. strigosa* (Figura 4 y 5). En estado de larvas se observan movimientos verticalmente hacia el fondo y un comportamiento exploratorio, lo que indica que ya habían desarrollado cilios para la locomoción (Limer et al., 2024).

Tabla 1. Etapas del desarrollo embrionario y larval de *D. labyrinthiformis*, *C. natans* y *P. strigosa*. Los datos de cada etapa del desarrollo embrionario y larval corresponden al tiempo en el cual se encontró el mayor número de individuos en cada estadio, expresados en horas después de la fertilización – hdf.

Estadios de desarrollo temprano/Early developmental stages	Fecha-Hora/Date-time		
	<i>D. labyrinthiformis</i>	<i>C. natans</i>	<i>P. strigosa</i>
Desove/Spawning	24- May- 2025	13- Sep- 2025	13- oct- 2025
Fertilización asistida/ Assisted fertilization	6:48 pm – 8:07 pm	8:51 pm-10:07 pm	8:20 pm – 10:00 pm
Embrión de 2 células/ 2 cell embryo	1:07	1:16	1:05
Embrión de 4-8 células/ 4-8 cell embryo	1:54	3:10	2:20
Embrión de 16-32 células/ 16-32 cell embryo	2:43	4:10	3:20
Mórula/Morula	3:43	6:30	5:20
Prawn chip	5:55	7:30	6:20
Blástula/Blastula	9:31	11:30	10:20
Gástrula/Gastrula	15:00	16:40	15:08
Plánula temprana/ Early planula	19:00	23:00	19:55
Plánula elongada/ Elongated planula	3 días	4 días	4 días

RESULTS

Gamete fertilization, embryonic and larval development

For *D. labyrinthiformis*, after two hours, fertilization was 78%. For *C. natans* collected in September it was 80% and in October 95%; for *P. strigosa* collected in October it was 85%. The first stages of development were rapid from the first cleavage to gastrulation; these stages occurred between 15 and 17 h after fertilization (Table 1). Subsequently, the changes were slower, with the first planulae observed after 19 h, which had slow movement. From the third day, elongated planulae of *D. labyrinthiformis* began to be observed, and on the fourth day, those of *C. natans* and *P. strigosa* (Figures 4 and 5). In the larval state, vertical movements towards the bottom and exploratory behavior are observed, which indicates that they had already developed cilia for locomotion (Limer et al., 2024).

Table 1. Stages of embryonic and larval development of *D. labyrinthiformis*, *C. natans* and *P. strigosa*. The data for each stage of embryonic and larval development correspond to the time at which the greatest number of individuals were found in each stage, expressed in hours after fertilization – hpf.

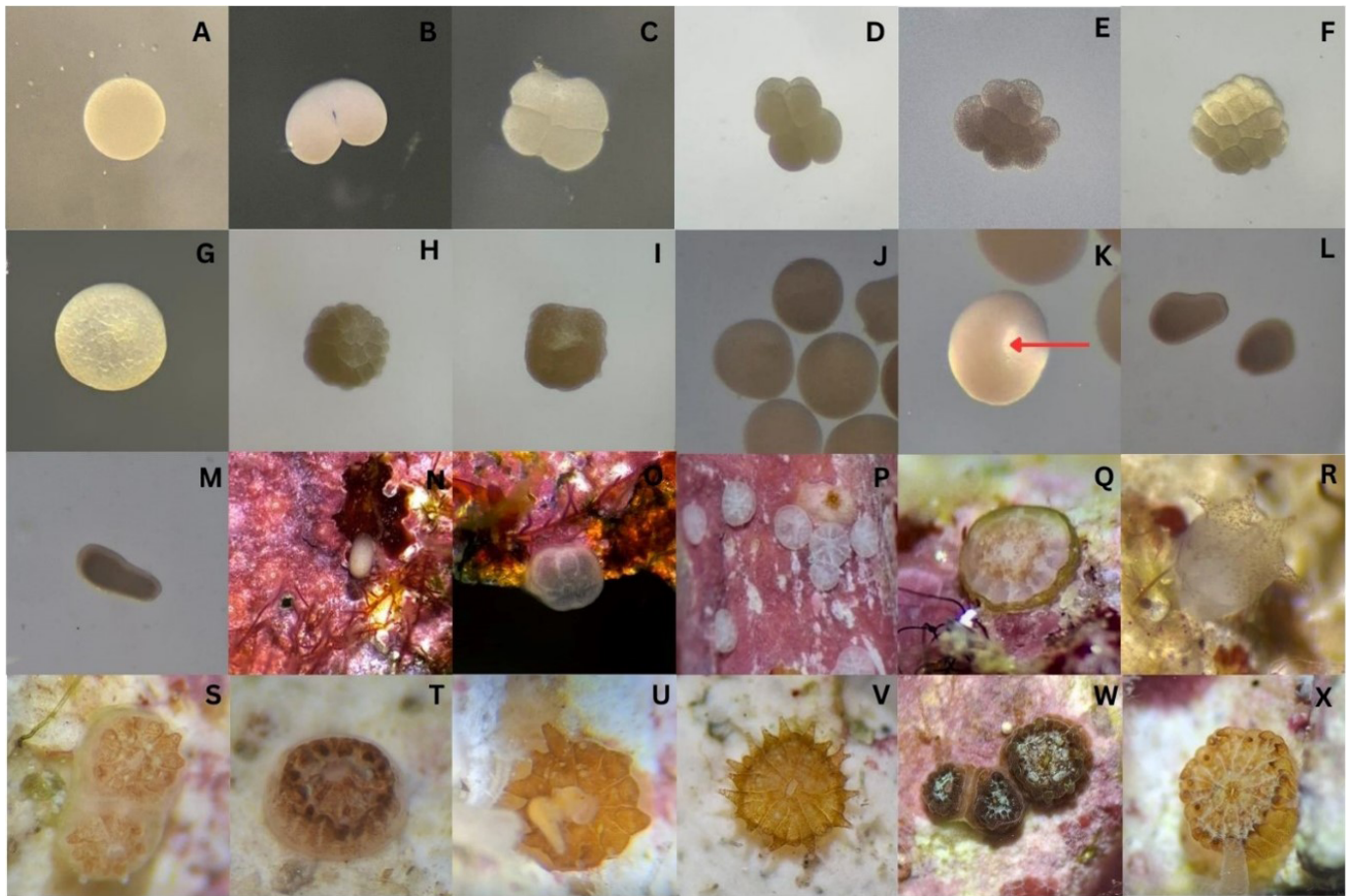


Figura 4. Desarrollo temprano de *Colpophyllia natans*. **A.** Huevo no fertilizado, **B.** Embrión en primer clivaje con dos blastómeros, **C.** Embrión en segundo clivaje con cuatro blastómeros, **D.** Embrión con ocho blastómeros, **E.** Embrión con dieciséis blastómeros, **F.** Embrión con treinta y dos blastómeros, **G.** Mórula, **H.** Prawn chip temprano, **I.** Prawn chip tardío, **J.** Blástula, **K.** Gastrulación media, inicio de invaginación del blastoporo (flecha roja), **L.** Plánula en forma de pera, **M.** Plánula alargada, **N.** Plánula buscando sustrato de asentamiento, **O.** Plánula asentada, **P.** Pólipos con inicio de calcificación, **Q.** Pólipos con zooxantelas, **R.** Pólipos de un mes, **S.** Pólipos de dos meses (quimera), **T.** Pólipos de tres meses, **U.** Pólipos alimentándose con *Artemia salina*, **V.** Pólipos de cuatro meses, **W.** Pólipos de cinco meses, **X.** Pólipos de seis meses.

Figure 4. Early development of *Colpophyllia natans*. **A.** Unfertilized egg, **B.** Embryo in first cleavage with two blastomeres, **C.** Embryo in second cleavage with four blastomeres, **D.** Embryo with eight blastomeres, **E.** Embryo with sixteen blastomeres, **F.** Embryo with thirty-two blastomeres, **G.** Morula, **H.** Early prawn chip, **I.** Late prawn chip, **J.** Blastula, **K.** Mid-gastrulation, start of blastopore invagination (red arrow), **L.** Pear-shaped planula, **M.** Elongated planula, **N.** Planula searching for settlement substrate, **O.** Settled planula, **P.** Polyps with onset of calcification, **Q.** Polyp with zooxanthellae, **R.** One-month-old polyp, **S.** Two-month-old polyp (chimera), **T.** Three-month-old polyp, **U.** Polyp feeding on *Artemia salina*, **V.** Four-month-old polyp, **W.** Five-month-old polyp, **X.** Six-month-old polyp.

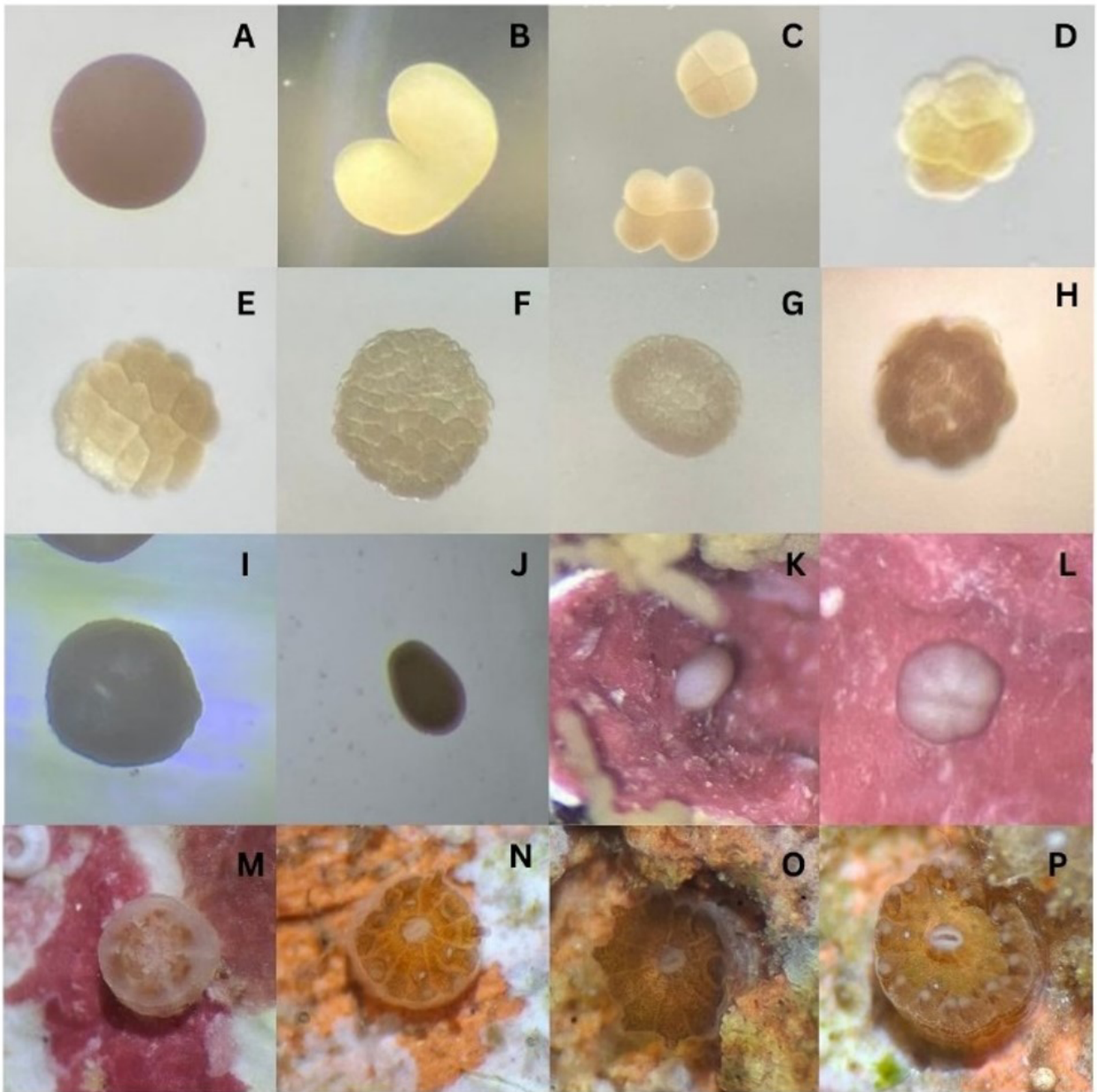


Figura 5. Desarrollo temprano de *Pseudodiploria strigosa*. **A.** Huevo no fertilizado, **B.** Embrión en primer clivaje con dos blastómeros, **C.** Embrión en segundo clivaje con cuatro blastómeros, **D.** Embrión con ocho blastómeros, **E.** Embrión con treinta y dos blastómeros, **F.** Mórula, **G.** Prawn chip temprano, **H.** Prawn chip tardío, **I.** Gastrulación media, inicio de invaginación del blastoporo, **J.** Plánula, **K.** Plánula buscando sustrato de asentamiento, **L.** Plánula asentada. **M.** Pólipo de un mes con adquisición de zooxantelas, **N.** Pólipo de dos meses, **O.** Pólipo de tres meses, **P.** Pólipo de cuatro meses.

Figure 5. Early development of *Pseudodiploria strigosa*. **A.** Unfertilized egg, **B.** Embryo in first cleavage with two blastomeres, **C.** Embryo in second cleavage with four blastomeres, **D.** Embryo with eight blastomeres, **E.** Embryo with thirty-two blastomeres, **F.** Morula, **G.** Early prawn chip, **H.** Late prawn chip, **I.** Mid-gastrulation, onset of blastopore invagination, **J.** Planula, **K.** Planula searching for settlement substrate, **L.** Settled planula. **M.** One-month-old polyp with zooxanthellae acquisition, **N.** Two-month-old polyp, **O.** Three-month-old polyp, **P.** Four-month-old polyp.

Experimento de asentamiento en sustratos acondicionados

Después de 48 h de exposición a los tratamientos experimentales, se encontró que los porcentajes de asentamiento larval fueron mayores en los sustratos acondicionados con 56.67 ± 4.63 % larvas (promedio \pm D.E), mientras que en aquellos que fueron lavados con agua dulce fue de 42.67 ± 6.76 y los que tenían las ACC muertas tuvieron porcentajes de 23.33 ± 4.89 %. El ANOVA mostró diferencias entre el tipo de acondicionamiento ($F = 4.15$; $p = 0.04$), y la prueba de Tukey determinó diferencias entre aquellos que fueron acondicionados y los que tenían ACC muerta, pero no se encontraron diferencias si eran acondicionados y se realizara o no lavado con agua dulce (Figura 6).

Settlement experiment on conditioned substrates

After 48 h of exposure to the experimental treatments, it was found that larval settlement percentages were higher on conditioned substrates with 56.67 ± 4.63 % larvae (mean \pm S.D.), while in those that were washed with freshwater it was 42.67 ± 6.76 % and those that had dead CCA had percentages of 23.33 ± 4.89 %. The ANOVA showed differences between the type of conditioning ($F = 4.15$; $p = 0.04$), and the Tukey test determined differences between those that were conditioned and those that had dead CCA, but no differences were found if they were conditioned and whether or not freshwater washing was performed (Figure 6).

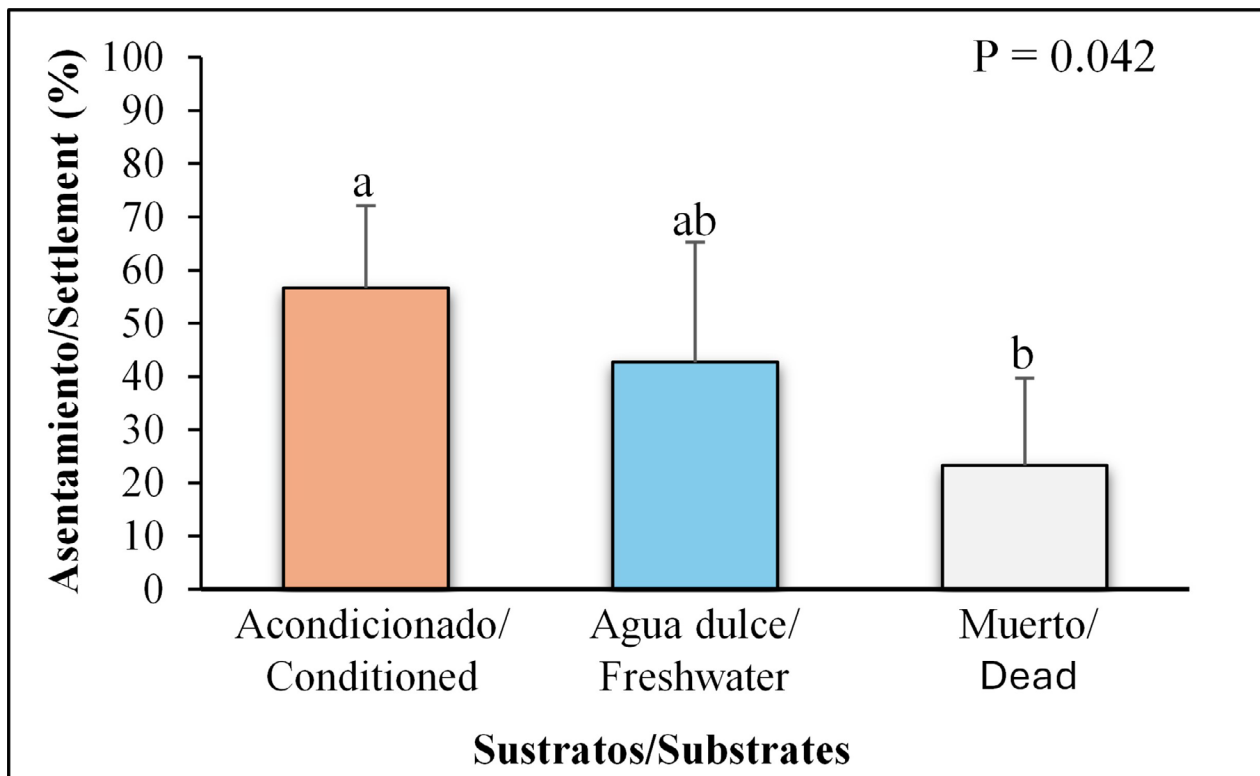


Figura 6. Porcentaje promedio de asentamiento con larvas de *Diploria labyrinthiformis*, después de 48 h de exposición según los sustratos eran acondicionados (sacados en fresco del arrecife), si eran lavados con agua dulce y si ya tenían costras muertas de ACC. Las letras indican tratamientos diferentes. Las barras indican desviación estándar.

Figure 6. Mean settlement percentage with *Diploria labyrinthiformis* larvae, after 48 h of exposure depending on whether the substrates were conditioned (freshly taken from the reef), if they were washed with freshwater, and if they already had dead CCA crusts. Letters indicate different treatments. Bars indicate standard deviation.

Asentamiento larval

En promedio se obtuvieron para *D. labyrinthiformis* 205800 ± 102.7 larvas/L (promedio ± D.E), 151300 ± 37.3 y 77900 ± 30.4 larvas/L para *C. natans* en septiembre y octubre y 6700 ± 3.09 larvas/L de *P. strigosa*. El asentamiento se registró posterior a 72 h de proveer a las larvas con los sustratos acondicionados. En *D. labyrinthiformis* se asentaron 21172 larvas (10.28 % de larvas sembradas). Para *C. natans* en septiembre se asentaron 5398 (3.56 %) y en octubre 932 (1.19 %) larvas. Para *P. strigosa* el asentamiento fue de 226 (3.37 %) larvas (Tabla 2).

Larval settlement

On average, for *D. labyrinthiformis* 205,800 ± 102.7 larvae/L (mean ± S.D.) were obtained, 151,300 ± 37.3 and 77,900 ± 30.4 larvae/L for *C. natans* in September and October and 6,700 ± 3.09 larvae/L of *P. strigosa*. Settlement was recorded after 72 h of providing the larvae with the conditioned substrates. In *D. labyrinthiformis*, 21,172 larvae settled (10.28% of seeded larvae). For *C. natans* in September, 5,398 (3.56%) larvae settled, and in October, 932 (1.19%) larvae settled. For *P. strigosa*, the settlement was 226 (3.37%) larvae (Table 2).

Tabla 2. Número total de larvas asentadas en los diferentes tipos de sustratos

Table 2. Total number of larvae settled on the different types of substrates

Sustrato/Substrate	<i>D. labyrinthiformis</i> may	<i>C. natans</i> sep	<i>C. natans</i> oct	<i>P. strigosa</i> oct
Tetrápodo/Tetrapod	913	3235	319	98
Estrella/Star	2770	1120	480	110
Placa/Tile	17489	1043	126	18
Triángulo/Triangle	-	-	7	0
Total	21172	5398	932	226

– denota que no hubo triángulos/denotes that there were no triangles

Con respecto al tipo de sustrato, el asentamiento promedio de *D. labyrinthiformis* fue mayor en estrellas 184.66 ± 246.79, seguido de placas con 196.50 ± 197.06 y el menor en tetrápodos con 57.06 ± 20.74. La prueba mostró diferencias entre tipos de sustratos ($H = 8.14$; $p < 0.05$), y las comparaciones de Dunn mostraron a los tetrápodos diferentes a estrellas y placas (Figura 7A). Para *C. natans*, en septiembre el asentamiento promedio fue de 37.33 ± 28.20 en estrellas, 31.71 ± 24.60 en tetrápodos y 28.97 ± 14.16 en placas, sin presentarse diferencias entre los tipos de sustratos utilizados (Kruskal–Wallis, $H = 2.27$; $p = 0.32$) (Figura 7B), mientras en octubre para estrellas fue de 15.75 ± 18.04, para tetrápodos 10.29 ± 11.17, para placas 5.85 ± 6.06 y para triángulos 0.26 ± 0.60; la prueba de Kruskal–Wallis halló diferencias ($H = 44.11$; $p < 0.05$), siendo los triángulos diferentes a los demás (comparaciones de Dunn) (Figura 7C). Por último, para *P. strigosa* el asentamiento promedio en octubre fue de 6.53 ± 4.30 en tetrápodos, 3.54 ±

Regarding the type of substrate, the average settlement of *D. labyrinthiformis* was higher on stars 184.66 ± 246.79, followed by plates with 196.50 ± 197.06, and the lowest on tetrapods with 57.06 ± 20.74. The test showed differences between substrate types ($H = 8.14$; p Figure 7A). For *C. natans*, in September the average settlement was 37.33 ± 28.20 on stars, 31.71 ± 24.60 on tetrapods, and 28.97 ± 14.16 on plates, with no differences between the types of substrates used (Kruskal–Wallis, $H = 2.27$; $p = 0.32$) (Figure 7B), while in October for stars it was 15.75 ± 18.04, for tetrapods 10.29 ± 11.17, for plates 5.85 ± 6.06, and for triangles 0.26 ± 0.60; the Kruskal–Wallis test showed differences ($H = 44.11$; p Figure 7C). Finally, for *P. strigosa*, the average settlement in October was 6.53 ± 4.30 on tetrapods, 3.54 ± 2.33 on stars, 3.60 ± 1.6 on plates, and 0.0 ± 0.0 on triangles, with differences appearing according to the Kruskal–Wallis test ($H = 37.83$, p Figure 7D).

2.33 en estrellas, 3.60 ± 1.6 en placas y 0.0 ± 0.0 en triángulos, presentándose diferencias según la prueba de Kruskal–Wallis ($H = 37.83$, $p < 0.05$) e igualmente señalando a los triángulos diferente al resto de sustratos (comparaciones de Dunn) (Figura 7D).

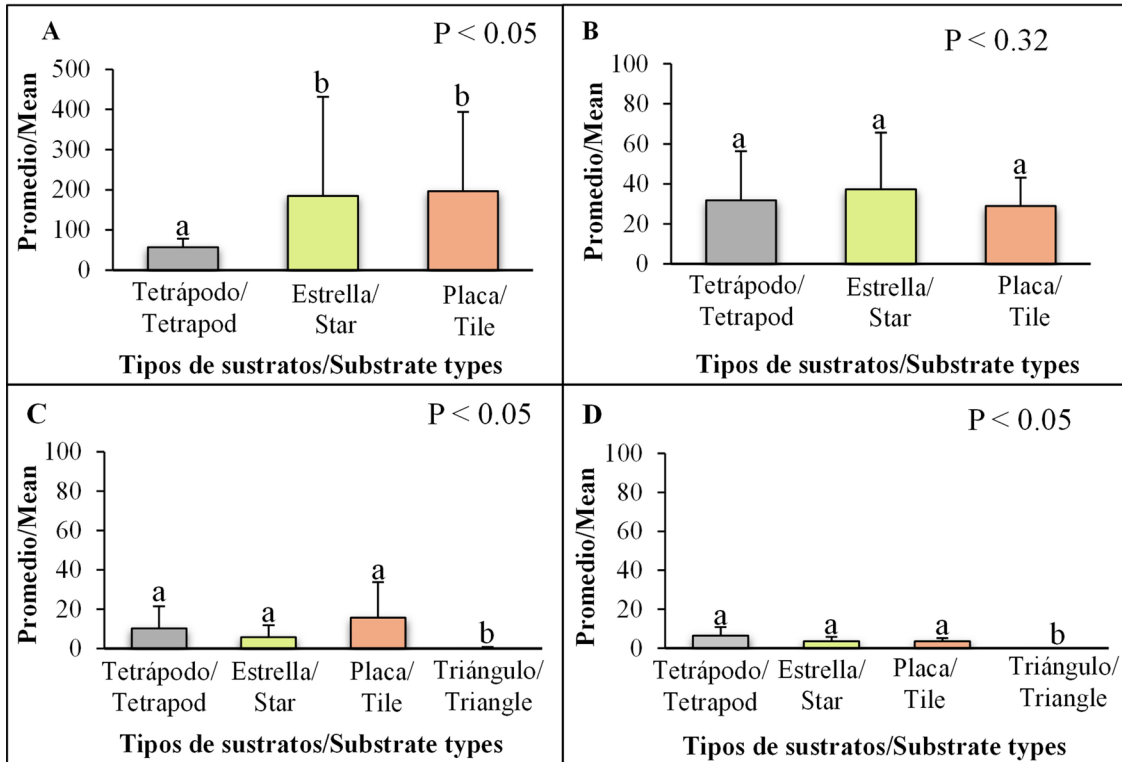


Figura 7. Asentamiento promedio de *Diploria labyrinthiformis* en mayo (A), *Colpophyllia natans* en septiembre (B) y octubre (C) y *Pseudodiploria strigosa* (D). Las barras indican desviación estándar.

Figure 7. Average settlement of *Diploria labyrinthiformis* in May (A), *Colpophyllia natans* in September (B) and October (C), and *Pseudodiploria strigosa* (D). Bars indicate standard deviation.

Sobrevivencia post-asentamiento

En el primer ensayo de septiembre para *C. natans* la sobrevivencia post asentamiento en condiciones de laboratorio disminuyó drásticamente luego de dos meses (17.94 ± 3.48 % estrellas y 2.39 ± 1.71 % tetrápodos y placas) (Figura 8A) y para el segundo ensayo de octubre al primer mes la sobrevivencia fue de 20.83 ± 1.29 % en entrellas y menor a 2 % en tetrápodos, placas y triángulos (Figura 8C). La prueba mostró diferencias significativas (Kaplan-Meier, $P < 0.05$), y las comparaciones de Log-rank (Mantel-Cox) indicaron diferencias entre estrellas con tetrápodos, placas y triángulos. En *P. strigosa*, la sobrevivencia en el primer mes fue mayor para las placas con 33.33 ± 1.0 %, en las estrellas de 10.90 ± 0.70 % y en los tetrápodos de 5.10 ± 0.0 %; y para los dos meses en las placas se redujo al 27.77 ± 0.57 %. La prueba mostró diferencias significativas (Kaplan-Meier, $P < 0.05$), con las placas diferentes a tetrápodos y estrellas según Log-rank (Mantel-Cox) (Figura 8E).

Post-settlement survival

In the first September trial for *C. natans*, post-settlement survival under laboratory conditions decreased drastically after two months ($17.94 \pm 3.48\%$ stars and $2.39 \pm 1.71\%$ tetrapods and plates) (Figure 8A), and for the second October trial, at the first month, survival was $20.83 \pm 1.29\%$ on stars and less than 2% on tetrapods, plates, and triangles (Figure 8C). The test showed significant differences (Kaplan-Meier, $P < 0.05$), and Log-rank (Mantel-Cox) comparisons indicated differences between stars and tetrapods, plates, and triangles. In *P. strigosa*, survival in the first month was higher for plates with $33.33 \pm 1.0\%$, for stars it was $10.90 \pm 0.70\%$, and for tetrapods $5.10 \pm 0.0\%$; and for the two months, it was reduced to $27.77 \pm 0.57\%$ on the plates. The test showed significant differences (Kaplan-Meier, $P < 0.05$), with plates being different from tetrapods and stars according to Log-rank (Mantel-Cox) (Figure 8E).

A partir del cuarto y quinto mes, cuando los sustratos se colocaron en un tanque externo, se observó una disminución en la mortalidad de los pólipos para las tres especies. Para *C. natans* al primer mes, la sobrevivencia de los pólipos provenientes del desove de septiembre (Figura 8B) en tetrápodos fue de $83.3 \pm 3.71\%$ y en estrellas del 100% , con diferencias significativas entre ellos (Kaplan-Meier, $P < 0.05$). Para el desove de octubre, la sobrevivencia fue similar en los tres tipos de sustratos, entre $90.9 \pm 1.46\%$ y $91.6 \pm 0.78\%$, sin presentarse diferencias significativas (Kaplan-Meier, $p > 0.05$) (Figura 8D). En *P. strigosa* la mayor sobrevivencia se observó en las estrellas ($78.5 \pm 0.74\%$), seguidas de tetrápodos ($62.5 \pm 0.57\%$) y placas ($60.00 \pm 1.00\%$). Se evidenciaron diferencias significativas entre los tipos de sustratos (Kaplan-Meier, $p > 0.05$) y la prueba de Log-rank (Mantel-Cox) mostró diferencias entre las estrellas con tetrápodos y placas (Figura 8F).

From the fourth and fifth month onwards, when the substrates were placed in an external tank, a decrease in polyp mortality was observed for the three species. For *C. natans* at the first month, the survival of polyps from the September spawning (Figure 8B) on tetrapods was $83.3 \pm 3.71\%$ and on stars 100% , with significant differences between them (Kaplan-Meier, $P < 0.05$). For the October spawning, survival was similar across the three types of substrates, between $90.9 \pm 1.46\%$ and $91.6 \pm 0.78\%$, with no significant differences (Kaplan-Meier, $p > 0.05$) (Figure 8D). In *P. strigosa*, the highest survival was observed on stars ($78.5 \pm 0.74\%$), followed by tetrapods ($62.5 \pm 0.57\%$) and plates ($60.00 \pm 1.00\%$). Significant differences were evidenced between the types of substrates (Kaplan-Meier, $p > 0.05$) and the Log-rank (Mantel-Cox) test showed differences between stars and tetrapods and plates (Figure 8F).

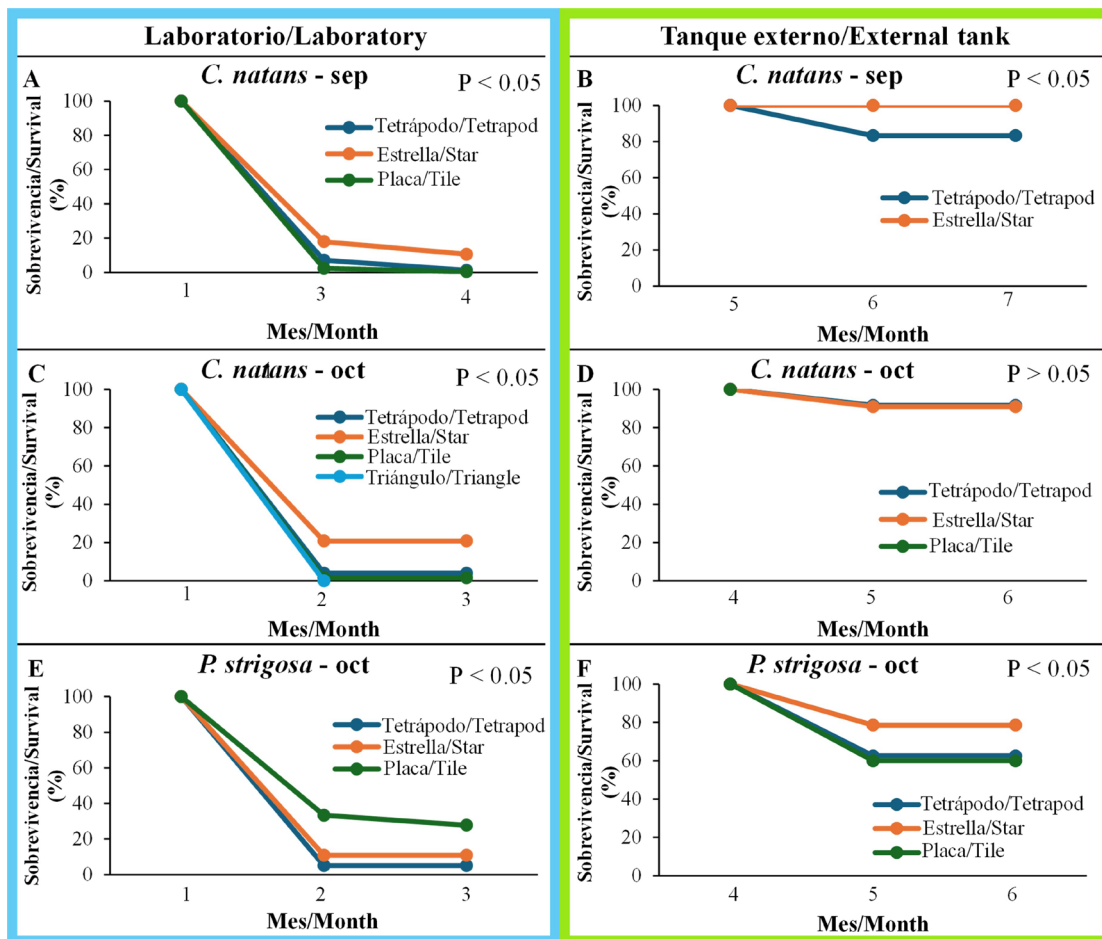


Figura 8. Sobrevivencia post-asetamiento de *Colpophyllia natans* en condiciones de laboratorio y tanque externo para el desove de septiembre (sep) (A - B) y para el de octubre (oct) (C y D) y de *Pseudodiploria strigosa* en laboratorio (E) y en tanque externo (F). En azul se indica condiciones de laboratorio y en verde tanque externo.

Figure 8. Post-settlement survival of *Colpophyllia natans* under laboratory and external tank conditions for the September (sep) spawning (A - B) and for the October (oct) spawning (C and D), and of *Pseudodiploria strigosa* in the laboratory (E) and in an external tank (F). Blue indicates laboratory conditions and green indicates external tank.

En el caso de *D. labyrinthiformis* fue posible realizar visita al campo para verificar los sustratos hasta diciembre de 2025, cuando ya habían pasado siete meses desde el trasplante y se observaron pólipos vivos (Figura 9 A, B). Sin embargo, a partir de enero de 2026, las condiciones climáticas limitaron la limpieza y seguimiento, siendo posible regresar solo hasta marzo de 2026, cuando se observó la colonización de bivalvos (Figura 9 C) y pérdida del 100 % de los reclutas.

In the case of *D. labyrinthiformis*, it was possible to make a field visit to verify the substrates until December 2025, when seven months had already passed since the transplant and live polyps were observed (Figure 9 A, B). However, starting in January 2026, weather conditions limited cleaning and monitoring, making it possible to return only until March 2026, when colonization by bivalves (Figure 9 C) and 100% loss of recruits were observed.

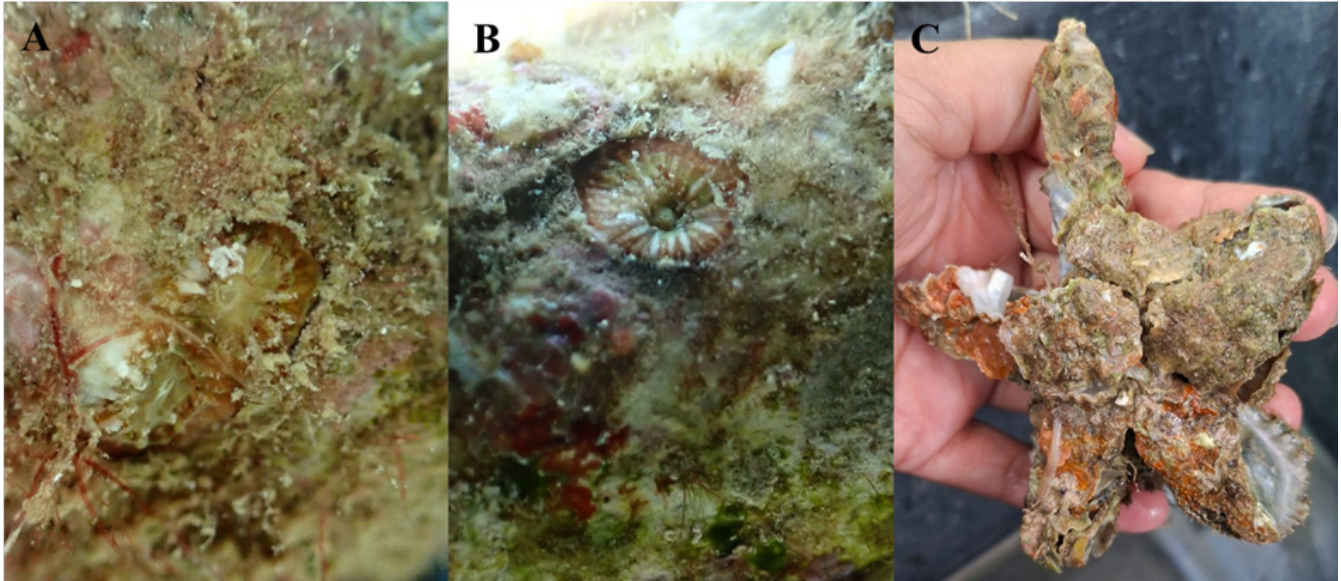


Figura 9. Pólipos de *Diploria labyrinthiformis* en el sector de Bonito Gordo (Bahía Concha) en diciembre (A y B) y sustrato cubierto por bivalvos en marzo (C).

Figure 9. Polyps of *Diploria labyrinthiformis* in the Bonito Gordo sector (Bahía Concha) in December (A and B) and substrate covered by bivalves in March (C).

DISCUSIÓN

Embriogénesis y larvas

Este es el primer trabajo en Colombia que logra documentar todo el desarrollo temprano de los corales *D. labyrinthiformis*, *C. natans* y *P. strigosa* desde la fertilización asistida hasta la sobrevivencia temprana. El proceso de embriogénesis para estas especies sigue el esquema de división celular regular para los corales (Okubo y Motokawa, 2007). Se evidenciaron diferencias interespecíficas en el tiempo de desarrollo en cada una de las etapas; particularmente *D. labyrinthiformis* mostró un desarrollo más rápido a partir del primer clivaje hasta gastrulación, seguida de *P. strigosa* y *C. natans*; estas variaciones en la velocidad de la división celular podrían estar relacionadas a características fisiológicas propias de cada especie (Okubo et al., 2005). Según Chamberland et al. (2017b), al tener *D. labyrinthiformis* un rápido desarrollo conlleva

DISCUSSION

Embryogenesis and larvae

This is the first study in Colombia that manages to document the entire early development of the corals *D. labyrinthiformis*, *C. natans* and *P. strigosa* from assisted fertilization to early survival. The embryogenesis process for these species follows the regular cell division scheme for corals (Okubo and Motokawa, 2007). Interspecific differences in development time were evidenced in each of the stages; particularly *D. labyrinthiformis* showed faster development from the first cleavage to gastrulation, followed by *P. strigosa* and *C. natans*; these variations in the speed of cell division could be related to physiological characteristics specific to each species (Okubo et al., 2005). According to Chamberland et al. (2017b), having a rapid development leads *D. labyrinthiformis* to a limited dispersal potential, in relation to other species such as

a un potencial de dispersión limitado, en relación con otras especies como *O. faveolata* o *A. palmata*, que al tener tiempos más prolongados de desarrollo pueden lograr una mayor dispersión.

Actualmente no hay estudios que permitan comparar las fases embrionarias de *P. strigosa* y *C. natans*; sin embargo, Chamberlan *et al.* (2017b) para *D. labyrinthiformis* observaron siete estadios de desarrollo y la formación de plánulas a partir de 13 h, lo cual difiere de lo registrado en el presente estudio donde se halló un mayor número de etapas (nueve) y las larvas se observaron a partir de 19 h. Estas diferencias podrían estar asociadas a la temperatura, debido a que en la presente investigación ella se mantuvo entre 26 y 27 °C, lo cual, según Negri *et al.* (2007), es considerado adecuado para obtener un buen número de embriones desarrollados y larvas competentes. Mientras que Chamberlan *et al.* (2017b) trabajaron a 28 °C, lo cual posiblemente causa un desarrollo más rápido con embriones presentando rupturas, así como larvas de menor tamaño. Los patrones de desarrollo observados sugieren que, aunque los corales compartan estrategias reproductivas similares (desovadores), existen diferencias en la cronología del desarrollo que podrían determinar el comportamiento temprano e influir directamente en la respuesta a condiciones ambientales variables (Graham *et al.*, 2008).

Asentamiento larval

El éxito del reclutamiento coralino depende de la selección del sitio de fijación de las larvas, las cuales responden a señales químicas de los sustratos arrecifales compuestos por ACC y biopelículas bacterianas (Harrington *et al.*, 2004; Gómez-Lemos *et al.*, 2018). Se evidenció que los sustratos acondicionados en el arrecife y colonizados por ACC y biopelículas presentaron el mayor porcentaje de asentamiento larval en comparación con los que tenían ACC muerta; lo anterior debido a que las ACC son un componente esencial para el reclutamiento temprano e incluso se ha determinado que las larvas de coral no se asientan en ausencia de biopelículas (Harrington *et al.*, 2004; Ritson-Williams *et al.*, 2014).

De forma general, el asentamiento fue variable entre los tipos de sustratos utilizados. Sin embargo, la mayoría de las larvas de *D. labyrinthiformis* optaron por los sustratos de placas, que al ser acondicionados permitieron mayor área de colonización de ACC. Por otro lado, *C. natans* y *P. strigosa* mostraron un asentamiento similar en tetrápodos, estrellas y placas, por lo

O. faveolata or *A. palmata*, which, by having longer development times, can achieve greater dispersal.

Currently, there are no studies that allow for the comparison of the embryonic phases of *P. strigosa* and *C. natans*; however, Chamberlan *et al.* (2017b) observed seven developmental stages and planulae formation starting at 13 h for *D. labyrinthiformis*, which differs from what was recorded in the present study where a greater number of stages (nine) were found, and larvae were observed starting at 19 h. These differences could be associated with temperature, because in the present study it was maintained between 26 and 27 °C, which, according to Negri *et al.* (2007), is considered adequate to obtain a good number of developed embryos and competent larvae. While Chamberlan *et al.* (2017b) worked at 28 °C, which possibly causes faster development with embryos exhibiting ruptures, as well as smaller larvae. The observed development patterns suggest that, although corals share similar reproductive strategies (spawners), there are differences in the chronology of development that could determine early behavior and directly influence the response to variable environmental conditions (Graham *et al.*, 2008).

Larval settlement

The success of coral recruitment depends on the selection of the attachment site by the larvae, which respond to chemical signals from reef substrates composed of CCA and bacterial biofilms (Harrington *et al.*, 2004; Gómez-Lemos *et al.*, 2018). It was shown that substrates conditioned on the reef and colonized by CCA and biofilms presented the highest percentage of larval settlement compared to those that had dead CCA; this is because CCA are an essential component for early recruitment and it has even been determined that coral larvae do not settle in the absence of biofilms (Harrington *et al.*, 2004; Ritson-Williams *et al.*, 2014).

In general, settlement was variable among the types of substrates used. However, the majority of *D. labyrinthiformis* larvae opted for the plate substrates, which, when conditioned, allowed for a greater area of CCA colonization. On the other hand, *C. natans* and *P. strigosa* showed similar settlement on tetrapods, stars, and plates, therefore, it must be considered that the physical characteristics of the substrates such as orientation, roughness, and structural complexity are important for the establishment of the larvae (Richmond, 1987; Harrison and Wallace, 1990; Rada-Osorio *et al.*, 2022) and it has been observed that roughness

cual, se debe considerar que las características físicas de los sustratos como orientación, rugosidad y complejidad estructural son importantes para el establecimiento de las larvas (Richmond, 1987; Harrison y Wallace, 1990; Rada-Osorio *et al.*, 2022) y se ha observado que la rugosidad aumenta el asentamiento al reducir el estrés mecánico (Nozawa, 2008). Particularmente, los surcos proporcionan refugios que permite un menor pastoreo por diversos organismos (Nozawa, 2008; Brandl *et al.*, 2014). Si bien para *D. labyrinthiformis* la preferencia a las placas fue mayor, hubo mayor asentamiento en sustratos más heterogéneos; sin embargo, se requiere realizar diseños experimentales que incluyan elementos como la composición, forma y tipo de material de elaboración, para determinar las preferencias de cada especie, y poder sugerir un sustrato adecuado que aumente las tasas de asentamiento.

Sobrevivencia post-asentamiento

La sobrevivencia post-asentamiento es la etapa más crítica del ciclo de vida de los corales debido a que presenta la mayor mortalidad de los individuos recién asentados (Ritson-Williams *et al.*, 2016). Durante esta fase, los reclutas muestran una alta sensibilidad a factores ambientales o biológicos, lo que interfiere con su crecimiento y la permanencia sobre el sustrato (Arnold *et al.*, 2010). La marcada reducción de la sobrevivencia en los dos primeros meses, entre 2 y 21 % para *C. natans* y 5 y 33 % para *P. strigosa*, es similar a lo observado por Martínez y Abelson (2013), quienes en el mar Rojo en condiciones *in situ*, estimaron la tasa de asentamiento y posterior sobrevivencia, la cual fue menor a 27 % después de 60 días. Esto demuestra como en las etapas tempranas se da una alta mortalidad, independientemente si los reclutas se desarrollan bajo condiciones *in situ* o *ex situ* resultado del sobrecrecimiento algal, la presencia de organismos incrustantes o sedimentación.

Con respecto a la selección del sustrato y el reconocimiento del sitio de asentamiento por parte de las larvas, éstos incrementan las probabilidades de sobrevivencia de los pólipos (Harrington, 2004; Martínez y Abelson, 2013). *Colpophyllia natans* presentó mayor sobrevivencia en los sustratos tipo estrella mientras que *P. strigosa* en las placas. En este sentido, los sustratos tipo estrella presentan complejidad estructural, la cual, según Birrell *et al.* (2005), favorece la protección de los pólipos frente a factores como la sedimentación, abrasión o daño mecánico por parte de organismos incrustantes. Los sustratos de placas por su parte ofrecen superficies que pueden favorecer una distribución

increases settlement by reducing mechanical stress (Nozawa, 2008). Particularly, the grooves provide refuges that allow for less grazing by various organisms (Nozawa, 2008; Brandl *et al.*, 2014). Although, for *D. labyrinthiformis* the preference for plates was greater, there was greater settlement on more heterogeneous substrates; however, it is necessary to carry out experimental designs that include elements such as composition, shape, and type of manufacturing material, to determine the preferences of each species, and to be able to suggest an adequate substrate that increases settlement rates.

Post-settlement survival

Post-settlement survival is the most critical stage of the coral life cycle because it presents the highest mortality of newly settled individuals (Ritson-Williams *et al.*, 2016). During this phase, recruits show high sensitivity to environmental or biological factors, which interferes with their growth and permanence on the substrate (Arnold *et al.*, 2010). The marked reduction in survival in the first two months, between 2 and 21% for *C. natans* and 5 and 33% for *P. strigosa*, is similar to what was observed by Martínez and Abelson (2013), who in the Red Sea under *in situ* conditions, estimated the settlement rate and subsequent survival which was less than 27% after 60 days. This demonstrates how in the early stages there is high mortality, regardless of whether the recruits develop under *in situ* or *ex situ* conditions as a result of algal overgrowth, the presence of encrusting organisms, or sedimentation.

Regarding substrate selection and the recognition of the settlement site by the larvae, these increase the survival probabilities of the polyps (Harrington, 2004; Martínez and Abelson, 2013). *Colpophyllia natans* presented higher survival on star-type substrates while *P. strigosa* on the plates. In this sense, star-type substrates present structural complexity, which, according to Birrell *et al.* (2005), favors the protection of polyps against factors such as sedimentation, abrasion, or mechanical damage by encrusting organisms. Plate substrates, on the other hand, offer surfaces that can favor a homogeneous distribution of polyps, which in turn generate lower colonization by encrusting organisms (Heyward *et al.*, 2024). This differential post-settlement survival of the polyps of the two species and in the types of substrates could be due to the mentioned factors that were not the object of experimentation; however, these physical and microstructural characteristics that can influence the early survival of recruits must be considered in the future, but also define those that, due to their shape, can be

homogénea de los pólipos, que a su vez generan una colonización de organismos incrustantes más baja (Heyward *et al.*, 2024). Esta sobrevivencia post-asentamiento diferencial de los pólipos de las dos especies y en los tipos de sustratos, pudo deberse a los factores mencionados que no fueron objeto de experimentación; sin embargo, se deben considerar a futuro estas características físicas y microestructurales que pueden influir en la supervivencia temprana de los reclutas, pero además definir aquellos que por su forma, puedan ser fácilmente incorporados al arrecife en hendiduras o irregularidades como las estrellas y de esa manera, reducir costos como la cementación que es la única forma de incorporar sustratos tipo placas al arrecife.

Cuando los sustratos con los pólipos fueron trasladados al tanque externo, disminuyó la mortalidad y fue evidente un cambio en coloración con la adquisición de zooxantelas, así como un mayor crecimiento. Además, las ACC presentes en los sustratos también cambiaron su coloración y colonizaron más área disponible. Lo anterior se puede atribuir al mejoramiento de las condiciones en el sistema *ex situ*; por ejemplo, el uso de un acuario más grande, la disposición de luz natural y la circulación del agua, lo cual son factores que ayudan a mejorar la adquisición de zooxantelas, el crecimiento de ACC y el desarrollo de comunidades bacterianas asociadas a los sustratos que son benéficas para los pólipos (Tebben *et al.*, 2015; Giorgi *et al.*, 2024). Esto coincide con Forsman *et al.* (2006) y Chamberland *et al.* (2023), quienes en cultivos *ex situ* observaron aumento de tamaño y mayor sobrevivencia de los reclutas cuando se les proporciona alimentación y exposición a luz natural antes de ser trasladados al arrecife. En este estudio, el tiempo de traslado externo dependió del acondicionamiento de la infraestructura adecuada, y por ello se reinició en el tanque externo la valoración de la sobrevivencia, la cual mostró mejores resultados. Al respecto Rodd *et al.* (2022) mencionan como hay un mejoramiento de la sobrevivencia cuando se provee alimentación en las diferentes etapas desde el asentamiento y sobrevivencia post-asentamiento; sin embargo, el trabajo menciona sobre la evidencia diferencial en la toma de nutrientes exógenos por diferentes especies y la capacidad de acceder a esos recursos, que al final le puede conferir ventajas en la sobrevivencia larval y el éxito post-asentamiento. Por lo cual, los tiempos de laboratorio y condiciones externas requieren ser estandarizados, esto para poder recomendar resultados que permitan mejorar la sobrevivencia.

easily incorporated into the reef in crevices or irregularities like the stars and in that way, reduce costs such as cementation, which is the only way to incorporate plate-type substrates into the reef.

When the substrates with the polyps were moved to the external tank, mortality decreased and a change in coloration was evident with the acquisition of zooxanthellae, as well as greater growth. Furthermore, the CCA present on the substrates also changed their coloration and colonized more available area. The above can be attributed to the improvement of conditions in the *ex situ* system; for example, the use of a larger aquarium, the availability of natural light, and water circulation, which are factors that help improve the acquisition of zooxanthellae, the growth of CCA, and the development of bacterial communities associated with the substrates that are beneficial for the polyps (Tebben *et al.*, 2015; Giorgi *et al.*, 2024). The above coincides with Forsman *et al.* (2006) and Chamberland *et al.* (2023), who in *ex situ* cultures observed an increase in size and greater survival of recruits when provided with food and exposure to natural light before being moved to the reef. In this study, the time for external transfer depended on the conditioning of the appropriate infrastructure, and therefore the assessment of survival was restarted in the external tank, which showed better results. In this regard, Rodd *et al.* (2022) mention how there is an improvement in survival when food is provided at different stages from settlement and post-settlement survival; however, the work mentions the differential evidence in the uptake of exogenous nutrients by different species and the ability to access those resources, which in the end can confer advantages in larval survival and post-settlement success. Therefore, laboratory times and external conditions need to be standardized, in order to recommend results that allow for improved survival.

For *D. labyrinthiformis*, the evidence of recruits in the Bonito Gordo sector seven months after outplanting (May-December) demonstrates that they overcame the critical stage of post-settlement survival. However, due to weather conditions from January to March, it was not possible to carry out monitoring or cleaning, which led to the colonization of bivalves on the substrates that caused the total mortality of the recruits in March 2026 due to the physical effect of abrasion and shading. The above has been documented, and it has been pointed out that one of the main effects of mortality in newly outplanted coral recruits is caused by competition with encrusting organisms, when the polyps are smaller in size and their competitive capacity is limited due to their low

Para *D. labyrinthiformis*, la evidencia de reclutas en el sector de Bonito Gordo después de siete meses del trasplante (mayo-diciembre) demuestra que éstos superaron la etapa crítica de sobrevivencia post-asentamiento. Sin embargo, debido a las condiciones climáticas de enero a marzo, no se pudo realizar seguimiento, ni limpieza, por lo que hubo colonización de bivalvos en los sustratos que causaron la mortalidad total de los reclutas en marzo de 2026 por el efecto físico de abrasión y sombreado. Lo anterior ha sido documentado y se ha señalado que uno de los principales efectos de la mortalidad de reclutas de coral recién trasplantados está dado por la competencia con organismos incrustantes, cuando los pólipos tienen un menor tamaño y su capacidad de competencia es limitada debido a sus bajas tasas de crecimiento (Fong *et al.*, 2024). Sumado a esto, la falta de limpieza de los sustratos pudo haber permitido la acumulación excesiva de sedimentos afectando procesos vitales como la fotosíntesis y la alimentación (Brunner *et al.*, 2021). Lo anterior resalta la importancia de la realización de un monitoreo continuo para los reclutas trasplantados al arrecife, especialmente en aquellos puntos donde las condiciones del ambiente favorecen la rápida colonización de organismos incrustantes.

CONCLUSIONES

La fertilización asistida de las especies *D. labyrinthiformis*, *C. natans* y *P. strigosa* permitió obtener un buen número de embriones sanos y larvas competentes para el proceso de asentamiento, lográndose documentar las diferencias en el número de estadios y los tiempos de desarrollo de cada especie desde la fertilización hasta pólipos de seis meses. Sobre las tasas de asentamiento, estas dependieron del número de larvas obtenidas, donde *D. labyrinthiformis* fue mayor, seguida de *C. natans* y *P. strigosa*, con un asentamiento variable en los cuatro tipos de sustratos (tetrápodos, estrellas, placas y triángulos). Mantener los pólipos en condiciones de laboratorio conlleva una alta mortalidad, mientras que si los sustratos son trasladados a condiciones externas con luz natural y alimentación, se mejora significativamente la sobrevivencia. Además, el trasplante temprano al medio natural es exitoso; sin embargo, conlleva un alto costo en la continua limpieza de los sustratos para que no sean colonizados por otros organismos. Con esto, se evidencia la importancia de optimizar las condiciones *ex situ* para aumentar las probabilidades de sobrevivencia de los pólipos primarios antes de retornarlos al arrecife.

growth rates (Fong *et al.*, 2024). Added to this, the lack of cleaning of the substrates may have allowed for the excessive accumulation of sediments, affecting vital processes such as photosynthesis and feeding (Brunner *et al.*, 2021). The above highlights the importance of carrying out continuous monitoring for recruits outplanted to the reef, especially in those points where environmental conditions favor the rapid colonization of encrusting organisms.

CONCLUSIONS

Assisted fertilization of the species *D. labyrinthiformis*, *C. natans* and *P. strigosa* allowed for obtaining a good number of healthy embryos and competent larvae for the settlement process, managing to document the differences in the number of stages and the development times of each species from fertilization to six-month-old polyps. Regarding settlement rates, these depended on the number of larvae obtained, where *D. labyrinthiformis* was higher, followed by *C. natans* and *P. strigosa*, with variable settlement on the four types of substrates (tetrapods, stars, plates, and triangles). Keeping polyps in laboratory conditions entails high mortality, whereas if the substrates are moved to external conditions with natural light and feeding, survival is significantly improved. Furthermore, early outplanting to the natural environment is successful; however, it entails a high cost in the continuous cleaning of the substrates so that they are not colonized by other organisms. With this, the importance of optimizing *ex situ* conditions to increase the survival probabilities of primary polyps before returning them to the reef is evidenced.

AGRADECIMIENTOS

A Parques Nacionales Naturales de Colombia por el aval de investigación memorando 2024000003973 en el marco del proyecto “Fertilización asistida y trasplante de nuevos pólipos como estrategia para la restauración coralina en Santa Marta”. Así mismo, a la Universidad del Magdalena por la financiación bajo convocatoria Fonciencias 2025. A las tiendas de buceo Océanos y Reef Shepherd por el apoyo incondicional en las salidas de campo nocturnas. Al semillero de investigación de la Universidad Jorge Tadeo Lozano en Santa Marta (Julián Mantilla, Daniel Rodríguez, Santiago Egea, Juan Pablo Ramírez) y los funcionarios del Parque Tayrona María Alejandra Martínez, Jhon Calderón, Jeiner Hernández y Ángela Alarcón por el acompañamiento en la recolecta de gametos y a todos los voluntarios. A Secore International por el soporte en los sustratos de asentamiento de estrella y por los moldes para la elaboración de tetrápodos.

ACKNOWLEDGMENTS

To Parques Nacionales Naturales de Colombia for the research endorsement memorandum 2024000003973 within the framework of the project “Assisted fertilization and transplantation of new polyps as a strategy for coral restoration in Santa Marta”. Likewise, to the University of Magdalena for funding under the Fonciencias 2025 call. To the dive shops Océanos and Reef Shepherd for their unconditional support during night field trips. To the research incubator of the Jorge Tadeo Lozano University in Santa Marta (Julián Mantilla, Daniel Rodríguez, Santiago Egea, Juan Pablo Ramírez) and the officials of Tayrona Park María Alejandra Martínez, Jhon Calderón, Jeiner Hernández, and Ángela Alarcón for their accompaniment in the collection of gametes, and to all the volunteers. To SECORE International for the support with the star settlement substrates and for the molds for the production of tetrapods.

BIBLIOGRAFÍA / LITERATURE CITED

- Abdul Wahab, M. A., Ferguson, S., Snekkvik, V. K., McCutchan, G., Jeong, S., Severati, A., Randall, C. J., Negri, A. P. and Díaz-Pulido, G. (2023). Hierarchical settlement behaviors of coral larvae to common coralline algae. *Scientific Reports*, 13:1, 5795. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-32676-4>
- Acosta-Chaparro, F., Coneo-Gómez, S. C., Sierra-Sabalza, N., Navas-Camacho, R., Sánchez-Valencia, L., Gómez-López, D. I. y Alonso, D. (2025). *Boletín de la operación estadística índice condición tendencia de las áreas coralinas del sector Tayrona: Reporte del año 2025*. Santa Marta: Invemar.
- Afiq-Rosli, L. and Duarte, C. (2025). Adaptive potential of intracolony genetic variability in coral populations. *Ecology and Evolution*, 15:11, e72352. <https://doi.org/10.1002/ece3.72352>
- Alvarado-Chacón, E. M., Gómez-Lemos, L. A., Sierra-Sabalza, N. P., Hernández-Chamorro, A. M., Lozano-Peña, J. P., Valcárcel-Castellanos, C. A., Pizarro, V., García-Urueña, R., Zárate-Arévalo, J. C. and Rojas, J. A. (2020). Early life history of the Caribbean coral *Orbicella faveolata* (Scleractinia: Merulinidae). *Revista de Biología Tropical*, 68:4, pp. 1262-1274. <http://dx.doi.org/10.15517/rbt.v68i4.40805>
- Alvarado-Chacón, E. M., García-Urueña, R., Sierra-Escrigas, S. L., Garzón-Machado, M. A., Zárate-Arévalo, J. C., Sierra-Sabalza, N., Cely, C. y Rincón-Díaz, N. (2023). Embriogénesis, desarrollo larval y sobrevivencia post-asentamiento del coral *Orbicella annularis* (Scleractinia: Merulinidae). *Revista de Biología Tropical*, 71 (S1) e54793. <http://dx.doi.org/10.15517/rev.biol.trop..v71is1.54793>
- Arnold, S. N., Steneck, R. S. and Mumby, P. J. (2010). Running the gauntlet: inhibitory effects of algal turfs on the processes of coral recruitment. *Marine Ecology Progress Series*, 414, pp. 91–105. <https://doi.org/10.3354/meps08724>
- Banaszak, A., Schutter, M., Guendulain García, S., Mendoza Quiroz, S. y Gómez Campo, K. (2018). *Guía práctica para la restauración con base en la producción de reclutas sexuales de corales con énfasis en Acropora palmata*. Ciudad de México: Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) p. 66.
- Baums, I.B., Devlin-Durante, M.K. and Polato, N.R. (2013). Genotypic variation influences reproductive success y thermal stress tolerance in the reef building coral, *Acropora palmata*. *Coral Reefs*, 32:2, pp. 703–717. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1012-6>
- Baums, I.B., Chamberland, V., Locatelli, N. and Conn, T. (2022). Maximizing genetic diversity in coral restoration projects. In: Van Oppen, M.J.H., Arya Lastra, M. (eds) *Coral reef conservation and restoration in the Omics Age. Coral Reefs of the World*. Springer, 15. https://doi.org/10.1007/978-3-031-07055-6_3
- Birrell, C., McCook, L. and Willis, B. (2005). Effects of algal turfs and sediment on coral settlement. *Marine Pollution Bulletin*, 51:1-4, pp. 408-414. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2004.10.022>
- Brandl, S. J., Hoey, A. S. and Bellwood, D. R. (2014). Micro-topography mediates interactions between corals, algae, and herbivorous fishes on coral reefs. *Coral Reefs*, 33:2, pp. 421-430. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1110-5>
- Brunner, C. A., Uthicke, S., Ricardo, G. F., Hoogenboom, M. O. and Negri, A. P. (2021). Climate change doubles sedimentation-induced coral recruit mortality. *Science of the Total Environment*, 768, 143897. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143897>
- Carmabi (2025). *Predictions for coral spawning events in the Southern Caribbean for (2025)*. [CARMABI's 2025 Coral spawning predictions for the Southern Caribbean |](https://www.carmabi.org/2025)
- Chamberland, V. F. (2023). Applying coral breeding to reef restoration: best

- practices, knowledge gaps, and priority actions in a rapidly evolving field. *Restoration Ecology*, 31:7, e13913. <https://doi.org/10.1111/rec.13913>
- Chamberland, V., Petersen, D., Guest, J., Petersen, U., Brittsan, M. and Vermeij, M. J. A. (2017a). New seeding approach reduces costs and time to outplant sexually propagated corals for reef restoration. *Scientific Reports*, 7, 18076. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17555-z>
- Chamberland, V., Snowden, S., Marhaver, K. L., Peterson, U. and Vermeij, M. J. A. (2017b). The reproductive biology and early life ecology of a common Caribbean brain coral, *Diploria labyrinthiformis* (Scleractinia: Faviinae). *Coral Reefs*, 36, pp. 83-94. <https://doi.org/10.1007/s00338-016-1504-2>
- Chamberland, V. F., Bennett, M. J., Speck, T. D., Latijnhouwers, K. R. and Miller, M. W. (2025). Optimizing vitro fertilization in four Caribbean coral species. *PeerJ*, 13, e18918. <https://doi.org/10.7717/peerj.18918>
- Coneo-Gómez, S., Acosta-Chaparro, A., Sánchez-Valencia, L., Navas-Camacho, R., Gómez-López, D. I. y Alonso, D. (2024). *Boletín de la operación estadística Índice Condición Tendencia de las áreas coralinas del sector Tayrona*. ICTAC. Santa Marta: Invermar.
- Davies, T., Levy, O., Tidau, S., De Barros, L., Wiedenmann, J., D'Angelo, C. and Smyth, T. (2023). Global disruption of coral broadcast spawning associated with artificial light at night. *Nature Communications*, 14:1, 2511. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38070-y>
- Daza-Guerra, C. A., Gómez-Cubillos, C., Benavides-Marchena, H. y Zea, S. (2026). Comunidades coralinas asociadas al infralitoral rocoso en Santa Marta y el Parque Nacional Natural Tayrona, Caribe colombiano. *Boletín de Investigaciones Marinas y Costeras*, 55:1, pp. 61-88. <https://doi.org/10.25268/bimc.invermar.2026.55.1.1353>
- Fong, J., Ramsby, B. D., Flores, F., Dada, T., Antunes, E., Abdul Wahab, M. A., Severati, A., Negri, A. P. and Díaz-Pulido, G. (2024). Effects of material type and surface roughness of settlement tiles on macroalgal colonisation and early coral recruitment success. *Coral Reefs*, 43:4, 1083-1096. <https://doi.org/10.1007/s00338-024-02526-4>
- Forsman, Z. H., Rinkevich, B. and Hunter, C. L. (2006). Investigating fragment size for culturing reef-building corals (*Porites lobata* and *P. compressa*) in *ex situ* nurseries. *Aquaculture*, 261:1, pp. 89-97. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.06.040>
- Giorgi, A., Monti, M., Paul, V. J., Sneed, J. M. and Olson, J. B. (2024). Larvae from three Caribbean corals settle differently in response to crustose coralline algae and their bacterial communities. *Marine Ecology Progress Series*, 751, pp. 53-69. <https://doi.org/10.3354/meps14739>
- Gómez-Lemos, L. A., Doropoulos, C., Bayraktarov, E. and Díaz-Pulido, G. (2018). Coralline algal metabolites induce settlement y mediate the inductive effect of epiphytic microbes on coral larvae. *Scientific Reports*, 8:1, 17557. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35206-9>
- Graham, E. M., Baird, A. H. and Connolly, S. R. (2008). Survival dynamics of scleractinian coral larvae and implications for dispersal. *Coral Reefs*, 27:3, pp. 529-539. <https://doi.org/10.1007/s00338-008-0361-z>
- Hagedorn, M., Carter, V. L., Hollingsworth, L., Leong, J. C., Kanno, R., Borneman, E. H., Petersen, D., Laterveer, M., Brittsan, M. and Schick, M. (2009). *Ex situ* culture of Caribbean and Pacific coral larvae comparing various flow-through chambers. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, 38. <https://doi.org/10.5479/si.01960768.38.259>
- Harrington, L., Fabricius, K., De'Ath, G. and Negri, A. (2004). Recognition and selection of settlement substrata determine post-settlement survival in corals. *Ecology*, 85:12, pp. 3428-3437. <https://doi.org/10.1890/04-0298>
- Harrison, P. L. (2010). Sexual reproduction of scleractinian corals. In *Coral reefs: An Ecosystem in Transition*. Springer, pp. 59-85. https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_6
- Harrison, P. and Wallace, C. (1990). Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. *Coral Reefs*, 25, pp. 133-207.
- Heyward, A., Giuliano, C., Page, C. A. and Randall, C. J. (2024). Rock and roll: experiments on substrate movement and coral settlement. *Coral Reefs*, 43:5, pp. 1417-1429. <https://doi.org/10.1007/s00338-024-02547-z>
- Howells, E. J., Abrego, D., Liew, Y. J., Burt, J. A., Meyer, E. and Arya, M. (2021). Enhancing the heat tolerance of reef-building corals to future warming. *Science Advances*, 7:34, eabg6070. <https://doi.org/10.1126/sciadv.abg6070>
- Kaniewska, P., Alon, S., Karako-Lampert, S., Hoegh-Guldberg, O. and Levy, O. (2015). Signaling cascades and the importance of moonlight in coral broadcast mass spawning. *eLife*, 4, e09991. <https://doi.org/10.7554/eLife.09991>
- Limer, B. D., Payne, O., Brancato, A., Mitchell, M., Abu-Kubie, C., Figueiredo, J. and Holstein, D. M. (2024). Life history and early ontogeny determine vertical swimming behaviors in the larvae of Caribbean corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 578, 152035. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2024.152035>
- Lin, C. H., Takahashi, S., Mulla, A. J. and Nozawa, Y. (2021). Moonrise timing is key for synchronized spawning in coral *Dipsastraea speciosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 118:34, e2101985118. <https://doi.org/10.1073/pnas.2101985118>
- Marhaver, K., Chamberland, V. and Vermeij, M. J. A. (2025). Coral spawning predictions for the Southern Caribbean 2007–2025, CARMABI, Curaçao.
- Martínez, S. and Abelson, A. (2013). Coral recruitment: the critical role of early post-settlement survival. *ICES Journal of Marine Science*, 70:7, pp. 1294-1298.
- Matz, M. V., Tremblay, E. A., Aglyamova, G. V. and Bay, L. K. (2018). Potential y limits for rapid genetic adaptation to warming in a Great Barrier Reef coral. *PLoS Genetics*, 14:4, e1007220. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007220>
- Miller, M. W., Kerr, K. and Williams, D. E. (2016). Reef-scale trends in Florida *Acropora* spp. abundance and the effects of population enhancement. *PeerJ*, 4, e2523. <https://doi.org/10.7717/peerj.2523>
- Negri, A. P., Marshall, P. A. and Heyward, A. J. (2007). Differing effects of thermal stress on coral fertilization and early embryogenesis in four Indo Pacific species. *Coral Reefs*, 26:4, pp. 759-763. <https://doi.org/10.1007/s00338-007-0258-2>
- Nozawa, Y. (2008). Micro-crevice structure enhances coral spat survivorship. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 367:2, pp. 127-130. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2008.09.004>
- Okubo, N. and Motokawa, T. (2007). Embryogenesis in the reef-building coral *Acropora* spp. *Zoological Science*, 24:12, pp. 1169-1177. <https://doi.org/10.2108/zsj.24.1169>
- Okubo, N., Motokawa, T. and Omori, M. (2005). Embryogenesis, larval development y planula behavior in scleractinian corals. *Zoological Science*, 22, pp. 797–806.
- Okubo, N., Mezaki, T., Nozawa, Y., Nakano, Y., Lien, Y. T., Fukami, H., Hayward,

- D. C. and Ball, E. (2013). Comparative embryology of eleven species of stony corals (Scleractinia). *PLoS One*, 8:12, e84115. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084115>
- Omori, M., Shibata, S., Yokokawa, M., Aota, T., Watanuki, A. and Iwao, K. (2007). Survival and vertical distribution of coral embryos and planula larvae in floating rearing ponds. *Galaxea*, 8, 77–81. <https://doi.org/10.3755/jcrs.8.77>
- Quigley, K. M., Bay, L. K. and Van Oppen, M. J. (2019). The active spread of adaptive variation for reef resilience. *Ecology and Evolution*, 9:19, pp. 11122–11135. <https://doi.org/10.1002/ece3.5616>
- Rada-Osorio, D., Gómez-Lemos, L. A. and García-Urueña, R. (2022). Early development of the threatened coral *Acropora cervicornis*. *Hydrobiologia*, 849, pp. 2477–2486. <https://doi.org/10.1007/s10750-022-04838-4>
- Rada-Osorio, D., Gómez-Lemos, L. A. and García-Urueña, R. (2026). Coal dust pollution affects the early life cycle of brooding and broadcast-spawning corals. *Marine Environmental Research*, 218, 107993. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2026.107993>
- Richmond, R. H. (1987). Energetics, competency, and long-distance dispersal of planula larvae of the coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*, 93:4, pp. 527–533. <https://doi.org/10.1007/BF00392790>
- Ritson-Williams, R., Arnold, S., Fogarty, N., Steneck, R. and Vermeij, M. (2009). New perspectives on ecological mechanisms affecting coral recruitment on reefs. *Smithsonian Contributions to the Marine Sciences*, 38, 437. <https://doi.org/10.5479/si.01960768.38.437>
- Ritson-Williams, R., Arnold, S. N., Paul, V. J. and Steneck, R. S. (2014). Larval settlement preferences of *Acropora palmata* and *Montastraea faveolata* in response to diverse red algae. *Coral Reefs*, 33:1, pp. 59–66. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1113-2>
- Ritson-Williams, R., Arnold, S. N., and Paul, V. J. (2016). Patterns of larval settlement preferences and postsettlement survival for seven Caribbean corals. *Marine Ecology Progress Series*, 548, pp. 127–138. <https://doi.org/10.3354/meps11688>
- Rodd, C., Whalan, S., Humphrey, C. and Harrison, P. L. (2022). Enhancing coral settlement through a novel larval feeding protocol. *Frontiers in Marine Science*, 9, 918232. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.918232>
- Schutter, M., ter Hofstede, R., Bloemberg, J., Elzinga, J., van Koningsveld, M. and Osinga, R. (2023). Enhancing survival of ex-situ reared sexual recruits of *Acropora palmata* for reef rehabilitation. *Ecological Engineering*, 191, 106962. <https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2023.106962>
- Sellares-Blasco, R. I., Villalpando, M. F., Guendulain-García, S. and Croquer, A. (2021). Assisted coral reproduction in the Dominican Republic: A successful story to replicate in the Caribbean. *Frontiers in Marine Science*, 8, 669505. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.669505>
- Siboni, N., Abrego, D., Puill-Stephan, E., King, W. L., Bourne, D. G., Raina, J. B., Seymour, J. R. and Harder, T. (2020). Crustose coralline algae that promote coral larval settlement harbor distinct surface bacterial communities. *Coral Reefs*, 39:6, pp. 1703–1713. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01997-5>
- Tebben, J., Motti, C. A., Siboni, N., Tapiolas, D. M., Negri, A. P., Schupp, P. J., Makato, K., Hatta, M., Steinberg, P. and Harder, T. (2015). Chemical mediation of coral larval settlement by crustose coralline algae. *Scientific Reports*, 5:1, 10803. <https://doi.org/10.1038/srep10803>
- Vermeij, M., Fogarty, N. and Miller, M. (2006). Pelagic conditions affect larval behavior, survival, and settlement patterns in the Caribbean coral *Montastraea faveolata*. *Marine Ecology Progress Series*, 310, pp. 119–128. <https://doi.org/10.3354/meps310119>



Este es un manuscrito de acceso abierto bajo la licencia
CC Reconocimiento-No Comercial-Compartir Igual /
This is an open Access article under the CC BY-NC-SA