

Experimental recruitment of the Brazilian endemic coral *Mussismilia braziliensis* and conditioning of settlement plates

Reclutamiento experimental del coral endémico de Brasil *Mussismilia braziliensis* y acondicionamiento de placas de asentamiento

B Segal^{1,2*}, V Berenguer¹, CB Castro¹

¹ Setor de Celenterologia, Departamento de Invertebrados, Museu Nacional/Universidade Federal do Rio de Janeiro, Quinta da Boa Vista s/n, São Cristóvão, Rio de Janeiro 20940-040, Brazil.

² Present address: Departamento de Ecologia e Zoologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Santa Catarina, Edifício Fritz Muller, Florianópolis, SC 88040-970, Brazil.

* Corresponding author. E-mail: segal.barbara@gmail.com

ABSTRACT. Reef restoration initiatives have been proposed all over the world during the last decades, a few based on sexual coral reproduction. The present study aimed at defining the minimal time required to condition artificial substrates to enhance larval settlement of the coral *Mussismilia braziliensis*. Ceramic tiles were conditioned at the reef for different periods (0 [control], 6, 10, 20, and 30 weeks), and the fouling community was analyzed. The tiles were dominated by turf algae and crustose coralline algae (CCA) in all age treatments; plates 20 and 30 weeks old were statistically different than newer ones, having less turf algae and more CCA. When exposed to the different treatments, larvae of *M. braziliensis* recruited poorly on 6-week plates, and no spat were found on control plates. Our results highlight the importance of an adequate period of conditioning to optimize coral settlement. Although we are far from understanding the complex processes driving larval settlement, establishing baseline conditions for experiments is of foremost importance, even for conservation and management activities of coral reefs.

Key words: coral, plate conditioning, larval settlement, Mussidae, South Atlantic.

RESUMEN. En las últimas décadas se han propuesto iniciativas de restauración de arrecifes alrededor del mundo, algunas basadas en la reproducción sexual del coral. El objetivo del presente estudio fue definir el menor tiempo requerido para acondicionar sustratos artificiales a fin de incrementar el asentamiento de larvas del coral *Mussismilia braziliensis*. Se acondicionaron azulejos de cerámica en el arrecife durante diferentes periodos (0 [control], 6, 10, 20 y 30 semanas), y se analizó la comunidad incrustante. Los azulejos fueron dominados por algas cespitosas y algas coralinas crustosas (ACC) en los tratamientos de todas las edades; las placas de 20 y 30 semanas fueron estadísticamente diferentes comparadas con las de menor edad, con menos algas cespitosas y más ACC. Al ser expuestas a los distintos tratamientos, las larvas de *M. braziliensis* reclutaron poco en las placas de 6 semanas y no se encontraron reclutas en las placas control. Nuestros resultados destacan la importancia de un periodo adecuado de acondicionamiento para optimizar el asentamiento de corales. Aunque estamos lejos de comprender los procesos complejos que conducen el asentamiento de larvas, es muy importante establecer condiciones básicas para experimentos, aun para la conservación y actividades de manejo de arrecifes coralinos.

Palabras clave: coral, acondicionamiento de placas, asentamiento de larvas, Mussidae, Atlántico Sur.

INTRODUCTION

Coral reefs have been degraded worldwide by human activities, intensified during the last two or three decades. These activities impact reefs directly through physical breakage, such as anchor damage, dynamite blast fishing, vessel groundings, and removal of reef limestone. Indirect human impacts come from overfishing, pollution, sedimentation, rising sea surface temperatures, and ocean acidification (Buddemeier *et al.* 2004, Precht 2006). Main responses of building organisms subjected to these impacts are bleaching, diseases, growth and calcification decreases, and death (Buddemeier *et al.* 2004). At the most important reefs in the South Atlantic, off the Brazilian coast, regional impacts seem

INTRODUCCIÓN

Los arrecifes coralinos han sido degradados en todo el mundo por actividades humanas, las cuales se han intensificado durante las últimas dos o tres décadas. Estas actividades afectan los arrecifes directamente a través de daños físicos provocados por anclajes, pesca con dinamita, encallamiento de embarcaciones y extracción de piedra caliza arrecifal. Los impactos indirectos humanos son causados por sobrepesca, contaminación, sedimentación, aumento de la temperatura superficial del mar y acidificación del océano (Buddemeier *et al.* 2004, Precht 2006). Las principales respuestas de los organismos constructores sujetos a estos impactos son el blanqueamiento, enfermedades, disminución de crecimiento

to have greater importance than large-scale phenomena such as global warming. According to Rodríguez-Ramírez *et al.* (2008), the highest risks faced by Brazilian reefs are algal proliferation, sedimentation, deforestation, and urban development of coastal areas. Although few data are available, a recent study analyzing global trends in coral reef exposure to stressors also showed a tendency to higher importance of local impacts (such as eutrophication and sedimentation) at Brazilian reefs (Maina *et al.* 2011).

Scientists and managers worldwide have been focusing on restoration research and initiatives as an attempt to repair damaged reefs. A great part of these techniques move coral fragment transplants into degraded areas (Oren and Benayahu 1997, Jaap 2000, Epstein *et al.* 2001). This kind of transplant is easily employed on a large scale with branching species, such as acroporids, which grow fast and originate several fragments to be transplanted. There are very few studies using massive species for restoration purposes (see Gleason *et al.* 2001, Miller and Szmant 2006). According to Gleason *et al.* 2001, this kind of transplant can achieve great success when combining resistance to transplantation with high reproductive potential and local recruitment. However, techniques that use coral spat produced by *in vitro* cross-fertilization are also important for the maintenance of genetic variability. In the South Atlantic (Brazilian) reefs, which are dominated by slow-growing massive corals, bearing only a few branching milleporid species, coral spats generated by *in vitro* cross-fertilization techniques could be a good alternative for reseeding purposes.

A key process in maintaining reef growth and restoring degraded reefs is the rate new corals (recruits) arrive at the reef. In this regard several studies have investigated the influence of physical features of the substrate such as inclination and light incidence on coral settlement (Harriott and Banks 1995, Maida and Ferreira 1995, Soong *et al.* 2003). Other studies have proved the influence of a chemical process that promotes larval settlement. These chemical signals can be provided by fouling bacteria (Johnson *et al.* 1991, Faimali *et al.* 2004), coral rubble (Heyward and Negri 1999, Carlon 2002, Lee *et al.* 2009), and crustose coralline algae (Morse *et al.* 1994, Heyward and Negri 1999, Baird and Morse 2004). Therefore, it is well established that coral settlement studies using experimental plates must accomplish a “maturation” process of the settlement units. This process allows the development of an encrusting community, which can favor coral settlement, acting as inducers or enhancers of larval settlement and metamorphosis (Baird *et al.* 2003, Faimali *et al.* 2004, Koehl and Hadfield 2004). However, there is no precise conclusion about optimal timing of substrate maturation for successful colonization of reefs. For example, some studies mention a preconditioning time of one week (Gilmour 1999) or three weeks (Mundy and Babcock 1998), while others use three months (Petersen *et al.* 2005). Moreover, chemical mediation of this process can have a species-specific response (Dunstan and Johnson 1998). Therefore, we

y calcificación, y muerte (Buddemeier *et al.* 2004). En los arrecifes más importantes del Atlántico Sur, frente a la costa de Brasil, los impactos regionales parecen ser de mayor importancia que los de los fenómenos a gran escala como el calentamiento global. Según Rodríguez-Ramírez *et al.* (2008), los mayores riesgos que enfrentan los arrecifes brasileños son la proliferación de algas, la sedimentación, la deforestación y el desarrollo urbano de las zonas costeras. Aunque existen pocos datos, un estudio reciente que analizó las tendencias mundiales de la exposición de arrecifes coralinos a factores estresantes también mostró que los impactos locales (tales como la eutrofización y sedimentación) tienden a ser más importantes en los arrecifes brasileños (Maina *et al.* 2011).

Científicos y administradores alrededor del mundo se han enfocado en estudios e iniciativas de restauración con el fin de reparar arrecifes dañados. La mayoría de las técnicas consisten en realizar trasplantes de fragmentos de coral en zonas deterioradas (Oren y Benayahu 1997, Jaap 2000, Epstein *et al.* 2001). Este tipo de trasplante se emplea fácilmente a gran escala con especies ramificadas, como los acropóridos, que crecen rápidamente y producen varios fragmentos para trasplantar; sin embargo, se han realizado pocos estudios con especies masivas para propósitos de restauración (ver Gleason *et al.* 2001, Miller y Szmant 2006). Según Gleason *et al.* 2001, este tipo de trasplante puede lograr gran éxito al combinar la resistencia al trasplante con un alto potencial reproductivo y reclutamiento local. Por otro lado, las técnicas que usan semillas de coral producidas mediante fecundación cruzada *in vitro* también son importantes para el mantenimiento de la variabilidad genética. En los arrecifes brasileños del Atlántico Sur, los cuales son dominados por corales masivos de crecimiento lento, que tienen sólo unas cuantas especies ramificadas de milleporidos, el uso de semillas de coral generadas mediante técnicas de fecundación cruzada *in vitro* podría ser una buena alternativa para propósitos de resiembra.

Un proceso clave en el mantenimiento del crecimiento arrecifal y la restauración de arrecifes degradados es la tasa de llegada de nuevos corales (reclutas) al arrecife. Varios trabajos han estudiado la influencia de aspectos físicos del sustrato como la inclinación y la incidencia de luz en el asentamiento de corales (Harriott y Banks 1995, Maida y Ferreira 1995, Soong *et al.* 2003). Otros estudios han mostrado la influencia de un proceso químico que promueve el asentamiento de larvas. Estas señales químicas pueden ser proporcionadas por bacterias incrustantes (Johnson *et al.* 1991, Faimali *et al.* 2004), escombros coralinos (Heyward y Negri 1999, Carlon 2002, Lee *et al.* 2009) y algas coralinas crustosas (Morse *et al.* 1994, Heyward y Negri 1999, Baird y Morse 2004). Por ende, es bien sabido que los estudios de asentamiento coralino con placas experimentales deben cumplir un proceso de “maduración” de las unidades de asentamiento. Este proceso permite el desarrollo de una comunidad incrustante, que puede favorecer el asentamiento coralino,

aimed at experimentally analyzing the influence of plate maturation times, prior to the spawning season, for obtaining successful corals a few months after settlement, using larvae of the coral *Mussismilia braziliensis* (Verrill 1868) as a case study. Our approach tested together two main constraints for obtaining new recruits: settlement success and early mortality rates.

Corals of the mussid genus *Mussismilia* are endemic to the Brazilian coast, where three species occur: *M. braziliensis*, *M. harttii*, and *M. hispida*. Of these, *M. braziliensis* has the smallest distribution range, exclusive to the State of Bahia (12–18° S), but is one of the main reef builders at the most prolific reef areas of the South Atlantic: the Abrolhos reefs (Castro and Pires 2001). It is a broadcast-spawner that releases gametes during the summer (January–March; Pires *et al.* 1999). Francini-Filho *et al.* (2008) observed that coral diseases intensified in some Abrolhos reefs recently (2005–2007). They predicted “*M. braziliensis* will be nearly extinct in less than a century if the current rate of mortality due to disease is not reversed”. In this scenario, the investigation of reproduction and settlement processes of *M. braziliensis* is highly relevant for South Atlantic reef conservation and management plans.

We present the first study to investigate experimentally *ex situ* the minimum conditioning time of settlement plates for enhancing the number of recruits of a massive, broadcast spawning, reef-building coral.

MATERIAL AND METHODS

Experiment preparation

Terracotta tiles (settlement plates), 15 × 15 cm, were deployed on different dates at the Parque Municipal Marinho do Recife de Fora (16°24.802' S, 038°59.295' W), a reef close to shore (3.5 km) off eastern Brazil. Maximum coral cover of 22.7% occurs at 3 m depth (Costa *et al.* 2000). Plates were tied to cement blocks, positioned vertically and randomly around the blocks, which were placed at about the same depth (3 m). Plates were deployed in July 2007 (48 plates, conditioned during 213 days, *ca.* 30 weeks), October 2007 (31 plates, conditioned during 137 days, *ca.* 20 weeks), December 2007 (30 plates, conditioned during 72 days, *ca.* 10 weeks), and January 2008 (51 plates, conditioned during 43 days, *ca.* 6 weeks).

Just before the experiment, 10 plates of each conditioning period were randomly selected and transported to the laboratory in plastic containers with seawater (higher number of plates were deployed to avoid eventual losses affecting the experiment). These plates were maintained in a seawater semi-open tank system at the Projeto Coral Vivo research station. The system was composed of several 1000-L tanks and one 5000-L reservoir. Seawater was pumped once a week from the sea, close to an inshore reef, and a pump and filter system circulated water between the reservoir and the

actuando como un inductor o potenciador de la fijación y metamorfosis larval (Baird *et al.* 2003, Faimali *et al.* 2004, Koehl y Hadfield 2004). Sin embargo, no se ha llegado a una conclusión precisa en cuanto al momento óptimo de maduración del sustrato para la colonización exitosa de arrecifes. Por ejemplo, algunos estudios mencionan un tiempo de preacondicionamiento de una semana (Gilmour 1999) o tres semanas (Mundy y Babcock 1998), mientras que otros mencionan tres meses (Petersen *et al.* 2005). Además, la mediación química de este proceso puede tener una respuesta específica según la especie (Dunstan y Johnson 1998). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue analizar la influencia de los tiempos de maduración de placas, antes de la temporada de desove, para exitosamente obtener corales unos cuantos meses después de su asentamiento usando larvas del coral *Mussismilia braziliensis* (Verrill 1868) como un estudio de caso. Nuestro enfoque evaluó conjuntamente dos principales restricciones para obtener nuevos reclutas: éxito de asentamiento y tasa de mortalidad temprana.

Los corales del género *Mussismilia* son endémicos de la costa de Brasil, donde se encuentran tres especies: *M. braziliensis*, *M. harttii* y *M. hispida*. De éstas, *M. braziliensis* tiene la distribución más reducida, siendo exclusiva del estado de Bahía (12–18° S), pero es una de las principales constructoras de las zonas arrecifales más prolíficas del Atlántico Sur: los arrecifes de Abrolhos (Castro y Pires 2001). Esta especie libera sus gametos al medio durante el verano (enero a marzo; Pires *et al.* 1999). Francini-Filho *et al.* (2008) observaron que las enfermedades coralinas se han intensificado recientemente (2005–2007) en algunos de los arrecifes de Abrolhos, y pronosticaron que “*M. braziliensis* estará casi extinta en menos de un siglo si no se invierte la tasa de mortalidad actual debido a enfermedades”. En este escenario, la investigación de los procesos de reproducción y asentamiento de *M. braziliensis* se vuelve muy relevante para los planes de conservación y manejo de arrecifes del Atlántico Sur.

Este trabajo representa el primer estudio experimental *ex situ* para definir el menor tiempo requerido para acondicionar placas de asentamiento a fin de aumentar el número de reclutas de un coral masivo, liberador de gametos y constructor de arrecifes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación experimental

Se colocaron azulejos de terracota (placas de asentamiento), de 15 × 15 cm, en diferentes fechas en el Parque Marino Municipal de Recife de Fora (16°24.802' S, 038°59.295' W), un arrecife cerca de la costa este (3.5 km) de Brasil. La cobertura coralina máxima de 22.7% se observa a 3 m de profundidad (Costa *et al.* 2000). Las placas fueron atadas a bloques de cemento, y colocadas verticalmente y aleatoriamente alrededor de los bloques, los cuales

smaller tanks. Plates were photographed with a 10-Mp camera (Canon EOS Rebel XTi), and analyzed under a stereomicroscope (Zeiss Stemi DV4) for quantification and removal of recruits that settled naturally on the plates. This procedure was necessary to avoid counting spats that settled during immersion in the sea and not during the experiment. Images were analyzed to assess benthic coverage of the artificial substrata, using Coral Point Count with Excel Extensions 3.4 software (Kohler and Gill 2006), with 100 random points sampled per plate. Two algal categories were registered: turf algae (different types of “bush-like”, small-sized algae, generally forming a thick layer) and crustose coralline algae (CCA). Besides these treatment plates, 10 control plates were laid for a couple of days in tanks with seawater for removal of any terracotta manufacturing residuals prior to the experiment.

The 50 selected plates were organized in PVC racks in nearly vertical position (same position as in the field), disposed so that the surface available for settlement was always facing another plate. Plates were 10 cm apart from each other to minimize edge effects (Maida *et al.* 1994). Racks were placed inside 80-L plastic experiment containers (10 replicates) with seawater and aeration, with five plates (control, 6-, 10-, 20-, and 30-week plates) in each and one rack (PVC support) per container.

Larval culture

Mature colonies of *M. braziliensis* (of 15 cm diameter or more) were collected in February 2008, just before the spawning season (Pires *et al.* 1999), taken to the laboratory and maintained in 1000-L tanks in the semi-open tank system. Several bundles from 10 colonies, containing eggs and sperm, were collected on 5 and 6 March. Gametes were taken to 41-L plastic containers for fertilization. Due to a high variability in the number of gametes per bundle and high larval mortality, we performed periodic quantification of viable larvae in the containers. Three subsamples (20 mL) were taken per container and live larvae were counted with the aid of a stereomicroscope. The number of larvae was then calculated for the entire volume. Larvae were reared for five days after fertilization, with aeration and daily water changes. Larvae were relocated between containers prior to the experiment to balance their number to *ca.* 3000 larvae per container. Parent colonies were returned to the reef after the spawning event and fixed with epoxy cement.

Settlement

Larvae of *M. braziliensis* are ready to metamorphose and settle about five days after fertilization (Proyecto Coral Vivo, unpublished data). The experiment started on 11 March by putting PVC racks in the containers. Seven days later, when no larvae were seen in the containers, racks were transferred to the tank system.

fueron colocados a una profundidad similar (3 m). Las placas se colocaron en julio de 2007 (48 placas, acondicionadas durante 213 días, *ca.* 30 semanas), octubre de 2007 (31 placas, acondicionadas durante 137 días, *ca.* 20 semanas), diciembre de 2007 (30 placas, acondicionadas durante 72 días, *ca.* 10 semanas) y enero de 2008 (51 placas, acondicionadas durante 43 días, *ca.* 6 semanas).

Justo antes del experimento, 10 placas de cada periodo de acondicionamiento fueron seleccionadas aleatoriamente y transportadas al laboratorio en contenedores de plástico con agua de mar (se utilizó un mayor número de placas para evitar que eventuales pérdidas afectaran el experimento). Estas placas se mantuvieron en un sistema semiabierto de agua de mar en la estación de investigación del proyecto Coral Vivo. El sistema consistió en varios tanques de 1000 L y un depósito de 5000 L. Se bombeó agua marina una vez por semana del mar cerca de un arrecife costero, y una bomba y un sistema de filtración circularon el agua entre el depósito y los tanques más pequeños. Las placas se fotografiaron con una cámara de 10 Mp (Canon EOS Rebel XTi) y se analizaron bajo un estereomicroscopio (Zeiss Stemi DV4) para la cuantificación y la remoción de reclutas que se asentaron naturalmente en ellas. Este procedimiento fue necesario para evitar el conteo de reclutas que se asentaron durante la inmersión de las placas en el mar y no durante el experimento. Se analizaron las imágenes para evaluar la cobertura béntica de los sustratos artificiales con el programa Coral Point Count with Excel Extensions 3.4 (Kohler y Gill 2006), muestreando 100 puntos aleatorios por placa. Se registraron dos categorías de algas: algas cespitosas (diferentes tipos de algas pequeñas que parecen arbustos y generalmente forman una capa gruesa) y algas coralinas crustosas (ACC). Además de estas placas para los tratamientos, se colocaron 10 placas control por un par de días en los tanques con agua de mar para eliminar cualquier residuo de la fabricación de terracota antes del experimento.

Las 50 placas seleccionadas se organizaron en estantes de PVC, en posición casi vertical (misma posición que en el campo), colocadas para que la superficie disponible para el asentamiento siempre estuviera enfrente de otra placa. Se dejó una distancia de 10 cm entre cada placa para minimizar los efectos de borde (Maida *et al.* 1994). Los estantes se colocaron dentro de contenedores de plástico de 80 L (10 réplicas) con agua de mar y aireación, con cinco placas (control, 6, 10, 20 y 30 semanas) en cada uno y un estante (soporte de PVC) por contenedor.

Cultivo de larvas

Se recolectaron colonias maduras de *M. braziliensis* (de 15 cm o más de diámetro) en febrero de 2008, justo antes de la temporada de desove (Pires *et al.* 1999), y se transportaron al laboratorio donde se mantuvieron en los tanques de 1000 L del sistema semiabierto. El 5 y 6 de marzo se recolectaron varios bultos de 10 colonias, que contenían

Live polyps and dead skeletons of coral recruits were counted with a stereomicroscope four months after being transferred to the tanks. After searching for corals, plates were fixed in alcohol (92.8°) and transferred to the laboratory.

Statistics

Differences in algal cover, natural recruitment, and experimental number of coral recruits between treatments were compared using the non-parametric Kruskal-Wallis test, due to heteroscedasticity of variances between treatments. Significant results were further evaluated with *post-hoc* comparisons of mean ranks of all pairs of groups. Partial correlation analysis was also performed to evaluate which factor influenced experimental settlement: conditioning period of plates, turf algal coverage, CCA coverage, and total number of coral recruits *in situ* (which was considered an *a priori* indirect indicative of good conditions for larval settlement). Outliers were indicated by the program and removed when detected. All tests were performed using Statística 7.0.

RESULTS

Turf algae and CCA dominated the fouling community of the experimental plates. Bryozoans, sponges, and tunicates were observed, but not registered in Coral Point Count, since their coverage was very low. Coverage of turf algae was higher on 6- and 10-week-old plates, and significantly lower on 20- and 30-week plates (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 19.98172$, $P = 0.0002$; fig. 1). The CCA presented an inverse trend, with coverage rising towards older plates, with 20- and 30-week plates presenting significantly higher cover (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 19.26399$, $P = 0.0002$; fig. 1). Natural coral recruitment, composed of non-identified species that settled during maturation, was significantly lower on 6-week plates than on 20- and 30-week plates. Since the *M. braziliensis* spawning season occurs between February and April (Pires *et al.* 1999) and the first plates were deployed in July, we attribute these recruits to other coral species. The 10-week plates showed a transitional situation, with no significant difference in relation to other periods (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 12.33097$, $P = 0.0063$; fig. 2).

The experiment with *M. braziliensis* larvae resulted in a total of 708 coral recruits on the 50 experimental plates after four months. From this total, 343 corals came from plates immersed for 30 weeks, 206 from plates immersed for 20 weeks, 133 from plates immersed for 10 weeks, and 26 from plates immersed for 6 weeks; no recruits were found on the control plates. However, one of the 30-week plates was removed from the graphic and statistical analyses because it presented an extremely high number of corals (117 spats), which was an outlier. The experimental and natural number of recruits for each treatment are expressed in coral per square meter (figs. 2, 3).

óvulos y espermatozoides. Los gametos se introdujeron en contenedores de plástico de 41 L para su fertilización. Debido a una alta variabilidad del número de gametos por bulto y alta mortalidad larvaria, se realizaron cuantificaciones periódicas de las larvas viables en los contenedores. Se tomaron tres submuestras (20 mL) de cada contenedor y las larvas vivas se contaron bajo un estereomicroscopio. Posteriormente, se calculó el número de larvas para el volumen total. Las larvas fueron criadas durante cinco días después de su fertilización, con aireación y cambios de agua diarios. Las larvas se distribuyeron entre los contenedores antes del experimento manteniendo un balance de *ca.* 3000 larvas por contenedor. Las colonias madres se regresaron al arrecife después del evento de desove donde se fijaron con cemento epoxi.

Asentamiento

Las larvas de *M. braziliensis* están listas para iniciar la metamorfosis y el asentamiento cinco días después de su fertilización (Proyecto Coral Vivo, datos no publicados). Nuestro experimento inició el 11 de marzo al poner los estantes de PVC en los contenedores. Siete días después, cuando ya no se observaron larvas en los contenedores, los estantes se transfirieron al sistema de tanques.

Cuatro meses después de ser trasladados a los tanques se contaron los pólipos vivos y esqueletos muertos de los reclutas con un estereomicroscopio. Después de la búsqueda de corales, las placas se fijaron en alcohol (92.8°) y se trasladaron al laboratorio.

Análisis estadístico

Las diferencias en la cobertura algal, el reclutamiento natural y el número experimental de reclutas entre los tratamientos se compararon con la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, debido a la heterocedasticidad de varianzas entre los tratamientos. Los resultados significativos se evaluaron mediante comparaciones *post hoc* de rangos promedio de todos los pares de grupos. También se realizó un análisis de correlación parcial para evaluar cuál factor afectó el asentamiento experimental: el periodo de acondicionamiento de las placas, la cobertura de algas cespitosas, la cobertura de ACC y el número total de reclutas *in situ* (considerado un indicador indirecto *a priori* de condiciones buenas para el asentamiento de larvas). Los valores atípicos fueron indicados por el programa y eliminados al ser detectados. Todas las pruebas se realizaron con Statística 7.0.

RESULTADOS

Las algas cespitosas y las ACC dominaron la comunidad incrustante de las placas experimentales. Se observaron briozoarios, esponjas y tunicados, pero no fueron detectados por el programa Coral Point Count ya que su cobertura fue

For all variables tested in partial correlations, only the conditioning period showed significant probability that differences in experimental number of recruits might not occur randomly (table 1). The experimental total number of corals was significantly lower on 6-week-old plates (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 17.60930$, $P = 0.0005$). When considering only the corals found alive, the 6-week plates differed significantly only from the 30-week plates (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 14.01209$, $P = 0.003$). In any case, the number of corals obtained experimentally was higher towards older plates (fig. 3).

DISCUSSION

The *in vitro* fertilization of eggs and sperm collected from 10 colonies of *M. braziliensis* was successful, providing ca. 30,000 larvae five days after fertilization. This represents the first successful *in vitro* settlement experiment with an endemic major reef builder of South Atlantic reefs. Most importantly, our results clearly demonstrate the relevance of carefully considering the incubating period before reliable estimates of coral recruitment rates can be obtained. This approach is valid for any species being considered for *ex situ* or *in situ* recruitment experiments.

An important aspect for recuperation efforts is the rate of recruits obtained: in this study, ca. 2.4% ($n = 708$) from 30,000 larvae initially available. Even more relevant is the

muy baja. La cobertura de las algas cespitosas fue mayor en las placas de 6 y 10 semanas, y significativamente menor en las placas de 20 y 30 semanas (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 19.98172$, $P = 0.0002$; fig. 1). Las ACC mostraron una tendencia inversa; su cobertura fue incrementando en las placas de mayor edad, las de 20 y 30 semanas con una cobertura significativamente mayor (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 19.26399$, $P = 0.0002$; fig. 1). El reclutamiento coralino natural, compuesto de especies no identificadas que se asentaron durante su maduración, fue significativamente menor en las placas de 6 semanas que en las de 20 y 30 semanas. Tomando en cuenta que la temporada de desove de *M. braziliensis* es entre febrero y abril (Pires *et al.* 1999) y las primeras placas se colocaron en julio, estos reclutas se atribuyeron a otras especies de coral. Las placas de 10 semanas mostraron una situación transicional y no se observaron diferencias significativas con los otros periodos (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 12.33097$, $P = 0.0063$; fig. 2).

El experimento con las larvas de *M. braziliensis* produjo un total de 708 reclutas en las 50 placas experimentales después de cuatro meses. De este total, 343 corales provinieron de las placas inmersas durante 30 semanas, 206 de las placas inmersas durante 20 semanas y 133 de las placas inmersas durante 6 semanas; no se observaron reclutas en las placas control. Una de las placas de 30 semanas se eliminó de los análisis gráficos y estadísticos ya que presentó un número extremadamente alto de corales (117 reclutas), el cual fue un

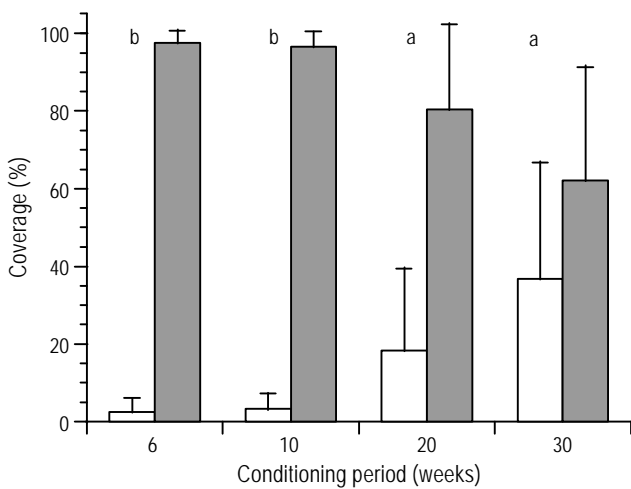


Figure 1. Cover (mean and standard deviation) of crustacean coralline algae (white bars) and turf algae (grey bars) per conditioning period. Groups with different letters (a and b) are significantly different for the two parameters tested in *post-hoc* multiple comparisons ($P < 0.05$).

Figura 1. Cobertura (media y desviación estándar) de algas coralinas crustosas (barras blancas) y algas cespitosas (barras grises) por periodo de acondicionamiento. Los grupos con letras diferentes (a, b) son significativamente diferentes para los dos parámetros evaluados en las comparaciones múltiples *post hoc* ($P < 0.05$).

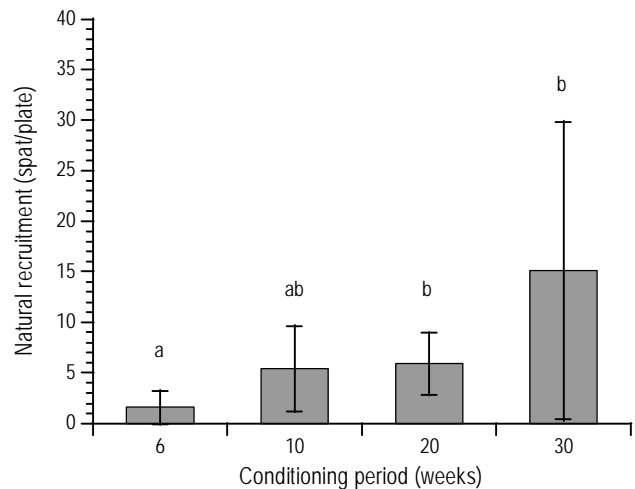


Figure 2. Natural recruitment (mean and standard deviation of number of spats per plate) for each conditioning period of settlement plates. Groups with different letters (a and b) are significantly different in *post-hoc* multiple comparisons ($P < 0.05$). Group ab represents a transitional stage.

Figura 2. Reclutamiento natural (media y desviación estándar del número de reclutas por placa) para cada periodo de acondicionamiento de las placas de asentamiento. Los grupos con letras diferentes (a, b) son significativamente diferentes en las comparaciones múltiples *post hoc* ($P < 0.05$). El grupo ab representa una etapa transicional.

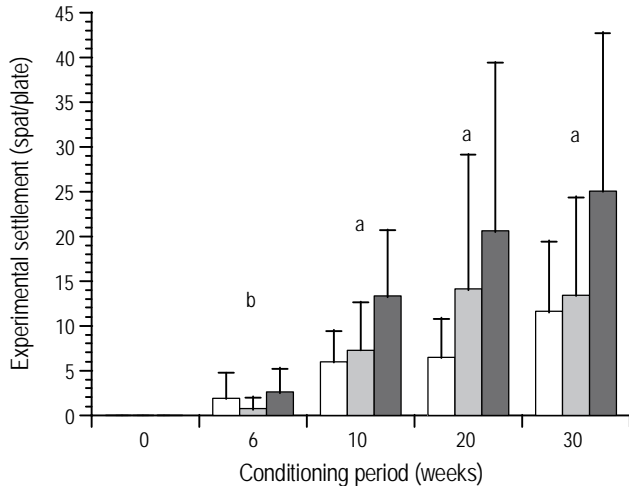


Figure 3. Experimental settlement (mean and standard deviation of number of spats per plate) with live spats (white bars), dead spats (light grey bars), and total spats (dark grey) for each conditioning period of recruitment plates. Groups with different letters are significantly different for total spats ($P < 0.05$).

Figura 3. Asentamiento experimental (media y desviación estándar del número de reclutas por placa) con reclutas vivos (barras blancas), reclutas muertas (barras grises claras) y reclutas totales (barras grises oscuras) para cada periodo de acondicionamiento de las placas de reclutamiento. Los grupos con letras diferentes son significativamente diferentes para los reclutas totales ($P < 0.05$).

survival rate after the crucial first months. Miller and Szmant (2006) reported a survival rate of 1–2% for recruits of *Montastraea faveolata* over the first three months after settlement. Comparatively, we found 39% of live spats after four months of the settlement period (fig. 3). These results suggest that similar techniques could be used for replenishment, either as larvae or recruits, of degraded natural environments. Low settlement rates can be greatly improved, especially eliminating losses during water changes; *M. braziliensis* larvae are extremely small, and almost all (>95%) larvae were not retained by 100- μ m plankton nets. Also, the number of seed colonies (source of gametes) could be increased to reach a desired larger number of larvae.

Our results suggest that the minimal conditioning time for recruitment plates should necessarily be longer than 10 weeks in field conditions. Although the high variance did

valor atípico. Los números de reclutas experimentales y naturales para cada tratamiento se expresan en corales por metro cuadrado (figs. 2, 3).

De todas las variables probadas en las correlaciones parciales, sólo el periodo de acondicionamiento mostró una probabilidad significativa de que las diferencias en el número experimental de reclutas podrían no ser aleatorias (tabla 1). El número total experimental de corales fue significativamente menor en las placas de 6 semanas (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 17.60930$, $P = 0.0005$). Considerando sólo los corales encontrados vivos, las placas de 6 semanas difirieron significativamente sólo de las de 30 semanas (Kruskal-Wallis, $H_{(3, n=39)} = 14.01209$, $P = 0.003$). En cualquier caso, el número de corales obtenido experimentalmente incrementó en las placas de mayor tiempo de inmersión (fig. 3).

DISCUSIÓN

La fecundación *in vitro* de óvulos y espermatozoides de 10 colonias de *M. braziliensis* se realizó con éxito, proporcionando ca. 30,000 larvas cinco días después de su fertilización. Esto representa el primer experimento exitoso de asentamiento *in vitro* de uno de los principales constructores arrecifales endémico del Atlántico Sur. De mayor importancia, nuestros resultados muestran claramente la relevancia de considerar cuidadosamente el periodo de incubación antes de poder obtener estimaciones confiables de las tasas de reclutamiento de corales. Este enfoque es válido para cualquier especie que está siendo considerada para experimentos de reclutamiento *ex situ* o *in situ*.

Un aspecto importante para los esfuerzos de recuperación es la tasa de reclutas obtenidos: en este estudio, ca. 2.4% ($n = 708$) de 30,000 larvas inicialmente disponibles. Aún más relevante es la tasa de supervivencia después de los primeros meses cruciales. Miller y Szmant (2006) registraron una tasa de supervivencia de 1–2% para reclutas de *Montastraea faveolata* durante los primeros tres meses después de su asentamiento. En comparación, nosotros encontramos 39% de reclutas vivos después de cuatro meses de su asentamiento (fig. 3). Estos resultados sugieren que se podrían utilizar técnicas similares para la reposición, como larvas o reclutas, de los ambientes naturales degradados. Las bajas tasas de asentamiento pueden mejorarse significativamente, especialmente eliminando las pérdidas durante los cambios de agua; las larvas de *M. braziliensis* son extremadamente pequeñas, y

Table 1. Partial correlation summary for total experimental number of recruits against several variables ($n = 39$).

Tabla 1. Resumen de la correlación parcial entre el número total de reclutas experimentales y varias variables ($n = 39$).

Variable	r	r^2	t	df	P
Conditioning period	0.695	0.484	5.560	33	0.000
Cover of crustose coralline algae	0.240	0.058	1.423	33	0.164
Cover of turf algae	0.307	0.095	1.856	33	0.072
Number of natural recruits	-0.038	0.001	-0.218	33	0.829

not allow us to statistically distinguish 10-week from 20- and 30-week plates, the higher mean recruitment of the older plates suggests that even longer immersion periods may in fact be better for increased recruitment efficiency. A drawback of such long periods in the sea is that spat settled during this period should be searched for and removed from plates prior to the beginning of the experiments. According to our results, rates from several studies may have underestimated potential settlement due to inadequate conditioning of substrates. Lundgren and Minton (2005), who conditioned plates for two weeks prior to a settlement experiment, discuss that the timing of plate conditioning could have been responsible for the low coral recruitment observed (only seven recruits on 120 plates).

Hughes *et al.* (2002) performed a meta-analysis of several recruitment studies at the Great Barrier Reef. Their results showed that “total recruitment was significantly correlated with the month and year of deployment, whether the deployment included the month of mass spawning (spawning), depth, distance from shore, duration and habitat, and latitude”. This creates constraints to the comparison of *in situ* experiments. Also, often authors do not specify precise times of conditioning. Therefore, we did not compare rates of recruitment and plate conditioning among different *in situ* studies; however, based on our experimental results, we suggest that plate conditioning should deserve special attention in recruitment studies. Authors should indicate exact times of conditioning and experimental deployment/retrieval of plates in their studies.

The absence of *M. braziliensis* on the experimental control tiles agrees with the general assumption regarding the necessity of biological environmental cues or inducers for larval settlement, as reported by several studies. Different approaches have shown the positive or negative importance of CCA (Morse *et al.* 1994, Heyward and Negri 1999, Baird and Morse 2004, Szmant and Miller 2006), turf algae (Petersen *et al.* 2005), biofilm (Johnson *et al.* 1991, Faimali *et al.* 2004), and reef water (Gleason *et al.* 2009). There is no consensus on a single or a most important cue. A difference detected between plates conditioned during 20 and 30 weeks, when compared with newer ones, is a reduction in turf algae (Kruskal-Wallis, $P = 0.0002$; fig. 1) and an increase in CCA cover (Kruskal-Wallis, $P = 0.0002$; fig. 1). Although CCA presented a higher cover on older plates, correlation results did not indicate a relationship of CCA improving coral settlement (table 1). A similar lack of relationship between CCA and spats has been found before (Petersen *et al.* 2005). This should be further investigated, considering the isolation of each CCA species and testing each species as recruitment inducers, since it could be a species-specific relationship.

The minimal conditioning period for *M. braziliensis* should be at least 10 weeks prior to the recruitment experiment, with a potential benefit for using longer periods. The number of four-month-old recruits achieved in a small-scale effort suggests that, with improvements, *M. braziliensis* may

casi todas (>95%) no fueron retenidas por mallas de plankton de 100 μm . Asimismo, se podría aumentar el número de las colonias semilleras (fuente de gametos) para alcanzar el número deseado de larvas.

Nuestros resultados sugieren que el tiempo mínimo de acondicionamiento de las placas de reclutamiento necesariamente debe ser más de 10 semanas en condiciones de campo. A pesar de que no fue posible distinguir estadísticamente entre las placas de 10 semanas y las de 20 y 30 semanas debido a la alta variación, el mayor reclutamiento promedio obtenido con las placas de mayor edad indica que periodos de inmersión más largos podrían incluso aumentar la eficiencia del reclutamiento. Un inconveniente de estos periodos tan largos en el mar es que es necesario examinar las placas y quitar los reclutas que se asentaron durante este periodo antes de iniciar los experimentos. Según nuestros resultados, las tasas registradas en varios estudios podrían haber subestimado el asentamiento potencial debido a un acondicionamiento inadecuado de los sustratos. Lundgren y Minton (2005), quienes acondicionaron las placas durante dos semanas antes del experimento de asentamiento, mencionan que el periodo de acondicionamiento podría haber sido responsable del bajo reclutamiento observado (sólo siete reclutas en 120 placas).

Hughes *et al.* (2002) realizaron un metaanálisis de varios estudios de reclutamiento en la Gran Barrera Arrecifal de Australia. Sus resultados mostraron que “el reclutamiento total se correlacionó significativamente con el mes y año de instalación, ya sea que la instalación incluyera el mes de desove masivo (desove), la profundidad, distancia de la costa, duración y hábitat, y latitud”. Esto crea restricciones para la comparación de experimentos *in situ*. Además, con frecuencia los autores no especifican los tiempos precisos de acondicionamiento. Por ende, en este estudio no se compararon las tasas de acondicionamiento con diferentes estudios *in situ*; sin embargo, con base en nuestros resultados experimentales, se sugiere que el acondicionamiento de placas amerita especial atención en estudios de reclutamiento. Los autores deberían indicar los tiempos exactos de acondicionamiento y de la instalación y recuperación de las placas en sus trabajos.

La ausencia de *M. braziliensis* en las placas control concuerda con la suposición general en cuanto a la necesidad de señales o inductores biológicos para el asentamiento larval, como se ha documentado en varios trabajos. Diferentes enfoques han mostrado la importancia positiva o negativa de las ACC (Morse *et al.* 1994, Heyward y Negri 1999, Baird y Morse 2004, Szmant y Miller 2006), las algas cespitosas (Petersen *et al.* 2005), la biopelícula (Johnson *et al.* 1991, Faimali *et al.* 2004) y el agua arrecifal (Gleason *et al.* 2009). No hay consenso sobre una señal única o más importante. Una diferencia detectada entre las placas acondicionadas durante 20 y 30 semanas, en comparación con las de menos tiempo, fue una reducción de la cobertura de algas cespitosas (Kruskal-Wallis, $P = 0.0002$; fig. 1) y un incremento de las

be eligible for *ex situ* production of larvae and/or recruits. The relation of plate conditioning timing with experimental coral recruitment *ex situ* is tested experimentally for the first time here. The imperative of adequate previous plate conditioning for sound results is demonstrated. As the rates of conditioning are likely to vary among regions, authors are encouraged to test for the minimum adequate conditioning period for their area's coral community.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are grateful to several persons and institutions that helped to accomplish this study: J Creed for initial activities related to plate conditioning; A Baird and two anonymous reviewers for criticism of an earlier version of the manuscript; the Projeto Coral Vivo team for assistance in field and laboratory activities; Projeto Coral Vivo, through the sponsorship of "Programa Petrobras Ambiental", provided funds for field and laboratory activities and a scholarship to VB; the Arraial d'Ajuda Eco Park provided space and support for the installation of tank and aquarium systems; and the Secretariat of Environment of Porto Seguro County provided the license to work in the Recife de Fora Marine Municipal Park.

REFERENCES

- Baird AH, Morse ANC. 2004. Induction of metamorphosis in larvae of the brooding corals *Acropora palifera* and *Stylophora pistillata*. *Mar. Freshwat. Res.* 55: 469–472.
- Baird AH, Babcock RC, Mundy CP. 2003. Habitat selection by larvae influences the depth distribution of six common coral species. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 252: 289–293.
- Buddemeier RW, Kleypas JA, Aronson RB. 2004. Potential contributions of climate change to stresses on coral reef ecosystems. *Coral reefs and global climate change*. Pew Center on Global Climate Change, Virginia, USA, 56 pp.
- Carlson DB. 2002. Production and supply of larvae as determinants of zonation in a brooding tropical coral. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 268: 33–46.
- Castro CB, Pires DO. 2001. Brazilian coral reefs: What we already know and what is still missing. *Bull. Mar. Sci.* 69: 357–371.
- Costa OS Jr, Attrill MJ, Pedrini AG, De-Paula JC. 2000. Benthic macroalgal distribution in coastal and offshore reefs at Porto Seguro Bay, Brazilian Discovery Coast. *Proceedings of the 9th International Coral Reef Symposium*, pp. 23–27.
- Dunstan PK, Johnson CR. 1998. Spatio-temporal variation in coral recruitment at different scales on Heron Reef, southern Great Barrier Reef. *Coral Reefs* 17: 71–81.
- Epstein N, Bak RPM, Rinkevich B. 2001. Strategies for gardening denuded coral reef areas: The applicability of using different types of coral material for reef restoration. *Restor. Ecol.* 9: 432–442.
- Faimali M, Garaventa F, Terlizzi A, Chiantore M, Cattaneo-Vietti R. 2004. The interplay of substrate nature and biofilm formation in regulating *Balanus amphitrite* Darwin, 1854 larval settlement. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 306: 37–50.
- Francini-Filho RB, Moura RL, Thompson FL, Reis RM, Kaufman L, Kikuchi RKP, Leão ZMAN. 2008. Diseases leading to accelerated decline of reef corals in the largest South Atlantic reef complex (Abrolhos Bank, eastern Brazil). *Mar. Pollut. Bull.* 56: 1008–1014.

ACC (Kruskal-Wallis, $P = 0.0002$; fig. 1). Aunque las ACC presentaron mayor cobertura en las placas inmersas durante un periodo más largo, los resultados de la correlación no indicaron una relación entre las ACC y un mejor asentamiento (tabla 1). Tal falta de relación entre las ACC y los reclutas ya ha sido documentada (Petersen *et al.* 2005). Esto requiere de mayor investigación, tomando en cuenta el aislamiento de cada especie de ACC y probando cada especie como inductor de reclutamiento, ya que podría ser una relación específica según la especie.

El periodo de acondicionamiento mínimo para *M. braziliensis* debería ser por lo menos 10 semanas antes del experimento de reclutamiento, existiendo un beneficio potencial si se usan periodos más largos. El número de reclutas de cuatro meses de edad obtenido en este esfuerzo a pequeña escala sugiere que, con mejorías, esta especie podría ser apta para la producción *ex situ* de larvas y/o reclutas. La relación entre el tiempo de acondicionamiento de placas y el reclutamiento *ex situ* se evalúa por primera vez en este estudio. Se muestra la importancia de un acondicionamiento adecuado previo de las placas. Ya que las tasas de acondicionamiento pueden variar entre regiones, se les sugiere a los autores que determinen el periodo de acondicionamiento mínimo para la zona de su comunidad coralina.

AGRADECIMIENTOS

Se agradecen a las siguientes personas e instituciones que apoyaron este trabajo: J Creed realizó actividades iniciales relacionadas con el acondicionamiento de placas; A Baird y dos revisores anónimos aportaron comentarios útiles a una versión previa del manuscrito; el equipo del proyecto Coral Vivo proporcionó asistencia en el campo y laboratorio; el proyecto Coral Vivo, a través de su patrocinio del "Programa Petrobras Ambiental", proporcionó financiamiento para las actividades de campo y laboratorio y una beca a VB; El Eco Parque Arraial d'Ajuda proporcionó espacio y facilidades para la instalación de los sistemas de tanques; y la Secretaría de Medio Ambiente de Porto Seguro otorgó la licencia para trabajar en el Parque Municipal Marino de Recife de Fora.

Traducido al español por Christine Harris.

- Gilmour J. 1999. Experimental investigation into the effects of suspended sediment on fertilisation, larval survival and settlement in a scleractinian coral. *Mar. Biol.* 135: 451–462.
- Gleason DF, Brazeau DA, Munfus D. 2001. Can self-fertilized coral species be used to enhance restoration of Caribbean reefs? *Bull. Mar. Sci.* 69: 933–943.
- Gleason DF, Danilowicz BS, Nolan CJ. 2009. Reef waters stimulate substratum exploration in planulae from brooding Caribbean corals. *Coral Reefs* 28: 549–554.
- Harriott VJ, Banks SA. 1995. Recruitment of scleractinian corals in the Solitary Island Marine Reserve, a high latitude coral-

- dominated community in eastern Australia. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 123: 155–161.
- Heyward AJ, Negri AP. 1999. Natural inducers for coral larval metamorphosis. *Coral Reefs* 18: 273–279.
- Hughes TP, Baird AH, Dinsdale EA, Harriott VJ, Moltchanivskyj NA, Pratchett MS, Tanner JE, Willis BL. 2002. Detecting regional variation using meta-analysis and large-scale sampling: Latitudinal patterns in recruitment. *Ecology* 83: 436–451.
- Jaap WC. 2000. Coral reef restoration. *Ecol. Eng.* 15: 345–364.
- Johnson CR, Muir DG, Reysenbach AL. 1991. Characteristic bacteria associated with surfaces of coralline algae: A hypothesis for bacterial induction of marine invertebrate larvae. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 74: 281–294.
- Koehl MAR, Hadfield MG. 2004. Soluble settlement cue in slowly moving water within coral reefs induces larval adhesion to surfaces. *J. Mar. Syst.* 49: 75–88.
- Kohler KE, Gill SM. 2006. Coral Point Count with Excel extensions (CPCe): A Visual Basic program for the determination of coral and substrate coverage using random point count methodology. *Comput. Geosci.* 32: 1259–1269.
- Lee CS, Walford J, Goh BPL. 2009. Adding coral rubble to substrata enhances settlement of *Pocillopora damicornis* larvae. *Coral Reefs* 28: 529–533.
- Lundgren I, Minton D. 2005. Is coral recruitment limited by sedimentation at war in the Pacific National Historical Park? In: Harmon D (ed.), *People, Places, and Parks. Proceedings of the 2005 George Wright Society Conference on Parks, Protected Areas, and Cultural Sites*, Hancock, Michigan. The George Wright Society, pp. 379–384.
- Maida M, Ferreira BP. 1995. Estudo preliminar sobre o assentamento de corais em um Recife na Baía de Tamandaré-PE. *Bol. Téc. Cient. CEPENE* 3: 23–37.
- Maida M, Coll JC, Sammarco PW. 1994. Shedding new light on scleractinian coral recruitment. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 180: 189–202.
- Maina J, McClanahan TR, Venus V, Ateweberhan M, Madin J. 2011. Global gradients of coral exposure to environmental stresses and implications for local management. *PLoS ONE* 6: e23064, doi:10.1371/journal.pone.0023064.
- Miller MW, Szmant AM. 2006. Lessons learned from experimental key-species restoration. In: Precht W (ed.), *Coral Reef Restoration Handbook*. CRS Press, Boca Raton, pp. 219–233.
- Morse DE, Morse ANC, Raimondi PT, Hooker N. 1994. Morphogen-based chemical flypaper for *Agaricia humilis* coral larvae. *Biol. Bull.* 186: 172–181.
- Mundy CN, Babcock RC. 1998. Role of light intensity and spectral quality in coral settlement: Implications for depth-dependent settlement? *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 223: 235–255.
- Oren U, Benayahu Y. 1997. Transplantation of juvenile corals: A new approach for enhancing colonization of artificial reefs. *Mar. Biol.* 127: 499–505.
- Petersen D, Laterveer M, Schuhmacher H. 2005. Spatial and temporal variation in larval settlement of reefbuilding corals in mariculture. *Aquaculture* 249: 317–327.
- Pires DO, Castro CB, Ratto CC. 1999. Reef coral reproduction in the Abrolhos Reef Complex, Brazil: The endemic genus *Mussismilia*. *Mar. Biol.* 135: 463–471.
- Precht W. 2006. *Coral Reef Restoration Handbook*. CRS Press, Boca Raton, 384 pp.
- Rodríguez-Ramírez A, Bastidas C, Cortés J, Guzmán H, Leão Z, Garzón-Ferreira J, Kikuchi R, Ferreira BP, Alvarado JJ, Jiménez C, Fonseca AC, Salas E, Nivia J, Fernández C, Rodríguez S, Debrot D, Cróquer A, Gil D, Gómez DI, Navas-Camacho R, Reyes-Nivia MC, Acosta A, Alvarado E, Pizarro V, Sanjuan A, Herrón P, Zapata FA, Zea S, López-Victoria M, Sánchez JA. 2008. Status of coral reefs and associated ecosystems in Southern Tropical America: Brazil, Colombia, Costa Rica, Panama and Venezuela. In: Wilkinson C (ed.), *Status of Coral Reefs of the World: 2008. Global Coral Reef Monitoring Network and Reef and Rainforest Research Center*, Townsville, Australia, pp. 281–294.
- Soong K, Chen MH, Chen CL, Dai CF, Fan TY, Li JJ, Fan H. 2003. Spatial and temporal variation of coral recruitment in Taiwan. *Coral Reefs* 22: 224–228.
- Szmant AM, Miller MW. 2006. Settlement preferences and post-settlement mortality of laboratory cultured and settled larvae of the Caribbean hermatypic corals *Montastraea faveolata* and *Acropora palmata* in the Florida Keys, USA. *Proceedings of the 10th International Coral Reef Symposium*, pp. 43–49.

Received September 2010,
received in revised form June 2011,
accepted October 2011.