

Tesis Doctoral

Francisco José García-Cárdenas

Filogenia,
biología
y distribución
de las plumas de mar

(Octocorallia, Pennatulacea)

Departamento de Zoología
Facultad de Biología
Universidad de Sevilla



Francisco José García-Cárdenas

Tesis Doctoral

Filogenia, biología y distribución
de las plumas de mar
(Octocorallia, Pennatulacea)



UNIVERSIDAD DE SEVILLA

Biodiversidad y Ecología Acuática

Departamento de Zoología

Facultad de Biología

Filogenia, biología y distribución
de las plumas de mar
(Octocorallia, Pennatulacea)

Director:

Pablo José López González

Departamento de Zoología, Facultad de Biología

Universidad de Sevilla

Sevilla, marzo 2022



FACULTAD DE BIOLOGÍA
Departamento de Zoología

Dr. Pablo J. López González, Profesor Titular de Universidad adscrito al Departamento de Zoología de la Universidad de Sevilla, y responsable del grupo de investigación Biodiversidad y Ecología Acuática (RNM331),

CERTIFICA,

que D. Francisco José García Cárdenas, licenciado en Biología por la Universidad de Sevilla, ha realizado bajo su dirección y supervisión la memoria titulada “Filogenia, biología y distribución de las plumas de mar (Octocorallia, Pennatulacea)”, considerando que reúne todas las condiciones necesarias para ser presentado y defendido como Tesis Doctoral.

Sevilla, 28 de marzo de 2022

Fdo: Pablo J. López González

*A Valentina,
tu fundum meum illuminas*

*Lo logré por tí.
Hagas lo que hagas en esta vida, intenta hallar
ese lugar en el que tus pensamientos dejen en paz a tu conciencia,
y cada día te sientas feliz por hacer lo que haces.
Siempre estaré a tu lado.*

Habitat in Oceano, fundum illuminans.

Linneaus 1758

What is an individual? It is always interesting to discover the foundation of the strange tales of the old voyagers. Captain Lancaster, in his voyage in 1601, narrates that on the sea-sands of the island of Sombrero, in the East Indies, he *found a small twig growing up like a young tree, and on offering to pluck it up it shrinks down to the ground, and sinks, unless held very hard.*

Darwin 1860

AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer en primer lugar a mis padres, Francisco y Cristobalina, sin la ayuda de los cuales no hubiese podido alcanzar esta meta, que requería compaginar mi vida laboral con la académica. Habéis atravesado situaciones muy difíciles pero no habéis abandonado, habéis luchado, mostrando una fortaleza que espero haber heredado. Siempre me habéis apoyado, me habéis transmitido valores y, sacrificando vuestras vidas, me habéis dado la oportunidad de progresar en la mía. Por tanto, mis méritos, como la presente tesis doctoral, son vuestros méritos. Gracias por todo lo que nos habéis dado (a mí, a mi hermana y a mi hermano). No se podía hacer mejor.

A Mar, mi pareja, mi amiga, mi mujer, que ha sufrido conmigo durante todo este proceso, y ha tenido la suficiente paciencia para aguantarme en los momentos de mayor estrés o frustración. Ella siempre incansable al darme ánimos y fuerzas para que no lo dejara, gracias por confiar siempre en mí. Te quiero.

A mis hermanos, mis sobrinos, y al resto de mis familiares y amigos con los que, aunque siempre presentes en mis pensamientos, no he podido pasar mucho tiempo, por mi ajetreada combinación de trabajo y estudio. Gracias por vuestra paciencia y por seguir estando ahí.

Quiero agradecer también a numerosos compañeros y jefes de campaña que han trabajado en las diferentes expediciones durante las cuales se obtuvo el material aquí examinado: BIAÇORES, GUINEA BISSAU, BENGUELA XV, ANT XVII/3, BIOICE, ANT XIX/5, BIOROSS, ANT XXIII /8, ARCO, INDEMARES I (Canal de Menorca-Cap de Creus), Cruceros Scotia, INDEMARES-Alborán e INDEMARES-Chica. En estos cruceros, mi agradecimiento se dirige a Francesc Pagès, Wolf Arntz, Josep-Maria Gili, Jim Drewery, Gudmundur Gudmundsson, Gudmundur Vidir, Jörundur Svavarsson, Stefano Schiaparelli, Annenina Lortz, Julian Gutt, Enrique Isla, Helmut Zibrowius, Victor Díaz del Río, José Luís Rueda, Serge Gofas, Ángel Luque y César Megina. También agradezco a Miranda Lowe

(Museo Británico de Historia Natural) y Tamy Horton por la colaboración en la obtención de algunos materiales.

Esta investigación ha sido parcialmente financiada por los proyectos españoles REN2001-4929-E/ANT (LAMPOS, ANT XIX/5), POL2006-06399/CGL (CLIMANT, ANT XXIII/8), LIFE07/NAT/E/000732 LIFE+INDEMARES (INDEMARES-Cap de Creus, INDEMARES-Alborán e INDEMARES-Chica), y CONICYT–PCHA/Doctorado Nacional/2017–21170438 (NFM). El estudio de los ejemplares antárticos y la concepción final de este trabajo se han realizado en el marco del proyecto CTM2017-83920-P (DIVERSICORAL), financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España.

A todos aquellos colaboradores y colegas que han contribuido de alguna manera a la realización de la presente tesis (agradecidos de forma particular en cada capítulo). De forma personal gracias a R. Santos Gally (Departamento de Biología y Ecología Vegetal), G. Gutiérrez Pozo (Departamento de Genética), César Megina (Departamento de Zoología), Carlos M. Herrera (CSIC) y Juan M. Muñoz Pichardo (Departamento de Estadística e Investigación Operativa). A Tony Krupa por revisar las versiones en inglés, y a aquellos asesores anónimos que han contribuido a mejorar los manuscritos.

Especial agradecimiento a Pablo, tutor de la presente tesis, quién apostó por mí desde el principio a pesar de ser un alumno mediocre y con escasos recursos, y me dedicó largos momentos repletos de un valioso aprendizaje que finalmente derivaron en publicaciones científicas, gracias a las cuales, mi nombre aparecerá junto al de ese grupo de científicos que forman parte de la historia de las plumas de mar.

RESUMEN

La presente tesis trata de abordar diferentes aspectos sobre la filogenia, biología y distribución de los pennatuláceos o plumas de mar (Octocorallia, Pennatulacea). El Orden Pennatulacea abarca a un grupo de octocorales especializados y morfológicamente diferenciados, distribuidos por todos los océanos, desde las zonas intermareales hasta más de 6.000 metros de profundidad. Las plumas de mar constituyen un importante componente estructural en las comunidades marinas de fondo blando, incrementando la complejidad de estos ambientes. Aunque los pennatuláceos son un componente importante de las comunidades bentónicas marinas generalmente relacionados con fondos blandos, existen aún muchas lagunas de conocimiento sobre aspectos relativos a su biología y evolución. Nuestra investigación se centra en el estudio de estos organismos, desde diferentes perspectivas.

A pesar de su importante papel ecológico, la información sobre su origen y tiempo de divergencia es aún escasa. Los primeros intentos de establecer relaciones filogenéticas entre géneros datan de principios del siglo XX, cuando sólo estaban disponibles caracteres morfológicos. En la última década, los análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN mitocondrial procedentes de un limitado número de especies han propuesto un ancestro hipotético diferente para este grupo (una gorgonia elisélida frente a un coral blando dimórfico), pero sus relaciones intergenéricas permanecen oscuras. La presente investigación está basada en una combinación de marcadores mitocondriales y nuclear (*mtMutS*, *Cox1* y ADNr 28S), aportando nueva información molecular sobre las relaciones filogenéticas entre los géneros de pennatuláceos, incluyendo 38 nuevas secuencias pertenecientes a 13 especies. Algunas de las relaciones filogenéticas inferidas en el presente estudio cuestionan la actual clasificación de las plumas de mar basada en la morfología (a diferentes niveles taxonómicos), indicando claramente que las dos agrupaciones principales Sessiliflorae y Subselliflorae, algunas de sus princi-

pales familias (por ejemplo Pennatulidae, Umbellulidae o Virgulariidae) y algunos géneros (por ejemplo *Umbellula* o *Veretillum*) son no-monofiléticos. Asimismo, los veretílidos, tradicionalmente considerados los pennatuláceos más primitivos, no se muestran como el taxón divergente más antiguo. Además, un análisis del tiempo de divergencia realizado en este trabajo sugirió que el origen de los pennatuláceos data del Cretácico Inferior (Berriasiano, ~ 144 Ma), de acuerdo con su escasamente conocido registro fósil, mientras que la divergencia inicial de la mayoría de los géneros existentes ocurrió en tiempos del Oligoceno y Mioceno. (CAPITULO 1)

A pesar de ser una agrupación muy característica desde el punto de vista morfológico, la taxonomía y la sistemática de las plumas de mar es aún pobremente conocida. Recientes estudios moleculares han mostrado la existencia de características morfológicas convergentes, haciendo inestable la actual distribución familiar de los géneros. El género *Pennatula* Linnaeus, 1758, fue uno de los primeros géneros de octocorales descritos. Es el género tipo de su familia, y del Orden Pennatulacea. Las colonias de este género tienen una morfología característica. Los recientes esfuerzos de muestreo en el noreste Atlántico han proporcionado un número de colonias inicialmente atribuibles al género *Pennatula*. Tanto el estudio morfológico como molecular (genes *mtMutS*, *Cox1* y *28S*) de este **material respaldan la naturaleza polifilética de este género, y la necesidad de “resucitar” al género *Ptilella* Gray, 1870 para acomodar a éstas y otras especies.** Una nueva especie, *Ptilella grayi* n. sp., es descrita e ilustrada. La especie *Pennatula bayeri* es propuesta como sinónimo reciente de *Pennatula bellissima* (aquí también considerada en el género *Ptilella*). (CAPITULO 2)

El Orden Pennatulacea incluye algunas de las especies estructurales más importantes en las comunidades bentónicas de fondos blandos en plataforma continental. *Pteroeides spinosum* es un pennatuláceo de aguas poco profundas que habita fondos del Noreste Atlántico-Mediterráneo. En este estudio, varias colonias de *Pt. spinosum* recolectadas en las proximidades de Cap de Creus (NW

Mediterráneo) se utilizaron para estimar su esfuerzo reproductor y permitir una comparación con otros pennatuláceos, incluidas colonias de especies no identificadas de *Pteroeides* de Nueva Zelanda. Las colonias estudiadas de *Pteroeides spinosum* son gonocóricas y muestran una distribución bimodal de frecuencia de ovocitos. El diámetro máximo observado fue de 668 μm para quistes espermáticos y 687 μm para ovocitos. La fecundidad relativa potencial media (PRF) osciló entre 7 y 17 ovocitos por pólipo. El esfuerzo reproductivo efectivo (ERE) alcanzó un valor de unos 30.000 ovocitos grandes. Como se observa en todos los pennatuláceos previamente estudiados, no se hallaron signos de hermafroditismo en las colonias de *Pt. spinosum* estudiadas. (CAPITULO 3)

Entre los pennatuláceos de aguas profundas, se recolectó un conjunto representativo de colonias del Atlántico nororiental de *Anthoptilum murrayi* Kölliker, 1880 gracias a las expediciones del proyecto BIOICE. En este estudio, las colonias de *A. murrayi* se agruparon en tres clases de tamaño y se utilizaron para obtener información sobre su edad y las tasas de crecimiento. Los resultados mostraron que las colonias recolectadas tenían entre 6 y 17 años, con una tasa de crecimiento diametral entre 0,10 y 0,17 mm por año y una tasa de crecimiento lineal entre 14,97 y 15,75 mm por año. Además, se determinó información relativa a su biología reproductiva, como el número y diámetro de ovocitos por pólipo (PRF, ERF), y el esfuerzo reproductivo a nivel de colonia (PRE, ERE). Estos valores se compararon entre colonias de diferentes tamaños y en tres zonas dentro de las colonias: proximal, medial y distal. El mayor diámetro observado fue de 1.179 μm para ovocitos y 711,3 μm para quistes espermáticos. Ambos enfoques (crecimiento y reproducción) se correlacionaron, lo que indica que una determinada colonia grande de *A. murrayi* (~300 mm) podría tener aproximadamente 17 años y contener >7.000 ovocitos, de los cuales posiblemente alrededor de 2.000 ovocitos (~27 %) se generaría por año. (CAPITULO 4)

Las comparaciones entre plantas e invertebrados coloniales modulares sésiles ofrecen interesantes paralelismos entre sus planes corporales tras millones de años de evolución divergente. Entre estos paralelismos podría estar la existencia y distribución de la heterogeneidad intraindividual en los rasgos de los órganos, también denominada variabilidad subindividual. La variabilidad subindividual es cuantitativamente importante y tiene múltiples consecuencias para los individuos, las poblaciones y las comunidades de plantas, y también para sus animales consumidores. Pero, sin embargo, ¿podría ocurrir un proceso similar de variabilidad subindividual en las plumas de mar con una arquitectura modular similar a la de las plantas? En la literatura de invertebrados marinos se sabe poco sobre la presencia y magnitud de esta variabilidad en organismos modulares. Este estudio proporciona por primera vez una evaluación cuantitativa de la variabilidad subindividual en pennatuláceos, analizando ciertas características biométricas de estructuras reiteradas que presumiblemente tienen alguna función ecológica, y ofrece una primera comparación de niveles cuantitativos de variación subindividual entre plantas y plumas de mar. (CAPITULO 5)

Los pennatuláceos se han considerado principalmente especies cosmopolitas y profundas (Pérez *et al.* 2016), quizás porque se han registrado en todos los mares y océanos del mundo, desde aguas poco profundas hasta cerca de los 6.100 m de profundidad. Este extenso patrón de distribución puede ser consecuencia de la naturaleza biológica de estas especies (con un pedúnculo que produce una unión laxa con el sustrato) o, en ciertos casos, de identificaciones dudosas de especies erigidas sobre un único ejemplar. En el presente estudio tratamos de encontrar respuestas a preguntas sobre la distribución biogeográfica de las plumas de mar, incluidas las especies descritas más recientemente; tratamos de explorar la diversidad específica, la composición y las afinidades faunísticas entre las faunas de pennatuláceos delimitando *a priori* ecorregiones a lo largo de los océanos del mundo, proponiendo la necesidad de establecer nuevas delimitaciones de eco-

rregiones, teniendo en consideración cada piso batimétrico de forma independiente. Finalmente, retomaremos aquí el debate sobre el hipotético origen geográfico de los pennatuláceos (CAPITULO 6).

Contenido de la tesis

INTRODUCCIÓN	- 1 -
PENNATULACEOS. GENERALIDADES.....	- 1 -
I. Octocorales, Pennatuláceos.....	- 1 -
I.II Diversidad morfológica	- 5 -
I.III Anatomía interna	- 9 -
I.IV Los zooides	- 11 -
II. Importancia Ecológica de las plumas de mar	- 18 -
III. Objetivos	- 25 -
Referencias.....	- 28 -
CAPÍTULO PRIMERO	- 37 -
1 ESTUDIO FILOGENÉTICO	- 37 -
1.1 Introducción	- 39 -
1.2 Materiales y Métodos.....	- 43 -
1.2.1 Muestreo	- 43 -
1.2.2 Análisis moleculares.....	- 45 -
1.3 Resultados	- 50 -
1.3.1 Análisis filogenéticos.....	- 50 -
1.3.2 Análisis del árbol del tiempo	- 54 -
1.4 Discusión	- 56 -
1.4.1 Monofilia de las divergencias basales en pennatuláceos	- 56 -
1.4.2 Situación actual de las familias tradicionales	- 57 -
1.4.3 Estimación del tiempo de divergencia en pennatuláceos.....	- 61 -
1.5 Agradecimientos	- 64 -
1.6 Referencias.....	- 64 -
1.7 Material Suplementario.....	- 71 -
1.8 La filogenia de pennatuláceos en el momento actual.....	- 79 -
1.8.1 Marcadores moleculares	- 79 -

1.8.2 Clados	- 79 -
1.8.3 Notas sobre el análisis del Tiempo de Divergencia	- 83 -
CAPÍTULO SEGUNDO	- 87 -
2 ESTUDIO TAXONÓMICO.....	- 87 -
2.1 Introducción	- 89 -
2.2 Métodos	- 91 -
2.2.1 Muestreo	- 91 -
2.2.2 Estudio de morfología externa y SEM.....	- 97 -
2.2.3 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación	- 97 -
2.3 Resultados	- 99 -
2.3.1 Resurrección del género <i>Ptilella</i> Gray (1870)	- 99 -
2.3.2 Nueva especie <i>Ptilella grayi</i>	- 100 -
2.4 Discusión	- 109 -
2.4.1 Citas históricas de <i>Ptilella</i> y su especie tipo.....	- 109 -
2.4.2 Diagnósis de <i>Pennatula</i> (modificado de Williams 1995a: 126)	- 111 -
2.4.3 Comparación de las especies de <i>Ptilella</i>	- 113 -
2.4.4 Sobre la polifilética familia Pennatulidae y las relaciones familiares en el Clado II	- 118 -
2.5 Agradecimientos	- 120 -
2.6 Referencias.....	- 121 -
2.7 Material suplementario	- 126 -
CAPÍTULO TERCERO	- 133 -
3 ESTUDIO DE VARIABILIDAD.....	- 133 -
3.1 Introducción	- 135 -
3.2 Materiales y métodos	- 138 -
3.2.1 Muestreo	- 138 -
3.2.2 Procesamiento del material.....	- 140 -
3.2.3 Análisis de los datos	- 141 -
3.3 Resultados.....	- 143 -
3.3.1 Variación en <i>Ptilella grayi</i>	- 143 -
3.3.2 Variación en especies de <i>Ptilella</i> y <i>Pennatula</i>	- 144 -
3.3.3 Comparación entre plumas de mar y plantas.....	- 147 -

3.4	Discusión	- 147 -
3.4.1	Distribución espacial de la variabilidad del rasgo	- 150 -
3.4.2	Variabilidades en plumas de mar y plantas	- 151 -
3.4.3	Conclusiones.....	- 152 -
3.5	Agradecimientos	- 153 -
3.6	Referencias.....	- 154 -
3.7	Material suplementario	- 159 -
CAPÍTULO CUARTO.....		- 163 -
4	ESTUDIO DE REPRODUCCIÓN.....	- 163 -
4.1	Introducción	- 165 -
4.2	Materiales y Métodos.....	- 168 -
4.2.1	Muestreo y determinación del sexo	- 168 -
4.2.2	Variación intracolonia	- 170 -
4.2.3	Tamaño de gametos	- 170 -
4.2.4	Distribución de frecuencias de los diámetros de gametos	- 172 -
4.2.5	Fecundidad.....	- 172 -
4.3	Resultados.....	- 173 -
4.3.1	Diferencias entre clases de tamaño de colonias.....	- 174 -
4.3.2	Variación intracolonia	- 175 -
4.3.3	Tamaño de gametos	- 175 -
4.3.4	Distribución de frecuencias de tamaños	- 177 -
4.4	Discusión	- 186 -
4.4.1	Influencia del tamaño de colonia.....	- 187 -
4.4.2	Diámetro de ovocitos.....	- 188 -
4.4.3	Variación intracolonia	- 190 -
4.4.4	Distribución de frecuencias de diámetros de ovocitos.....	- 191 -
4.4.4	Fecundidad.....	- 192 -
4.5	Agradecimientos	- 193 -
4.6	Referencias.....	- 194 -
4.7	Material Suplementario.....	- 199 -
CAPÍTULO QUINTO.....		- 201 -
5	ESTUDIO DE REPRODUCCIÓN ACOPLADO A CRECIMIENTO.....	- 201 -

5.1	Introducción	- 203 -
5.2	Materiales y Métodos.....	- 206 -
5.2.1	Muestreo y determinación del sexo	- 206 -
5.2.2	Variación intracolonia	- 208 -
5.2.3	Conteo de anillos y estimaciones de la tasa de crecimiento	- 210 -
5.2.4	Rasgos reproductivos.....	- 211 -
5.2.5	Análisis estadísticos.....	- 213 -
5.3	Resultados	- 213 -
5.3.1	Clases de tamaño y variación intracolonia	- 214 -
5.3.2	Anillos de crecimiento y edad	- 214 -
5.3.3	Tasas de crecimiento y modelo predictivo	- 215 -
5.3.4	Histología y estados de desarrollo	- 216 -
5.3.5	Distribución de frecuencias de diámetro	- 220 -
5.3.6	Estimaciones del esfuerzo reproductivo	- 223 -
5.4	Discusión	- 224 -
5.4.1	Longevidad y tasas de crecimiento.....	- 225 -
5.4.2	Biología reproductiva	- 227 -
5.4.3	Relacionando crecimiento y reproducción	- 231 -
5.5	Agradecimientos	- 232 -
5.6	Referencias.....	- 232 -
5.7	Material suplementario	- 239 -
CAPÍTULO SEXTO		- 243 -
6	ESTUDIO BIOGEOGRÁFICO	- 243 -
6.1	Introducción	- 245 -
6.2	Materiales y métodos	- 249 -
6.2.1	Ecoregiones y zonación batimétrica	- 250 -
6.2.2	Estudio biogeográfico.....	- 251 -
6.3	Resultados.....	- 253 -
6.3.1	Ecoregiones y distribución batimétrica.....	- 254 -
6.3.2	Ecoregiones y distribución batimétrica de las especies de pennatuláceos.....	- 257 -
6.3.3	Composición faunística	- 260 -

6.3.4 Afinidad faunística entre ecorregiones	- 262 -
6.3.5 Afinidad entre géneros basada en la distribución geográfica y batimétrica..	- 264 -
6.4 Discusión	- 265 -
6.5 Agradecimientos	- 271 -
6.6 Referencias.....	- 271 -
6.7 Material Suplementario.....	- 279 -
7 CONSIDERACIONES FINALES	- 289 -
8 CONCLUSIONES	- 295 -

INTRODUCCIÓN

PENNATULACEOS. GENERALIDADES

I. | Octocorales, Pennatuláceos

Entre las clasificaciones de octocorales (Anthozoa: Octocorallia) más relevantes del siglo XX destaca la propuesta por Bayer (1981) (modificada de Hickson 1930) en la cual diferencia tres grandes agrupaciones de corales en base a sus características morfológicas: 1) los corales azules (O. Helioporacea); 2) las gorgonias, estolonados y corales blandos (O. Alcyonacea); y 3) los pennatuláceos o plumas de mar (O. Pennatulacea) (Fabricius & Alderslade 2001, Daly *et al.* 2007, Pérez *et al.* 2016). Los octocorales pueden presentar una

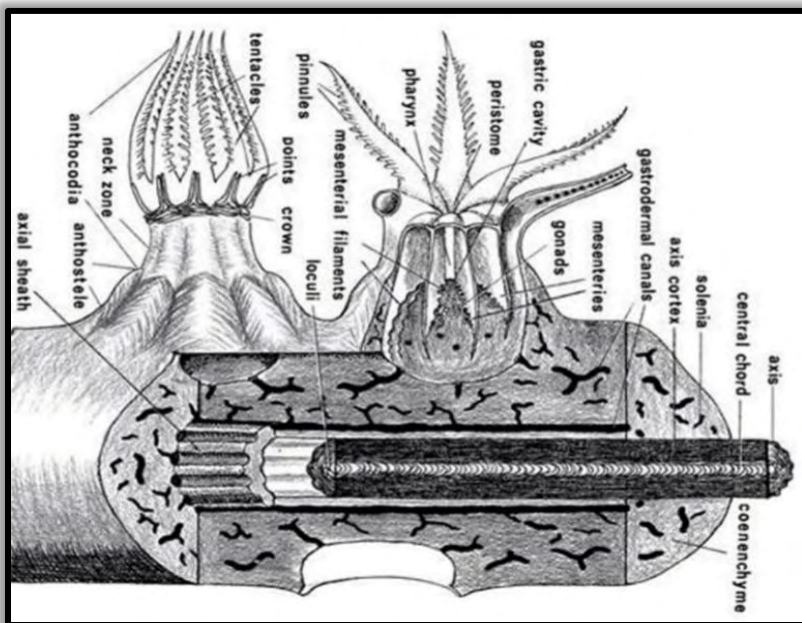


Figura I.1. Esquema de una porción de antozoo octocoralarario (gorgonia), mostrando dos pólipos. El corte sagital muestra la cavidad gastrovascular dividida por los mesenterios (tomado de Bayer *et al.* 1983).

organización colonial con multitud de formas (estoloniales, membranosas, arborescentes, con forma de látigo o con forma de pluma), y rara vez estar presentes como organismos individuales, formados por un único pólipo, (Hickson 1909, Bayer 1955b, 1956). Entre las principales características de los octocorales está la presencia invariante del antopólipo octómero (Figura I.1), que muestra 8 tentáculos y cuya cavidad gastrovascular está subdividida por 8 mesenterios en disposición radial (Haeckel 1866, Kükenthal 1925). Este pólipo se encarga de la alimentación y (si no hay otro pólipo que lo asuma) la reproducción de la colonia (Bayer *et al.* 1983, Fautin & Mariscal 1991).

A pesar de poseer una anatomía muy diferente a la de otros octocorales, Berntson *et al.* (1999, 2001), usando marcadores que más tarde se comprobarían poco adecuados para las filogenias de pennatuláceos (ADNr *18S* y ARNr *18S*), reunió por primera vez en una filogenia molecular las escasas secuencias disponibles de pennatuláceos. Sin embargo, los pennatuláceos se mostraban aquí como una agrupación parafilética, emplazando a *Umbellula* sp. junto a otros octocorales dimórficos, como *Dendrobrachia*, lejos de otras secuencias de pennatuláceos.

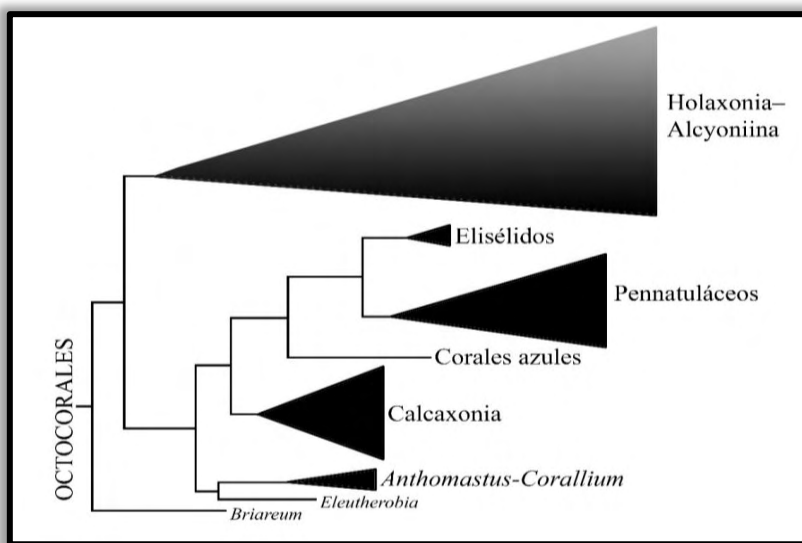


Figura I.2. Filogenia de los octocorales (adaptada de McFadden *et al.* 2006).

Las posteriores propuestas filogenéticas, basadas en marcadores, como *ND2* y *msh1* (*mtMutS*, en adelante), consiguieron reconocer al conjunto de pennatuláceos disponibles en una agrupación monofilética con altos valores de soporte. Entre ellas, una de las primeras y más trascendentes fue la propuesta filogenética para octocorales realizada por McFadden *et al.* (2006), en la que no sólo agrupó a los pennatuláceos sólidamente, sino que además mostró a los elisélidos como grupo hermano de los pennatuláceos (Fig. 1.2). En ella además podemos ver que los corales blandos, como *Anthomastus*, considerados el tradicional grupo hermano de las plumas de mar en base a su similitud morfológica con veretílidos (ver abajo), aparecen más alejados y relacionados con *Corallium*.

En la presente tesis nos centraremos exclusivamente en el grupo de los pennatuláceos, también conocidos como plumas de mar (Octocorallia: Pennatulacea). En esta sección, como su nombre indica, introduciremos los aspectos generales más relevantes y ofreceremos una visión amplia de sus características morfológicas, su diversidad de formas coloniales, su biología interna, los hábitats que conforman y las relaciones ecológicas que establecen con su entorno.

1.1 ¿Qué son las plumas de mar?

Entre los cnidarios antozoos, los pennatuláceos son un grupo de octocorales coloniales que, al contrario del resto de corales fijados en su mayoría a fondos rocosos, habitan sobre fondos arenosos o fangosos, anclados al mismo a través de su exclusivo pedúnculo muscular (Tyler *et al.* 1995, Hughes 1998, Greathead *et al.* 2007). Particularidades como esta les han servido para ser reconocidos desde la edad media (Rondelet 1554, Rumphius 1705). En la historia de los octocorales fueron prontamente diferenciados del resto ya desde los primeros intentos de clasificación (Herklots 1858, Kölliker 1872, Hickson 1894, Kükenthal 1915).

Los pennatuláceos son organismos bentónicos, cuya colonia está parcialmente enterrada en el sedimento (pedúnculo), y que permanecen en posición más o menos vertical con la parte de la colonia que porta los autozooides (raquis) sobre el pedúnculo. Muchos de ellos poseen un aspecto similar a una pluma clavada en la arena, donde las laminillas portarían los autozooides (hojas polipíferas) de ahí **su nombre “sea pen”** (Williams 1990, 1995), otros de morfología más alargada **reciben el nombre de “látigos de mar”**. Las colonias de pennatuláceos, aunque se sitúen de forma relativamente distantes entre ellas, pueden alcanzar densas poblaciones, modificando el frecuentemente empobrecido paisaje característico de los fondos blandos, y enriqueciendo la diversidad local al facilitar la ralentización de las partículas en suspensión y frecuentemente su sedimentación, así como el establecimiento de otros organismos (peces, cangrejos, camarones, etc.) que viven relacionados con ellas, y que constituyen parte de su rica fauna asociada (Tyler *et al.* 1995, Baillon *et al.* 2012, Clippele *et al.* 2015).

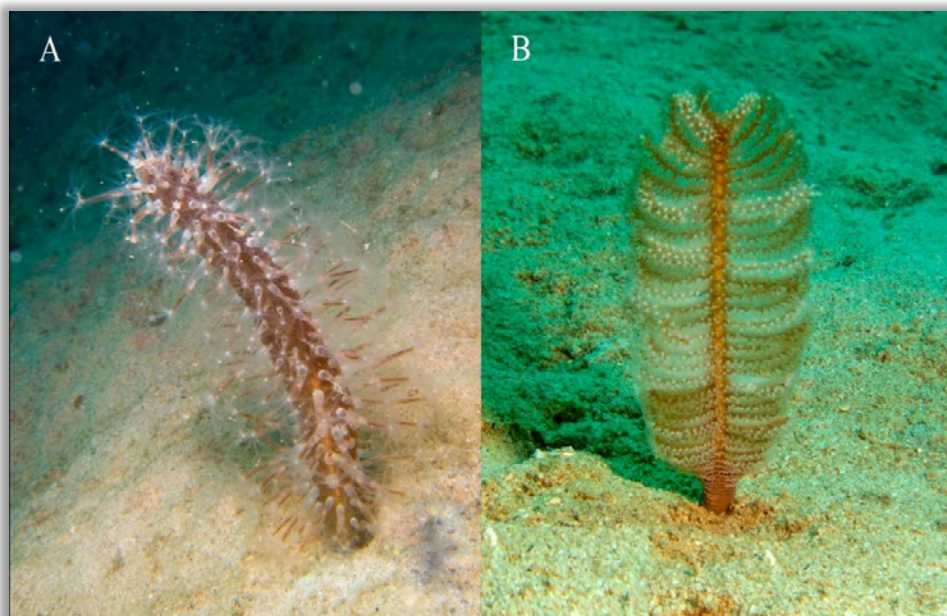


Figura I.3. Dos morfologías de plumas de mar representantes de los tradicionales subórdenes Sessiliflorae (imagen de la izquierda) y Subselliiflorae (imagen de la derecha). A, veretílido (*Cavernulina* sp.?); B, *Virgularia* sp. Ambas imágenes propiedad de Chaloklum Diving (CC BY-SA 4.0).

Dentro del Orden Pennatulacea, a pesar de ser un grupo relativamente pequeño (algo más de 200 especies), podemos observar multitud de formas y particularidades morfológicas, por lo que a la hora de hacer agrupaciones taxonómicas (sobre todo supragenéricas), los diferentes autores a lo largo de la historia han puesto de manifiesto la dificultad de este cometido (Hickson 1916).

Una de las clasificaciones de pennatuláceos más relevantes en la literatura especializada fue propuesta por Kükenthal (1914, 1915). En ella se agrupa a los pennatuláceos en dos grandes subórdenes: los Sessiliflorae (donde se incluyen las especies con autozoides emplazados directamente sobre la pared del raquis) y los Subselliflorae (especies con autozoides emplazados en crestas elevadas u hojas polipíferas) (Figura I.3). Dentro de estos subórdenes, los pennatuláceos se organizan en diferentes familias y géneros. Esta clasificación ha sido usada hasta hace unas décadas, aunque los términos Sessiliflorae/Subselliflorae siguen apareciendo en algunos estudios recientes (Williams 1990, Abdelsalam 2014). Posteriores trabajos morfológicos, sin embargo, dejaron entrever dudas sobre estas agrupaciones y optaron por un simple listado de las familias y géneros, sin considerar agrupaciones a nivel superior (Williams 1995).

En los últimos años, la incorporación de los métodos moleculares en las reconstrucciones filogenéticas, como en la presente tesis, ha dado un vuelco a estas categorías suprafamiliares (McFadden *et al.* 2006, García-Cárdenas *et al.* 2020). Actualmente, los pennatuláceos se agrupan en 16 familias, 41 géneros y unas 221 especies, distribuidos por todos los océanos, desde aguas someras hasta grandes profundidades superiores a más 6.000 m (Williams 2011, 2015, López-González & Drewery 2022).

I.11 Diversidad morfológica

Observando la colonia de un pennatuláceo podemos diferenciar dos zonas: la zona basal o pedúnculo, que sirve como sistema de anclaje al sedimento, y la zona

distal, llamada raquis o polipario, que contiene los pólipos o individuos de la colonia (Tixier-Durivault 1965), que pueden aparecer de forma independientes sobre el raquis o agrupados en las hojas polipíferas (Figura I.4).

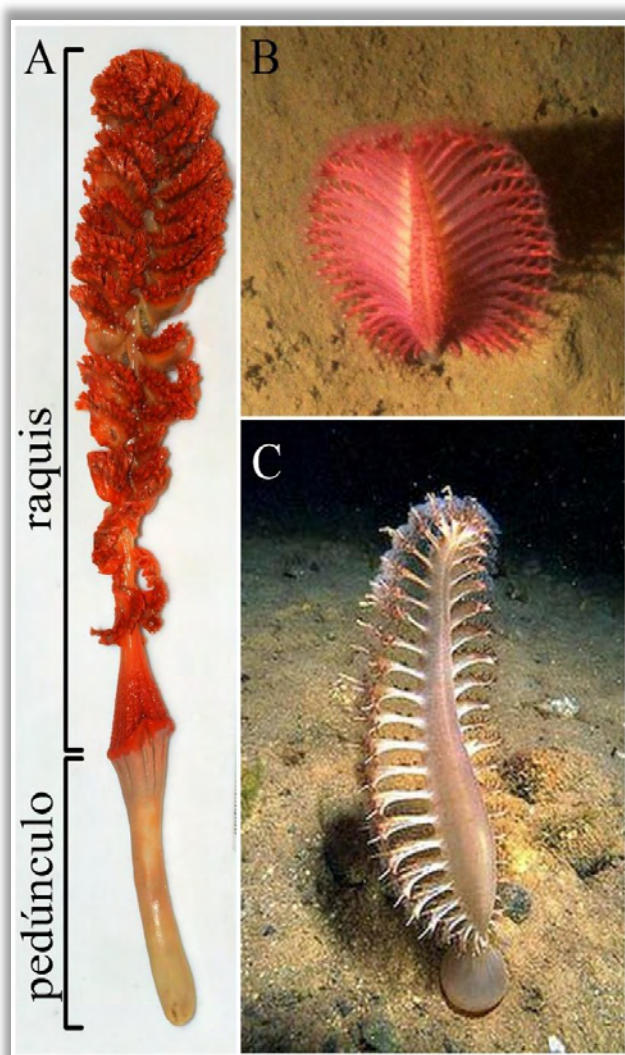


Figura I.4. Fotos de plumas de mar. A, colonia recolectada de un pennatuláceo mostrando el raquis y el pedúnculo. B-C, colonias *in situ* (B, Dann Blackwood and Page Valentine of the USGS; C, Pino Bucca. CC-BY-SA-3.0.).

Según algunos autores, el pedúnculo de los pennatuláceos se correspondería con la parte basal (antostele) del pólipo fundador u oozooide (ver abajo), y suele encontrarse parcial o completamente enterrado en el sustrato, constituyendo la parte estéril de la colonia (Wilson 1883, Hickson 1916) (Figura I.5).

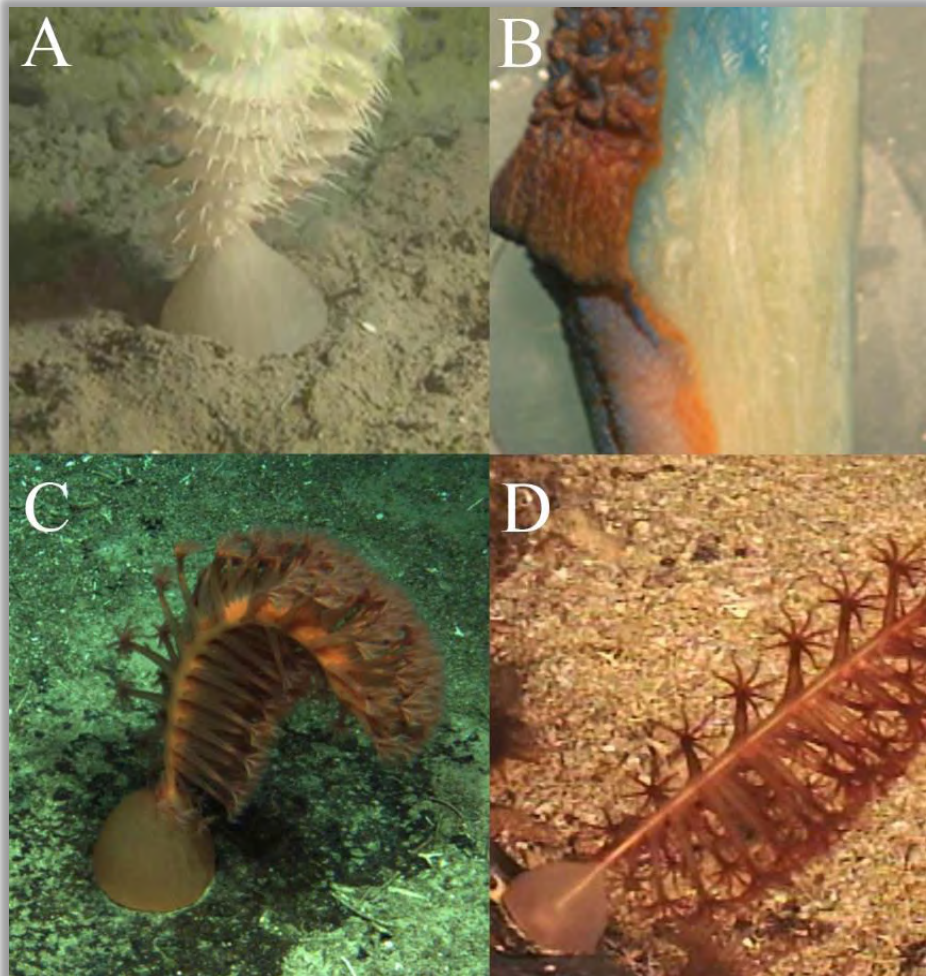


Figura I.5. Tipos de pedúnculos (raquis omitido). A, Imagen de *Pteroeides spinosum in situ* (INDEMARES-Cañón de Creus, 2009), con el pedúnculo semienterrado; B, Corte longitudinal del límite raquis (parte superior)-pedúnculo (parte inferior), donde se aprecia el anillo muscular con reborde; C, *Anthoptilum gowlettholmesae* unido a una superficie de roca desnuda; D, un pennatuláceo sobre un sustrato rocoso en Hawái, se aprecia el eje a través del tejido traslúcido del eje y pedúnculo (C y D tomadas de Williams & Alderslade 2011).

Aunque no sea un cambio morfológico abrupto en las características del antostele respecto del antocodio (o raquis) del oozooide, el pedúnculo **no** contiene ningún otro tipo de zooide. En otras palabras, la presencia de zooides indica que esa zona sigue formando parte del raquis y no del pedúnculo [véase lo que se debe considerar pedúnculo en *Umbellula* (Fig. I.5C), debido a la presencia de sifonozoooides, como también ocurre en Chunellidae (Hickson 1907:13, Hickson 1916)]. En muchas especies, el cambio entre raquis y pedúnculo (Fig. I.5B) queda definido tanto en superficie como en el interior (por ejemplo, con escleritos diferentes en cada parte) (García-Cárdenas *et al.* 2019).

El raquis o polipario es la zona distal de la colonia, corresponde con el antocodio del oozooide, y donde se encuentran los pólipos o zooides. La distribución de los zooides determina la simetría y forma de la colonia. Un raquis radialmente simétrico presenta los zooides organizados simétricamente sobre líneas o planos radiales originados desde un centro o eje común. Las colonias con simetría radial suelen mostrar una superficie esférica, con forma de disco, cúpula o cilíndrica, como en veretílidos (López-González *et al.* 2000) (Fig. I.6). La mayoría de especies de pennatuláceos, sin embargo, exhiben un raquis bilateralmente simétrico, con estructuras o apéndices desde el cuerpo central a cada lado de un plano vertical medio (dispuestos alternos u opuestos). Estas colonias muestran por tanto un lado derecho y otro izquierdo, además de una superficie dorsal y una ventral (Hickson 1918, Bayer 1956, Williams 1995). En la parte ventral se sitúa la mayoría de tipos de zooides (especialmente determinado por los pólipos de alimentación, autozooides), siendo más escasos (principalmente sifonozoooides) o ausentes en la parte dorsal (Hickson 1916, 1918, López-González *et al.* 2000, López-González & Williams 2011, García-Cárdenas *et al.* 2019).

Los pennatuláceos exhiben una amplia diversidad de formas coloniales (Fig. I.6, I.7), habiendo sido considerado durante mucho tiempo un carácter útil para agruparlos (Kükenthal 1915, Hickson 1930, Bayer 1956, Williams 1995). Así, entre las formas coloniales destacan las formas cilíndricas, claviformes o capitadas de

los veretílidos (autozooides distribuidos aleatoriamente), la forma cordada o reniforme de *Renilla* (raquis aplanado dorso-ventralmente), la forma alargada-flageliforme de Protoptilidae, Halipteridae o Funiculinidae, o la típica forma de pluma de pennatúlidos y virguláridos, los primeros con hojas polipíferas más desarrolladas, y los segundos con un raquis más alargado, esbelto, de menor diámetro y hojas polipíferas con escaso desarrollo en general; y finalmente las colonias con umbela terminal de grandes autozooides (o umbelluliformes) (Williams 2011).

I.III Anatomía interna

En general, la colonia de pennatuláceos se encuentra soportada por un eje interior con diferente grado de calcificación (rara vez ausente), cuyas características (como su combinación de parte orgánica e inorgánica, principalmente fosfato y carbonato de lima) ya fueron empleadas para hacer agrupaciones entre plumas de mar (ver *Virgularia* y *Pennatula* **dentro de “Asteroideal Zoophytes” en Dalyell 1848: 174**). Posteriores estudios fueron ampliado nuestro conocimiento sobre las características del eje de pennatuláceos (véase Kölliker 1872, Hickson 1909, 1916, Bayer 1955a, 1956, Tixier-Durivault 1965, entre otros), entre los que podemos destacar el estudio de Bayer (1955a, 1956), donde la similitud estructural entre los ejes de algunos pennatuláceos (*Stylatula*, *Virgularia*) y algunas gorgonias (Ellisellidae e Isididae), sugerían ciertas relaciones entre ambos grupos (hasta entonces nunca planteadas) y que fueron confirmadas posteriormente por estudios moleculares (McFadden *et al.* 2006).

Además del eje, muchas de las especies de pennatuláceos poseen elementos esqueléticos frecuentemente microscópicos y calcáreos llamados escleritos (Bayer

et al. 1983). Al contrario que en el resto de octocorales, los pennatuláceos presentan una reducida variedad de formas de escleritos (Fabricius & Alderslade 2001)

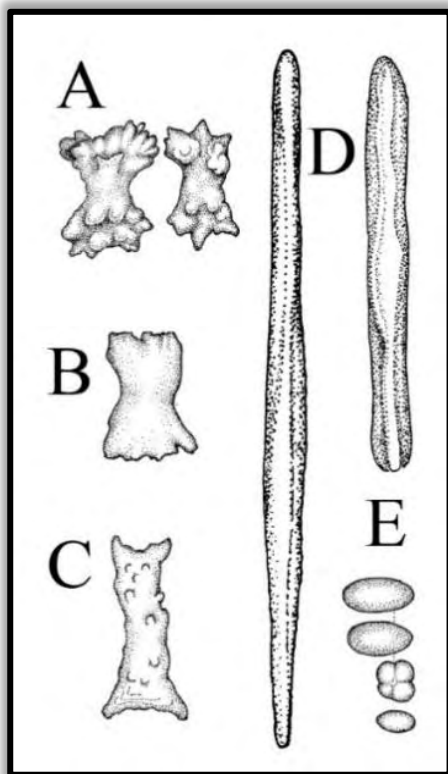


Figura 1.7. Tipos de escleritos en pennatuláceos. A-C, cabrestante (*capstan*); D, trialado (*three-flanged sclerite*), E) minúsculos *plats* u *ovals* presente en la mayoría de pennatuláceos.

A, *Lituaría hicksoni*, B, *Veretillum* sp., C, *Cavernulina darwini*, D, *Funiculina quadrangularis* (Izda.), *Renilla amethystina* (Dcha.) (modificada de Williams 1995).

(Figura 1.7).

Básicamente se pueden distinguir dos tipos principales de escleritos: el tipo “cabrestante” (*capstan*) y el tipo “trialado”. El primero (Fig. 1.6 A-C) es muy poco frecuente, descrito en algunos veretílidos, observado inicialmente en *Lituaría*, y hallado habitualmente en alcionáceos (por lo que fue utilizado como un carácter

que soportaba al género *Lituaria* como uno de los géneros más primitivos, ver Hickson 1916:19). El segundo tipo (Fig. I.6D) está presente en la mayoría de pennatuláceos, y ausente en alcionáceos, es el tipo “trialado” (*three-flanged*), que puede tener forma de aguja (*needle*) o de huso (*spindle*), con tres alas (*flanges*) o crestas (*ridges*) que lo recorren de una punta a otra a lo largo de una línea que gira ligeramente en espiral en relación con la línea axial de la espícula (Hickson 1916:19). Si las espículas trialadas son cortas y gruesas se llaman “varillas trialadas” (*three-flanges rods*), como en *Renilla* (Fig. I.7 D, dcha.), o algo más cortas como en *Cavernularia*, se conocen como varillas o *rods* (López-González *et al.* 2000). En algunas especies de *Kophobelemnon*, los extremos de algunas espículas trialadas pueden ser verrugosos, llamadas “varillas rígidas” o *ridged rods* (Hickson 1916). Otro tipo de escleritos son las llamadas “placas aplanadas” (*flattened plate*), que pueden estar subdivididas en dos, tres o cuatro partes y que es frecuente en *Veretillum*, *Cavernularia* o *Sclerobelemnon* (Williams 1995).

Finalmente, suele existir un número muy pequeño de corpúsculos calcáreos ovals o de circunferencia irregular, llamados “óvalos” (*ovals*) (Fig. I.7E), pero que no son considerados caracteres de valor para propuestas de clasificación (Hickson 1909, 1916, Williams 1995).

La coloración de muchos pennatuláceos se debe principalmente a la coloración de sus escleritos. Por ejemplo, algunas especies de coloración blanquecina exhiben escleritos incoloros, mientras que otras con un característico color rojo presentan escleritos de color rojizo (García-Cárdenas *et al.* 2019).

I.IV Los zooides

Los pennatuláceos, al pertenecer a la Clase Anthozoa, sólo presentan fase pólipo (es decir, no existen en estado medusa) siendo en estado colonial (formación de pólipos o zooides secundarios a partir del zooide inicial). Una de las características que hacen a los pennatuláceos ser considerados las colonias más complejas y

evolucionadas de los octocorales, es la especialización funcional, estructural y morfológica de sus zooides, no observada a tal nivel en ningún otro antozoo (Bayer 1956). Se han descrito hasta cinco tipos distintos de zooides en pennatuláceos (Williams *et al.* 2012).

El Oozooide

El pólipo primario u oozooide, también conocido como pólipo fundador o axial (Williams 1990: 34, Bayer *et al.* 1983: 9), surge tras la fijación y metamorfosis de la larva plánula (Figura I.8). El oozooide es de pequeño tamaño y con la parte inferior anclada al sustrato mediante un incipiente pedúnculo (Williams 1997).

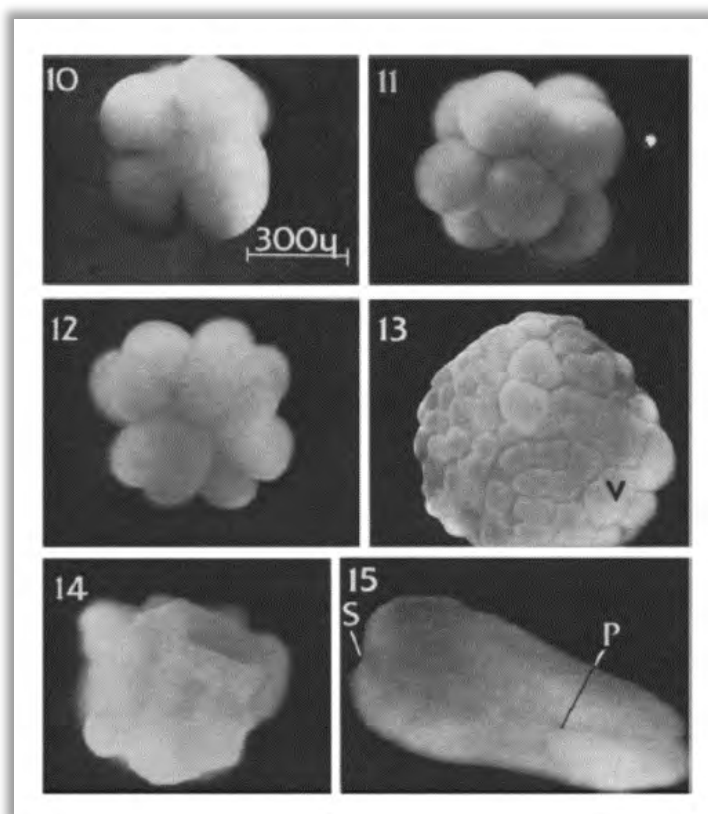


Figura I.8. Desarrollo larval de *Ptilosarcus guerneyi* (V, polo vegetal de la blástula; S, estomodeo y P, septo o tabique de la larva libre nadadora) (Imagen tomada de Chia & Crawford 1973)

En las colonias adultas, el oozooide suele quedar disgregado entre pedúnculo (antostele) y raquis (antocodio) (Williams 1990, 1995, Breddy & Cortés 2008, Williams *et al.* 2012). En algunas especies, el antocodio del oozooide podría permanecer de forma residual en el extremo más distal de la colonia como un “**pólipo terminal**”, por ejemplo, en *Umbellula* (Willemoes-Suhm 1875, López-González & Williams 2011), *Renilla* (Wilson 1883), o *Pennatula* (Jungersen 1888).

El autozooide

El autozooide es el pólipo prototipo de octocorales (8 tentáculos pinnados y 8 mesenterios con su faringe aplanada, ver Fig. 1.1), y el pólipo secundario de mayor tamaño en la colonia (Bayer 1955b, Fautin & Mariscal 1991, Williams *et al.* 2012). El autozooide puede contener cáliz espicular (o carnosos) o emerger directamente de la superficie del raquis sin estas formaciones (Figura 1.9).

El cáliz es la terminación del antostele del oozooide. Está normalmente engrosado y lobulado en los estadios tempranos de la retracción del antocodio, y se vuelve contraído y rígido cuando éste está completamente retraído. El cáliz puede estar armado con grandes escleritos que sobresalen, llamados dientes del cáliz, por ejemplo, *Gillibelemnon octodentatum* debe su nombre a sus característicos 8 dientes del cáliz (López-González & Williams 2002) o las diferentes especies de *Pennatula*, *Ptilella* o *Alloptilella* (García-Cárdenas *et al.* 2019, Li *et al.* 2021). Por tanto, los únicos zooides que pueden presentar verdadero cáliz son los autozoooides (Fig. 1.9), y no todas las especies de pennatuláceos presentan cálices (Hickson 1916), como puede observarse en *Anthoptilum* (Fig. 1.9 A-B). El antostele del autozooide puede permanecer libre (Fig. 1.9 A-B) o estar fusionado con los antosteles de autozoooides adyacentes formando las hojas polipíferas (Fig. 1.9 C-E) (Hickson 1916, García-Cárdenas *et al.* 2019).

La función de los autozoooides incluye la detección, captura y digestión de las partículas alimenticias, detección de los cambios físico-químicos del entorno,

así como la generación y emisión de gametos (Williams 1990, Williams *et al.* 2012).

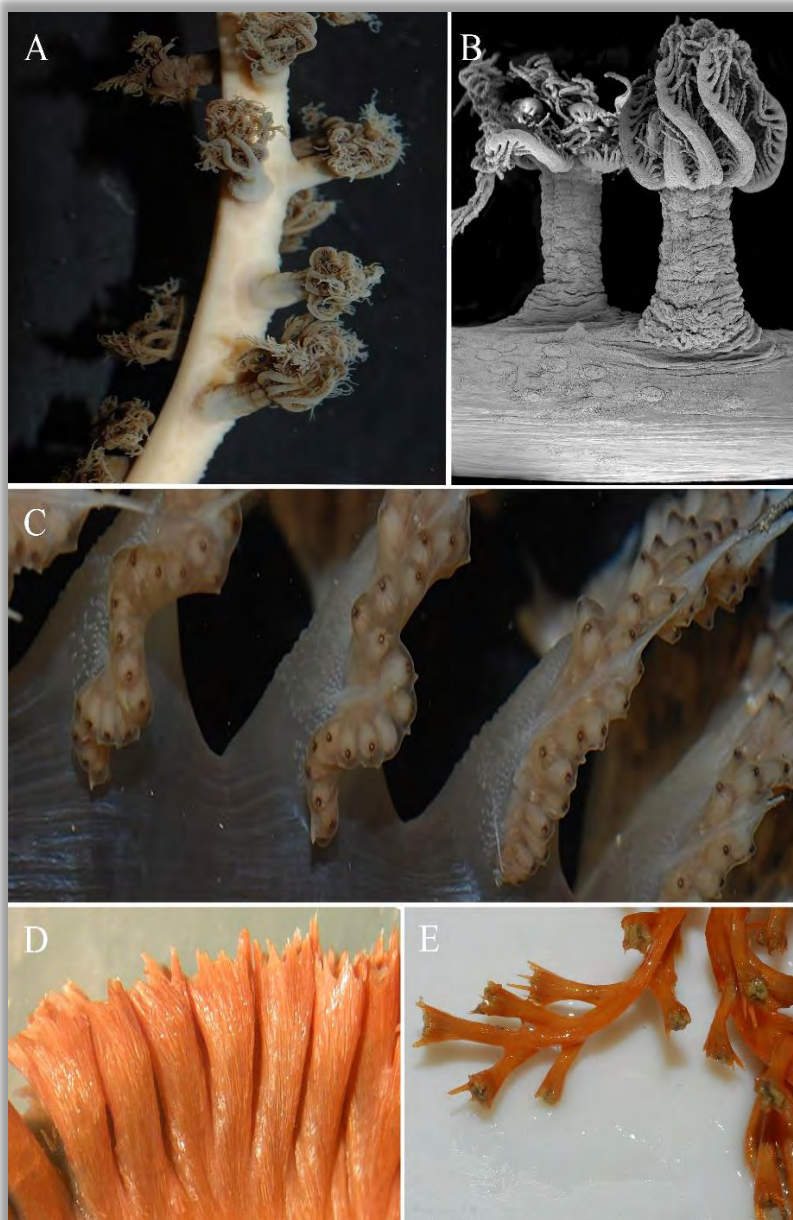


Figura I.9. Autozooides de pennatuláceos. A-B, *Anthoptilum murrayi*, C, *Pteroeides spinosum*; D, *Ptilella grandis*; E, *Ptilella bellissima*.

El sifonozooide

El sifonozooide se define como el pólipos con sifonoglifos fuertemente desarrollados y tentáculos reducidos o ausentes, en general con filamentos mesentéricos reducidos y mucho más pequeños que el autozooide (Bayer *et al.* 1983) (Figura I.10 A-B). Nunca portan gametos en pennatuláceos (Hickson 1916: 10), y en la gran mayoría de taxones no están protegido por escleritos (Williams *et al.* 2012), aunque en algunas especies como *Pennatula* pueden tener un abanico de escleritos (Altuna 2015). Existe poca información en la bibliografía acerca de las funciones que podrían desempeñar los sifonozooides, aunque la más relevante parece estar relacionada con producir corrientes inhalantes de agua en la colonia para generar presión hidrostática (Hickson 1916, Williams *et al.* 2012).

El mesozooide

El mesozooide **fue descrito por Hickson (1916: 11) al referirse a “ciertos zooides** que sólo aparecen en determinadas especies de pennatuláceos, y son estructuralmente diferentes a autozooides y sifonozooides, por presentar una complejidad y tamaño intermedio entre ambos, tienen escleritos pero no portan tentáculos, y sólo han sido observados en unas pocas especies de *Pennatula* (Hickson 1916, Williams 1990), en varias especies de *Pteroelides* (Niedermeyer 1911, 1912, Kükenenthal 1909, Brafield 1969) o en *Renilla* (Jungersen 1888), entre otros (Williams *et al.* 2012). Actualmente, disponemos de poca información acerca de la función que desempeñan los mesozooides, aunque ciertos autores sugieren que la principal función sería la de permitir el paso de las corrientes exhalantes, facilitando la expulsión de agua (Hickson 1916, 1937, Williams 1990, Williams *et al.* 2012).

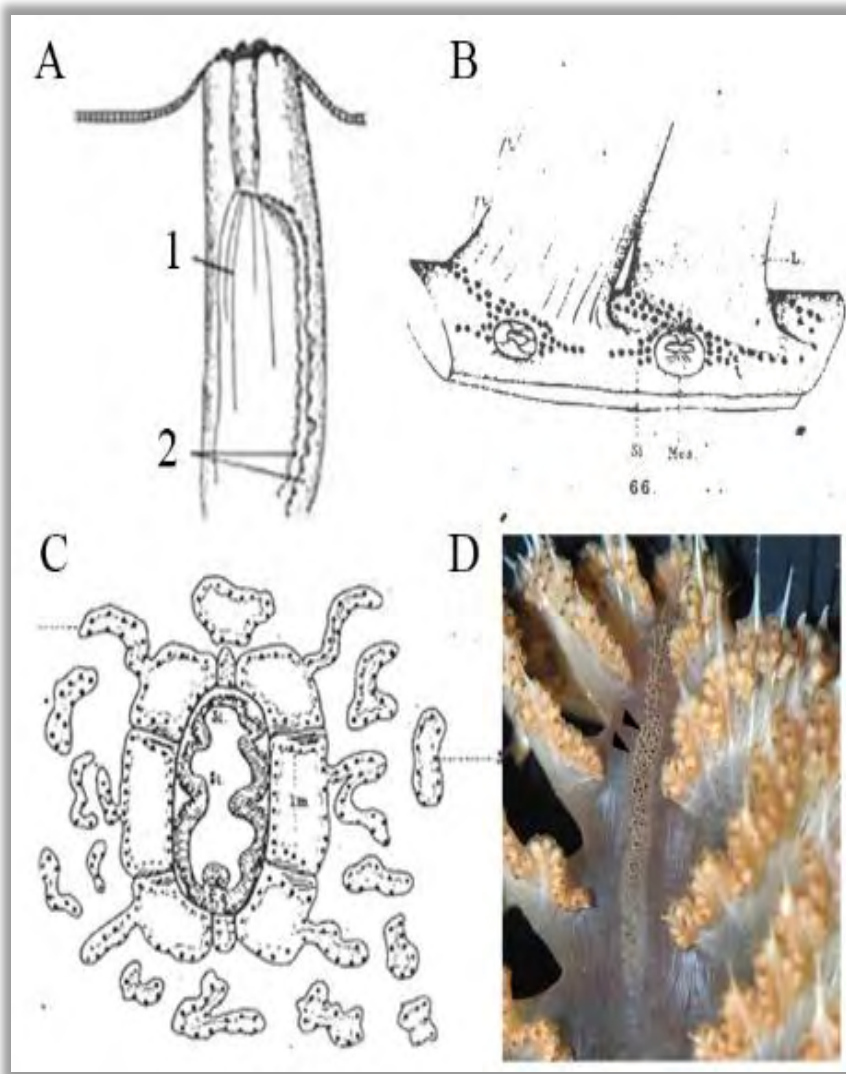


Figura 1.10. Sifonozooide y mesozooide. A, Representación esquemática de un sifonozooide: (1) mesenterios con escaso desarrollo; (2) mesenterio dorsal asulcal (tomado de Fabricius & Alderslade 2001); B, representación esquemática de sifonozooi-des (Si.) y mesozooi-des (Mes.) en la base de dos autozooi-des de *Pennatula murrayi* (tomado de Hickson 1916); C, esquema de una sección transversal de un mesozooide de *Pteroeides malayense*. El mesozooide aparece rodeado del sistema lacunar cons-tituido por la solenia, mostrando bandas musculares en ambas caras de los mesen-terios laterales (*l.m.*), y un pequeño sifonoglifo imperfectamente desarrollado (*si.*) en el amplio estomodeo (*St.*); D, fotografía de la zona distal de la cara ventral del raquis de *Pteroeides spinosum* mostrando una agrupación de extraños zooi-des considerados *Zooi-dstreifen der Rhachis* por Niedermeyer (1911), mesozooi-des por Hickson (1916) y sifonozooi-des por Brafield (1969), mesozooi-des según Williams *et al.* (2012).

El acrozooide

El acrozooide es el último zooide descrito, sólo observado en dos especies de *Pteroeides* (Figura I.11) (Williams *et al.* 2012). Presenta tentáculos, faringe, cavidad gástrica pero sin extenderse al resto de la colonia, filamentos mesentéricos, musculatura longitudinal y escleritos. La función que desempeñan los acrozooides aún no es conocida, aunque se especula que pueda estar relacionada con la reproducción asexual, constituyendo estructuras vegetativas originadas por gemación directamente del raquis (Williams *et al.* 2012).

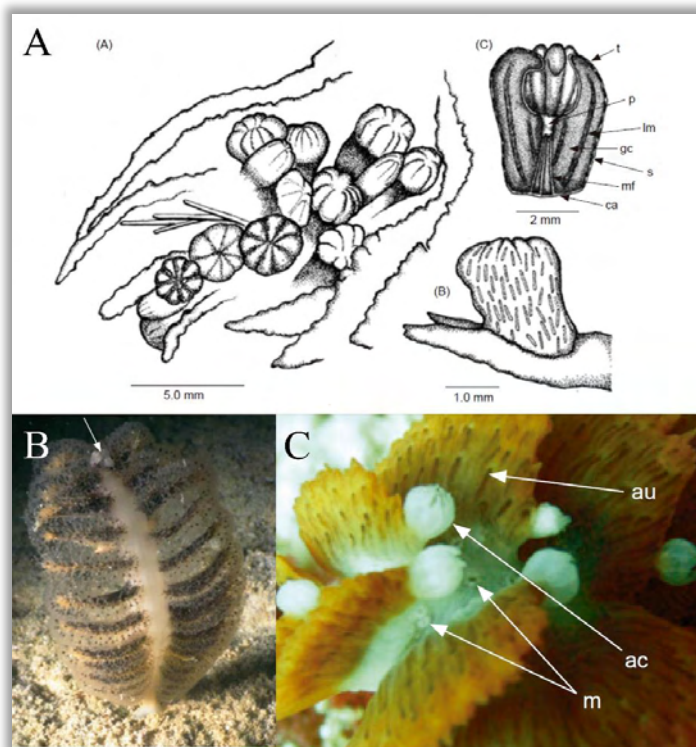


Figura I.11. Acrozoooides de *Pteroeides* sp. A, Representación esquemática de un clúster de 14 acrozoooides entre las hojas polipíferas más distales del raquis (A); sección longitudinal mostrando la anatomía interna del acrozooide (B): *ca*, área de contacto con la hoja polipífera; *gc*, cavidad gástrica; *lm*, musculatura longitudinal; *mf*, filamento mesentérico; *p*, faringe; *s*, escleritos; *t*, tentáculo; disposición de los escleritos en la pared del acrozooide (C). B-C, Fotografías en el medio mostrando los acrozoooides de *Pteroeides* sp.: *m*, mesozoooides; *ac*, acrozooide; *au*, autozooide (tomadas de Williams *et al.* 2012).

II. | Importancia Ecológica de las plumas de mar

Las plumas de mar presentan un elevado valor ecológico por constituir la base de ecosistemas complejos en el fondo blando, con una rica fauna asociada, ausente o muy reducida en los alrededores, ayudando a incrementar la biodiversidad de la zona (Hughes 1998, Curd 2010).

Plataformas biológicas. - La superficie del fondo marino es principalmente uniforme, con sedimentos fangosos, corrientes suaves, ausencia de gradiente térmico y lumínico, y en general, pocas partículas de alimentos (Carney 2005). Tales condiciones limitantes, reducen el número de organismos que pueden prosperar en él (Beaulieu 2001). Los pennatuláceos se encuentran entre los organismos bentónicos marinos de mayor tamaño capaces de prosperar en tales condiciones y constituyen la base para la formación de hábitats complejos sobre fondo blando (Mortensen *et al.* 2008), ya que actúan como plataformas biológicas estables y aisladas, sobre las cuales pueden establecerse y proliferar otros organismos más pequeños

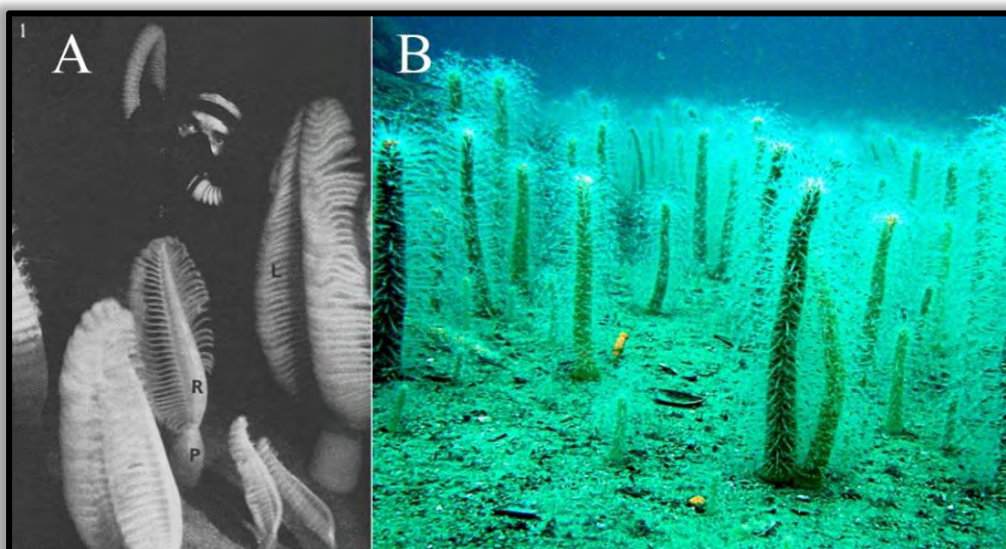


Figura I.12. Fotos en buceos. A, Pradera de *Ptilosarcus gurnei* (tomada de Chia & Crawford 1973); B, pradera de *Veretillum cynomorium*.

(Buhl-Mortensen *et al.* 2010, Baillon *et al.* 2012) (Figura I.12). Las plumas de mar constituyen así sumideros de la dispersa y escasa materia orgánica que llega, siendo en algunos casos un complemento alimenticio alternativo para la fauna de profundidad (Buhl-Mortensen *et al.* 2010). También pueden constituir un refugio contra depredadores o perturbaciones físico-**químicas, así como “guarderías”** de estados juveniles de ciertas especies de peces (Levin 1991, Baillon *et al.* 2012).

Fauna asociada.- Son escasos los estudios que han informado sobre las especies que habitan o se relacionan con los pennatuláceos, y que parecen no estar presentes (o no son comunes) en el hábitat circundante. En otras palabras, aquellos escenarios en los que las plumas de mar estarían actuando como nichos ecológicos, constituyendo focos locales de biodiversidad y actividad biológica (Levin 1991).

Aunque en general sabemos poco acerca de la fauna asociada a los pennatuláceos, se han observado varios tipos de asociaciones que ilustran la importancia ecológica de las plumas de mar en el fondo marino (Buhl-Mortensen *et al.* 2010, 2018, Schejter *et al.* 2018). Por ejemplo, existen comentarios controvertidos sobre la relación entre pennatuláceos y zooxantelas o algas filamentosas (Figura I.13) (Duncan 1998).

Es también conocida la relación entre pennatuláceos y ciertos copépodos parásitos principalmente de las familias Lichomolgidae (copépodos poco transformados que viven en la superficie) (Hickson 1909, Humes & Stock 1973, Humes 1978) y Lamippidae (copépodos transformados que viven en el interior de las cavidades y conductos) (Bruzelius 1858, Laubier 1972, Marshall & Marshall 1882).

También son frecuentes los casos de depredación de nudibranchios sobre colonias de pennatuláceos como por ejemplo los reportados entre *Veretillum cynomorium* y opistobranquios del género *Armina* o *Tritonia* (Fig. I.13 C-D) (Birkeland 1974, Guerriero *et al.* 1987, Jones *et al.* 2000, Buhl-Mortensen *et al.* 2010, García-Matucheski & Munian 2011, entre otros).

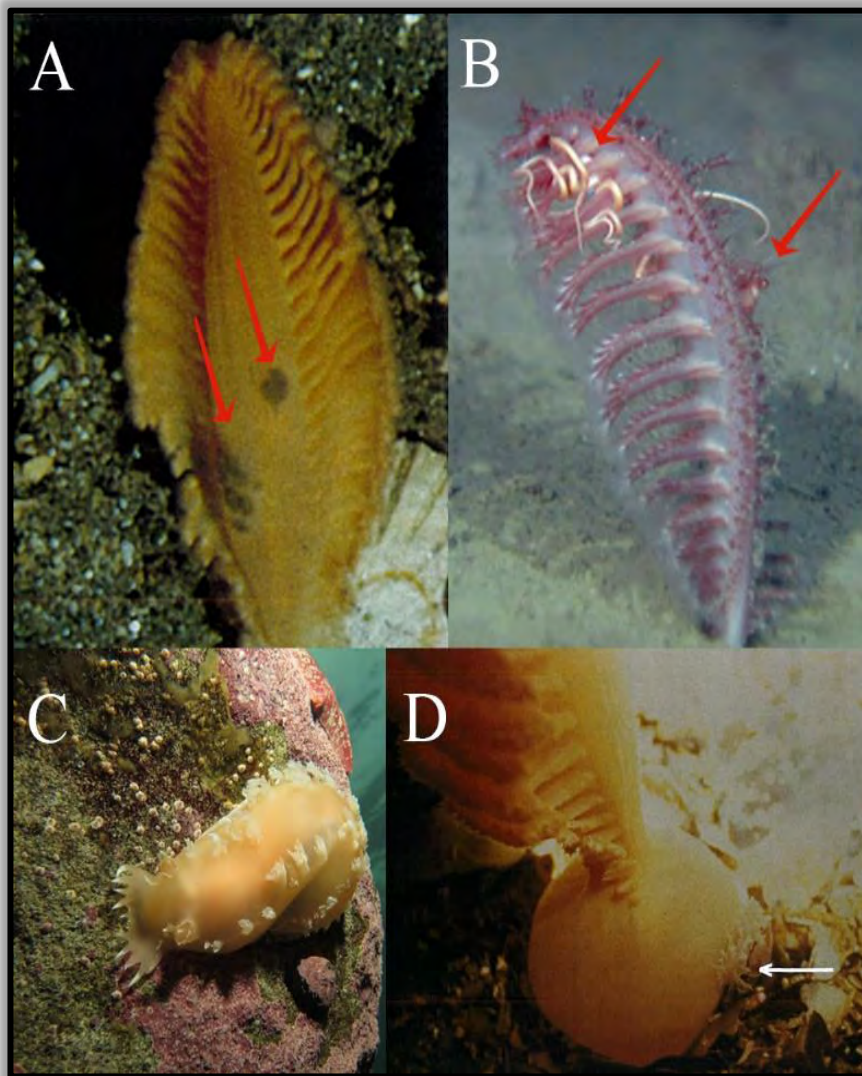


Figura I.13. Fauna asociada. A, foto de *Pteroeides* sp. mostrando unas manchas gris-verdosas formadas por algas filamentosas (tomado de Duncan 1998); B, foto de *Pennatula aculeata* asociada con una ofiura y un camarón (tomada de Buhl-Mortensen *et al.* 2018); C, foto de *Tritonia odhneri* (tomada de Paula González Valderrama ©); D, foto de *Tritonia* sp. sobre el pedúnculo de *Ptilosarcus* (tomado de Duncan 1998).

Finalmente, también se han descrito casos de comensalismo (Brodeur 2001, Tissot *et al.* 2006, Nygren & Pleijel 2010), por ejemplo entre ciertas colonias de *Pennatula* que actúan como guarderías de larvas y alevines de *Sebastes Sebastes* (inquilismo, si entendemos al pennatuláceo como un hospedador defendido) (Baillon *et al.* 2012), o la relación entre la estrella de mar *Asteronyx loveni* y varias especies de pennatuláceos (Fig. 1.13 B) (Fujita & Ohta 1988, Jones *et al.* 2000, Clippele *et al.* 2015, Buhl-Mortensen *et al.* 2018).

Como se ha sugerido, “las asociaciones de animales en ambientes marinos a menudo se caracterizan por la presencia de especies presas lo suficientemente abundantes como para soportar una variedad de depredadores” (Birkeland 1974). Sin embargo, en el caso de muchos pennatuláceos, quizás no sea sólo la **abundancia de individuos lo que “soporta” la acción de los diferentes depredadores (los pennatuláceos asumen el papel de presas potenciales)** sino además una multitud de mecanismos de defensa que han desarrollado a lo largo de su evolución y que evitan la depredación u otras perturbaciones físicas del entorno. Entre estos mecanismos podemos destacar la emisión de sustancias químicas al medio como los diterpenoides (Wratten *et al.* 1977, Wratten & Faulkner 1979, Pham *et al.* 2000), por ejemplo, los ácidos renillenoicos de *Renilla octodentata* mostraron tener propiedades antidepredación contra generalistas como el pez *Pagrus pagrus*, y actividad anti-asentamiento contra las larvas del percebe *Amphibalanus amphitrite* (Do & Erickson 1983, Keifer *et al.* 1986, Rittschof *et al.* 1986, García-Matucheski *et al.* 2012, Almeida *et al.* 2014); la emisión de bioluminiscencia ante una alteración como posible señal disuasoria (Marshall & Marshall 1882, Parker 1920, Davenport & Nicol 1955, Wampler *et al.* 1973, Morin 1976, Davis & VanBlaricom 1978, Germain & Anctil 1988, Francis & Sire de Vilar 2020, entre otros), una defensa estructural basada en escleritos y, en menor medida, nematocistos (Kastendiek 1976, Clavico *et al.* 2007, 2013, García-Matucheski *et al.* 2012) y una defensa conductual mediante mecanismos de huida o retracción en el sustrato (Dalyell 1848, Hickson 1909, Pavans *et al.* 1963, Pavans & Buisson 1965, Kastendiek 1975,

Hughes 1998). Estudios más recientes han documentado esta capacidad de enterramiento en otras especies de pennatuláceos, con o sin hojas polipíferas (ver *Ptilosarcus* en Birkeland 1974, *Pennatula* en Langton *et al.* 1990, Chimienti *et al.* 2018, o *Virgularia* en Wilson 1975, Hoare & Wilson 1977, Soong 2005, Ambroso *et al.* 2013, ver *Cavernularia obesa* en Imafuku 1976, 1980). Un estudio reciente confirmó el rápido enterramiento de *Protoptilum cf. carpenteri* tras ser molestado (0,6 s, Ambroso *et al.* 2021), una velocidad sensiblemente superior a la que mostró *Virgularia mirabilis* (15-40 s, Ambroso *et al.* 2013). Sin embargo, *Pennatula rubra* requirió más tiempo para su completo enterramiento (3-5 min, Chimienti *et al.* 2018). Por el contrario, otras especies de plumas de mar se caracterizan por su incapacidad para enterrarse, como es el caso de *Funiculina quadrangularis*. Esta incapacidad o permanencia constante, por otro lado, nos permite utilizar esta especie como indicador de Ecosistemas Marinos Vulnerables (VMEs) (Pierdomenico *et al.* 2018).

Políticas de conservación. - Con todo esto, la evaluación de los ecosistemas formados por las plumas de mar y su fauna asociada ha derivado en la categorización denominada “biotopos complejos”, donde a través de una serie de criterios se determina la importancia de su conservación. Por ejemplo, los pennatuláceos y sus hábitats fueron considerados de importancia ecológica en el Plan de Acción de Diversidad (UK *Biodiversity Action Plan*, UKBAP) y en el *Mud in Deep Water Habitat Action Plan* (English Nature 1999).

En la misma línea, **los biotopos complejos “Plumas de mar y Comunidades de megafauna asociada”** fueron incluidos en la Lista de especies y hábitats amenazados y/o en declive por la Convención para la Protección del Medio Marino del Noreste Atlántico (OSPAR 1992, 2004) (Hughes 1998, Curd 2010). Recientemente, las plumas de mar y el hábitat que contribuyen a crear se han considerado Ecosistemas Marinos Vulnerables (VMEs) por la Comisión Europea (Bastari *et al.* 2018). La presencia de plumas de mar en determinadas áreas ha sido considerada

como útiles bioindicadores de la calidad de esos fondos y de sus comunidades asociadas (Greathead 2007, Pierdomenico *et al.* 2018).

Por otro lado, en el mar Mediterráneo, la gestión actual de las pesquerías rara vez tiene en cuenta las VMEs de fondo blando, prohibiendo el arrastre sólo en áreas profundas superiores a 1.000 m (Troffe *et al.* 2005, Gori *et al.* 2017, Bastari *et al.* 2018, Pierdomenico *et al.* 2018). Como se ha demostrado también en otras regiones del mundo, la pesca de arrastre ha dejado constancia de su impacto negativo mermando poblaciones de pennatuláceos y sus hábitats relacionados en ciertas áreas del Mediterráneo (Kinnear *et al.* 1996, Troffe *et al.* 2005, Cogswell *et al.* 2011, IUCN 2014). Por ello, determinar los requisitos ambientales, así como la distribución geográfica y batimétrica de los pennatuláceos (uno de los objetivos de la presente tesis), es una información necesaria para evaluar y establecer estrategias de conservación para estas especies clave (Rueda *et al.* 2016), así como la protección de las áreas donde se encuentran o promover modelos predictivos para inferir donde podrían hallarse (González-Mirelis & Lindegarth 2012, Greathead *et al.* 2015, Murillo *et al.* 2016, Bastari *et al.* 2018, Chimienti *et al.* 2019a,b).

Parte de los resultados obtenidos en la presente tesis podrían ayudar en determinados estudios, aportando una herramienta útil en la toma de decisiones, como puede ser un modelo predictivo para calcular la edad de una población a través de imágenes de ROV, o conociendo el esfuerzo reproductivo de ciertas especies que, a pesar de tener una colonia de pocos centímetros, ya están contribuyendo reproductivamente en la población. Conocimientos como estos, podrían ser usados como soporte para el diseño de planes de conservación en áreas marinas concretas, o servir como ejemplo a otros estudios que puedan realizarse en otras especies de plumas de mar. Además de las razones ecológicas y puramente biológicas, el estudio de las plumas de mar tiene un relevante interés económico-científico, por ejemplo, por la multitud de sustancias que se van descubriendo en ellas y que reportan interés en otros campos de investigación, como los mercado-

res bioluminiscentes descubiertos en *Renilla*, con multitud de aplicaciones inmunológicas (marcador bioluminiscente de genes) y experimentales (Liu *et al.* 1997, Jubin & Murray 1988, Shifera & Hardin 2010).

III. | Objetivos

Definimos a continuación los objetivos principales de la presente memoria de tesis. El abordaje de algunos de estos objetivos ha resultado en publicaciones recientemente aparecidas en revistas científicas de ámbito internacional.

(1) Obtener una filogenia del orden Pennatulacea con la mayor cobertura taxonómica y molecular posible. En la presente investigación se pretenderá obtener una filogenia molecular del Orden Pennatulacea en su conjunto, para tener así una visión global de las relaciones filogenéticas que existen entre las especies y géneros, independiente de las similitudes basadas en caracteres morfológicos. Para ello se emplearán los marcadores moleculares más recientes, y técnicas de reconstrucción filogenética en octocorales. Una vez obtenido el árbol filogenético de las plumas de mar, procederemos a realizar una comparación con las clasificaciones propuestas tradicionalmente en pennatuláceos desde la morfología, comprobando por ejemplo, la validez de las agrupaciones Subselliflorae y Sessiliflorae, la posición tradicionalmente basal de los veretílidos o más derivada de los pennatúlidos, la aparición natural o polifilética de rasgos como las hojas polipíferas o la simetría radial de las colonias, entre otras cuestiones. Adicionalmente, se intentará obtener una filogenia datada en el tiempo a través de un análisis del tiempo de divergencia, que nos ofrecerá una aproximación sobre cuándo surgieron las plumas de mar, y cuando ocurrieron los eventos de diversificación de la mayoría de los grupos actuales (capítulo 1.0).

(2) Resolución nomenclatural de situaciones polifiléticas en el orden Pennatulacea. La recepción de cierto material procedente de las profundidades del Atlántico Norte y la sospecha desde estudios moleculares de que pudiera pertenecer a un género diferente a uno de los supuestamente mejor conocidos, *Pennatula*, con el que presenta una gran similitud morfológica será la base de este objetivo. Se realizará un detallado trabajo taxonómico integrado (morfológico y molecular) para describir las características de los nuevos ejemplares (incluyendo colonias

que podrían constituir una posible especie nueva para la Ciencia) y su relación natural o no con el género *Pennatula*, así como con el resto de plumas de mar. Tras ello, se hará necesaria la redescrición del género *Pennatula* y “resucitar” un género olvidado en la literatura (capítulo 2.0).

(3) Explorar la variabilidad subindividual en organismos modulares, usando las plumas de mar como modelo. La enorme diversidad morfológica de las plumas de mar, que introducimos en el apartado general, será el contexto de un estudio y búsqueda de paralelismos rara vez aplicado en octocorales. A través de la aplicación de técnicas y análisis usados durante mucho tiempo en plantas, se pretenderá estimar la existencia y grado de variabilidad morfológica en pennatuláceos a nivel subindividual, esto es, dentro de cada colonia. Con ello se buscará hallar respuestas similares en ambos reinos, sirviendo como un primer paso para futuros estudios que mejoren nuestro conocimiento sobre sus posibles implicaciones ecológicas, generen criterios más adecuados para la delimitación de límites morfológicos intra- e interespecíficos, ayuden a generar diseños experimentales más eficientes y, finalmente, generen nuevas e interesantes hipótesis biológicas ya formuladas y discutidas en plantas, pero desconocidas en otros organismos modulares marinos (capítulo 3.0).

(4) Explorar el esfuerzo reproductor en pennatuláceos. A pesar de todos los esfuerzos para mejorar nuestro conocimiento sobre la biología de los pennatuláceos, la inmensa mayoría de sus especies aún permanecen pobremente estudiadas desde un punto de vista reproductivo. Conocer la biología reproductiva es esencial para comprender sus dinámicas poblacionales, así como sus potenciales respuesta a perturbaciones externas. Material de pennatuláceos obtenido a partir de campañas en el noroeste Mediterráneo será utilizado para estimar el esfuerzo reproductivo de la especie. Estas colonias corresponden a una especie de aguas poco profundas, de la cual no existían datos de esfuerzo reproductor hasta ahora, aun siendo descrita como una de las primeras especies conocidas de plumas de mar (Ellis, 1763) (capítulo 4.0).

(5) Explorar el acoplamiento entre el esfuerzo reproductor, la edad y crecimiento en plumas de mar. Con el objetivo de profundizar más en la biología de las plumas de mar, se utilizó un material recolectado en las aguas profundas de Islandia (>1.000 m). Este material se usará para investigar el esfuerzo reproductivo asociado a la longevidad y tasa de crecimiento. La determinación de la edad de una población es una información muy relevante desde un punto de vista ecológico, ya que puede ser útil para comprender su éxito ecológico, su capacidad de recuperación después de una perturbación externa (resiliencia), para estimar su mortalidad natural o total, así como para inferir la tasa de supervivencia de la población en un entorno determinado. Además, esta información suele usarse como herramienta en la toma de decisiones para diseñar planes de conservación (capítulo 5.0).

(6) Analizar el conocimiento actual sobre la diversidad y distribución de plumas de mar en un contexto global. Finalmente, tras haber explorado las relaciones filogenéticas y una serie características biológicas relevantes, se procederá a un estudio biogeográfico a nivel global utilizando todas las especies consideradas válidas a fecha actual de pennatuláceos. En esta investigación se buscará tener una visión general sobre los patrones de distribución de las especies, incluyendo una distribución geográfica a lo largo de potenciales ecorregiones y una distribución batimétrica desde plataforma (<200 m) hasta las grandes profundidades abisales (>6.000 m). Se acumulará la información geográfica existente donde han sido observados pennatuláceos y se buscarán posibles similitudes entre potenciales ecorregiones en función a su similitudes y composición faunística. Se determinará el grado de endemismo y cosmopolitismo. Las características biogeográficas serán posteriormente comparadas y discutidas con la filogenia obtenida para los pennatuláceos (ver cap. 1). Y para concluir, se pretende contribuir aportando nuestro grano de arena al viejo debate sobre el origen de los pennatuláceos, es decir, arrojando un poco más de luz hacia la posible época, la morfología, el área y la profundidad en la que surgen los ancestros de las plumas de mar actuales (capítulo 6.0).

Referencias

- Abdelsalam K.M. 2014. Faunistic study of benthic Pennatulacea (Cnidaria, Octocorallia) from the Northern coast of Egypt. *The Egyptian Journal of Aquatic Research*. 40(3): 261-268.
- Ambroso S., Dominguez-Carrió C., Grinyó J., López-González P.J., Gili J.M., Purroy A., Madurell T. 2013. In situ observations on withdrawal behaviour of the sea pen *Virgularia mirabilis*. *Marine Biodiversity*. 43(4): 257-258.
- Ambroso S., Grinyó J., Bilan M., Puig P. 2021. Extremely rapid withdrawal behaviour of the sea pen *Protoptilum cf. carpenteri* in the deep Mediterranean. *Marine Biodiversity*, 51(6), 1-5.
- Almeida M.T.R., Moritz M.I.G., Capel K.C., Pérez C.D., Schenkel E.P. 2014. Chemical and biological aspects of octocorals from the Brazilian coast. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. 24(4): 446-467.
- Altuna A. 2015. Identificación de las especies ibéricas del género *Pennatula* L., 1758 (Octocorallia: Pen-natulacea). Campañas Demersales, Ecomarg, Indemares y Medits. Insub, 11 pp.
- Baillon S., Hamel J. F., Wareham V. E., Mercier A. 2012. Deep cold- water corals as nurseries for fish larvae. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 10(7): 351-356.
- Bastari A., Pica D., Ferretti F., Micheli F., Cerrano C., Michel K. 2018. Sea pens in the Mediterranean Sea: habitat suitability and opportunities for ecosystem recovery. *ICES Journal of Marine Science*. 75(5): 1722-1732.
- Bayer F.M. 1955a. Remarkably preserved fossil sea-pens and their Recent counterparts. *Journal of the Washington Academy of Sciences*. 45(9): 294-300.
- Bayer F.M. 1955b Contributions to the nomenclature, systematics, and morphology of the Octocorallia. *Proceedings of the United States National Museum*. 105: 207-220, plates 1–8.
- Bayer F.M. 1956. Octocorallia. In: Moore, R.C. ed. *Treatise on invertebrate paleontology*. Part F. Coelenterata, 166-231. (Lawrence: Geological Society of America and the University of Kansas Press)
- Bayer F.M. 1981. Key to the genera of Octocorallia exclusive of Pennatulacea (Coelenterata: Anthozoa), with diagnoses of new taxa. *Proceedings of the Biological Society of Washington*. 94: 902-947.
- Bayer F.M., Grasshoff M., Verseveldt J. 1983. *Illustrated trilingual glossary of morphological and anatomical terms applied to Octocorallia*. E. J. Brill/ Dr. Backhuys, Leiden. 75 pp.
- Beaulieu S.E. 2001. Life on glass houses: sponge stalk communities in the deep sea. *Marine Biology*. 138(4): 803-817.
- Berntson E.A., France S.C., Mullineaux L.S. 1999. Phylogenetic relationships within the class Anthozoa (phylum Cnidaria) based on nuclear 18S rDNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 13: 417-433
- Berntson E.A., Bayer F.M., McArthur A.G., France S.C. 2001. Phylogenetic relationships within the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on nuclear 18S rRNA sequences. *Marine Biology*. 138: 235-246.
- Birkeland C. 1974. Interactions between a sea pen and seven of its predators. *Ecological Monographs*. 44(2): 211-232.
- Bourne G.C. 1900. "Anthozoa". In *Lankester's "A Teatrise On Zoology"*. Vol. II.
- Brafield A.E. 1969. Water movements in the pennatulid coelenterate *Pteroides griseum*. *Journal of Zoology, London*. 158: 317-325.

- Bredy O., Cortés J. 2008. Octocorals (Coelenterata: Anthozoa: Octocorallia) of Isla del Coco, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 56(2): 71-77.
- Brodeur R.D. 2001. Habitat-specific distribution of Pacific ocean perch (*Sebastes alutus*) in Pribilof Canyon, Bering Sea. *Continental Shelf Research*. 21: 207–224.
- Bruzelius R. 1858. Über einen in der *Pennatula rubra* lebenden Schmarotzer. *Arch. Naturgesch.* 25(1): 286-290.
- Buhl-Mortensen L., Vanreusel A., Gooday A.J., Levin L.A., Priede I.G., Buhl-Mortensen P., Gheerardyn H., King N.J., Raes M. 2010. Biological structures as a source of hábitat heterogeneity and biodiversity on the deep ocean margins. *Marine Ecology*. 31: 21-50.
- Buhl-Mortensen L., Buhl-Mortensen P., Rungruangsak-Torrissen K., Schwach V., Hjort J., Jakobsen T., ..., Toresen R. 2018. Cold Temperate Coral Habitats. *Corals in a Changing World*, 9.
- Carney R.S. 2005. Zonation of deep biota on continental margins. In Gibson, R. N. *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review*. 43: 211-278.
- Chia F.S., Crawford B.J. 1973. Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guerneyi*. *Marine Biology*. 23: 73-82.
- Chimienti G., Angeletti L., Mastrototaro F. 2018. Withdrawal behaviour of the red sea pen *Pennatula rubra* (Cnidaria: Pennatulacea). *The European Zoological Journal*, 85(1), 64-70.
- Chimienti G., Bo M., Taviani M., Mastrototaro F. 2019a. 19 occurrence and biogeography of mediterranean cold-water corals. In *Mediterranean cold-water corals: Past, present and future* (pp. 213-243). Springer, Cham.
- Chimienti G., Di Nisio A., Lanzolla A.M., Andria G., Tursi A., Mastrototaro F. 2019b. Towards non-invasive methods to assess population structure and biomass in vulnerable sea pen fields. *Sensors*, 19(10), 2255.
- Clippele L.H., Buhl-Mortensen P., Buhl-Mortensen L. 2015. Fauna associated with cold water gorgonians and sea pens. *Continental Shelf Research*. 105: 67-78.
- Clavico E.E., De Souza A.T., Da Gama B.A., Pereira R.C. 2007. Antipredator defense and phenotypic plasticity of sclerites from *Renilla muelleri*, a tropical sea pansy. *The Biological Bulletin*. 213(2): 135-140.
- Clavico E.E., Da Gama B.A., Soares A.R., Cassiano K.M., Pereira R. C. 2013. Interaction of chemical and structural components providing defences to sea pansies *Renilla reniformis* and *Renilla muelleri*. *Marine Biology Research*. 9(3): 285-292.
- Cogswell A., Kenchington E., Lirette C., Murillo F.J., Campanis G., Campbell N., Ollerhead N. 2011. Layers Utilized by an ArcGIS Model to Approximate Commercial Coral and Sponge Bycatch in the NAFO Regulatory Area. NAFO SCR Doc. 11/72. Available at: <http://archive.nafo.int/open/sc/2011/scr11-072.pdf>
- Curd A., 2010. Background Document for Sea pen and Burrowing Megafauna Communities. Publication no. 481/ 2010, 26.
- Daly M., Brugler M.R., Cartwright P., Collins A.G., Dawson M.N., Fautin D.G., France S.C., McFadden C.S., Opresko D.M., Rodriguez S., Romano S.L., Stake J.L. 2007. The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. *Zootaxa*. 1668: 127-182.
- Dalyell J.G. 1848. Rare and remarkable animals of Scotland, 2. Van Voorst, London. 322 pp.
- Darwin C. 1860. The voyage of the Beagle, annotated and with an introduction by Leonard Engel; 1962 republication. Anchor, Doubleday and Company, New York. 524 pp.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Davis N., VanBlaricom G.R. 1978. Spatial and temporal heterogeneity in a sand bottom epifaunal community of invertebrates in shallow water. *Limnology and Oceanography*. 23: 417-427.
- Davenport D., Nicol J.A.C. 1955. Luminescence in hydromedusae. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 144(916): 399-411.
- Do M.N., Erickson K.L. 1983. An aristolane sesquiterpenoid from the sea pen *Scytalium splendens*. *The Journal of Organic Chemistry*. 48(23): 4410-4413.
- Duncan J.C. 1998. Biology of the sea pen *Pteroeides* sp. in Fiordland, New Zealand. Master thesis, University of Otago.
- Ellis J. 1763. An account of the sea pen, or *Pennatula phosphorea* of Linnaeus; likewise a description of a new species of sea pen, found on the coast of South-Carolina, with observations on sea-pens in general. In a letter to the honourable Coote Molesworth, Esq; M.D. and F.R.S. from John Ellis, esq; F.R.S. and member of the Royal Academy of Upsal. *Phil. Trans. R. Soc. London*. 53: 419–435.
- English Nature. 1999. *Funiculina quadrangularis* (a sea pen). Mud habitats species statement (1), United Kingdom Biodiversity Group, Tranche 2 Action Plans Vol. V—maritime species and habitats, pp. 1–183. Peterborough: English Nature.
- Fabricius K., Alderslade P. 2001. Soft corals and sea fans - a comprehensive guide to the tropical shallow-water genera of the Central-West Pacific, the Indian Ocean and the Red Sea. Townsville, Australia: Australian Institute of Marine Science, 264 pp.
- Fautin D.G., Mariscal R. 1991. Cnidaria: Anthozoa. En: Harrison FW & Westfall JA (eds), *Microscopic anatomy of the invertebrates*, 2: placozoa, Porifera, Cnidaria and Ctenophora, Wiley-Liss, New York, pp. 267-358.
- Francis W.R., de Vilar A.S. 2020. Bioluminescence and fluorescence of three sea pens in the north-west Mediterranean sea. *bioRxiv*.
- Fujita T., Ohta S. 1988. Photographic observations of the life style of a deep-sea ophiuroid *Asteronyx loveni* (Echinodermata). *Deep Sea Research Part A. Oceanographic Research Papers*. 35(12): 2029-2043.
- García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptiliella* Gray, 1870 and description of *Ptiliella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia: Pennatulaceae). *Sci. Mar.* 83(3): 261-276.
- García-Cárdenas F.J., Núñez-Flores M., López-González P.J. 2020. Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulaceae). *Scientia Marina*. 84(4): 317-330.
- García-Matucheski S., Munian C. 2011. Predation by the nudibranch *Tritonia odhneri* (Opisthobranchia: Tritoniidae) on octocorals from the South Atlantic Ocean. *Mar. Biodivers.* 41: 287–297.
- García-Matucheski S., Muniain C., Cutignano A., Cimino G., Faimali M., Piazza V., ..., Fontana A. 2012. Renillenoic acids: Feeding deterrence and antifouling properties of conjugated fatty acids in Patagonian sea pen. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 416: 208-214.
- Germain G., Anctil M. 1988. Luminescent activity and ultrastructural characterization of photocytes dissociated from the coelenterate *Renilla köllikeri*. *Tissue and Cell*. 20(5): 701-720.
- González-Mirelis G., Lindegarth M. 2012. Predicting the distribution of out- of- reach biotopes with decision trees in a Swedish marine protected area. *Ecological Applications*, 22(8), 2248-2264.

- Gori A., Bavestrello G., Grinyó J., Dominguez-Carrió C., Ambroso S., Bo M. 2017. Animal forests in deep coastal bottoms and continental shelf of the Mediterranean Sea. *Marine Animal Forests: the ecology of benthic biodiversity hotspots*, 207-233.
- Greathead C.F., Donnan D.W., Mair J.M., Saunders G.R. 2007. The sea pens *Virgularia mirabilis*, *Pennatula phosphorea* and *Funiculina quadrangularis*: distribution and conservation issues in Scottish waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 87(5): 1095-1103.
- Greathead C., González-Irusta J.M., Clarke J., Boulcott P., Blackadder L., Weetman A., Wright P.J. 2015. Environmental requirements for three sea pen species: relevance to distribution and conservation. *ICES Journal of Marine Science*. 72(2): 576-586.
- Guerriero A., D'Ambrosio M., Pietra F. 1987. Verecynarmin A, a novel briarane diterpenoid isolated from both the Mediterranean nudibranch molluse *Armina maculata* and its prey, the pennatulacean octocoral *Veretillum cynomorium*. *Helvetica chimica acta*. 70(4): 984-991.
- Haeckel E. 1866. *Generelle morphologie der Organismen*, vol. 2. Verlag von Georg Reimer, Berlin.
- Herklots J.A. 1858. Notices pour servir à l'étude des polypiens nageurs ou pennatulidés.** *Bijdragen tot de Dierkunde*. 7:1-31.
- Hickson S.J. 1894. *The fauna of the deep sea* (Vol. 6). Kegan Paul.
- Hickson S.J. 1907. Coelenterata I.-Alcyonaria. National Antarctic (Discovery) Expedition, Natural History. 3: 1-15. British Museum.
- Hickson S.J. 1909. Coelenterata: Anthozoa. In *The Cambridge Natural History*, S. F. Harmer and A. E. Shipley, eds. Macmillan and Co., London. 1: 326-411.
- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. *Siboga Expedition Monographs* 14, Livr. 77: 1-265.
- Hickson S.J. 1918. Croonian Lecture: Evolution and Symmetry in the Order of the Sea-Pens. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B, Containing Papers of a Biological Character*. 90 (626):108-135.
- Hickson S.J. 1930. On the classification of the Alcyonaria. *Proceedings of the Zoological Society of London*. 229-252.
- Hickson S.J. 1937. The Pennatulacea. *Scientific Reports. Scientific Reports of the John Murray Expedition, 1933-v1934* 4(5): 109-130.
- Hoare R., Wilson E.H. 1977. Observations on the behaviour & distribution of *Virgularia mirabilis* of muller (coelenterata: pennatulacea) in holyhead harbour, anglesey. In *Biology of benthic organisms*, pp 329-337.
- Hughes D.J. 1998. Sea pens & burrowing megafauna (volumen III). An overview of dynamics and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. Scottish Association for Marine Science (UK Marine SACs Project). 105 pp.
- Humes A.G. 1978. Lichomolgid copepods (*Cyclopoidea*), with two new species of *Doridicola*, from sea pens (Pennatulacea) in Madagascar. *Transactions of the American Microscopical Society*. 524-539.
- Humes A.G., Stock J.H. 1973. A revision of the family Lichomolgidae Kossmann, 1877, cyclopoid copepods mainly associated with marine invertebrates. *Smithsonian Contributions to Zoology*.
- Imafuku M. 1976. On the mechanism of the activity rhythm of the sea pen *Cavernularia obesa*. *Publs Seto mar. biol. Lab*. 23: 1-17.

- Imafuku M. 1980. Activity rhythm of the sea-pen, *Cavernularia obesa* Valenciennes, under temperature and light cycles.
- IUCN 2014. Salvati, E., Bo, M., Rondinini, C., Battistoni, A., Teofili, C. (compilatori). Lista Rossa IUCN dei coralli Italiani. **Comitato Italiano IUCN e Ministero dell'Ambiente e della Tutela del Territorio e del Mare**, Roma.
- Jones L.A., Hiscock K., Connor D.W. 2000. Marine hábitat reviews, a summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of Marine **SAC's. UK Marine SAC's Project Report. Peterborough: Joint Nature Conservation Committee**. 178 pp.
- Jubin R., Murray M.G. 1998. Activity screening of bacteria containing *Renilla luciferase* plasmids. *BioTechniques*. 24(2): 185-188.
- Jungersen H.F.E. 1888. Om Bygningen og Udviklingen af Kolonien hos *Pennatula phosphorea*. Videnska- belige Meddelelser fra den Naturhistoriske forening i Kjabenhavn for Aaret. 40: 154-181
- Kastendiek J.E. 1975. The role of behavior and interspecific interactions in determining the distribution and abundance of *Renilla kollikeri* Pfeffer, a member of a subtidal sand bottom community (Doctoral dissertation, University of California, Los Angeles-Biology).
- Kastendiek J.E. 1976. Behavior of the sea pansy *Renilla kollikeri* Pfeffer (Coelenterata: Pennatulacea) and its influence on the distribution and biological interactions of the species. *The Biological Bulletin*. 151(3): 518-537.
- Keifer P.A., Rinehart Jr. K.L., Hooper I.R. 1986. Renilla-fouling, antifouling diterpenes from the sea pansy *Renilla reniformis* (Octocorallia). *J. Org. Chem.* 51 (23), 4450.
- Kinnear J.A.M., Barkel P.J., Mojsiewicz W.R., Chapman C.J., Holbrow A.J., Barnes C., Greathead C.F.F. 1996. Effects of Nephrops creels on the environment. *Fisheries Research Services Report*. 2: 96.
- Kölliker R.A. 1872. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Pennatulidenstammes nebst allgemeinen Betrachtungen zu Descendenzlehre. Christian Winter, Frankfurt am Main, 87 pp.
- Kükenthal W. 1909. Beobachtungen an einigen Korallenthiere des Adriatischen Meeres. "Aus. Der Natur". V. Heft II. 321.
- Kükenthal W. 1915. Pennatularia. *Das Tierreich*. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin, 43: 1–132.
- Kükenthal W. 1925. Octocorallia. In: Krumbach, T. (Ed), *Handbuch der Zoologie*, pp. 690–769.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the northwestern Pacific Ocean. *Mol. Phylogenet. Evol.* 131, 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.032>
- Langton R.W., Langton E.W., Theroux R.B., Uzman J.R. 1990. Distribution, behaviour and abundance of sea pens, *Pennatula aculeata*, in the gulf of Maine. *Marine Biology*. 107: 463-469.
- Laubier L. 1972. *Lamippe (Lamippe) bouligandi* sp. nov., copépode parasite d'octocoralliaire de la Mer du Labrador. *Crustaceana*. 285-293.
- Levin L.A. 1991. Interactions between metazoans and large, agglutinated protozoans: implications for the community structure of deep-sea benthos. *American Zoologist*. 31: 886-900.
- Li Y, Zhan Z, Xu K. 2021. Establishment of *Alloptilella splendida* gen. et sp. nov. and resurrection of *Scytalium veneris* (Thomson & Henderson, 1906), two sea pens (Cnidaria: Pennatulacea) from seamounts in the tropical Western Pacific. *J Oceanol Limnol.* 39(5): 1790–1804.

- Linnaeus C. 1758. *Systema naturae* (Vol. 1, No. part 1, p. 532). Laurentii Salvii: Stockholm.
- Liu J., O'Kane D. J., Escher A. 1997. Secretion of functional *Renilla reniformis* luciferase by mammalian cells. *Gene*. 203(2): 141-148.
- López-González PJ, Drewery J. 2022. When distant relatives look too alike: a new family, two new genera and a new species of deep-sea *Umbellula*-like sea pens (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea). *Invertebr Syst.* 36(3): 199–225.
- López-González P.J., Williams G.C. 2002. A new genus and species of sea pen (Octocorallia: Pennatulacea: Stachyptilidae) from the Antarctic Peninsula. *Invertebr. Syst.* 16: 919–929.
- López-González P.J., Williams G.C. 2011. A new deep-sea pennatulacean (Anthozoa: Octocorallia: Chunellidae) from the Porcupine Abyssal PLAIN (NE Atlantic). *Helgoland Marine Research*. 65(3): 309.
- López-González P.J., Gili J.M., Williams G.C. 2000. On some veretillid pennatulaceans from the eastern Atlantic and western Pacific Oceans (Anthozoa: Octocorallia), with a review of the genus *Cavernularia*, and descriptions of new taxa. *Journal of Zoology*. 250(2): 201-216.
- Marshall A.M, Marshall W.P. 1882. Report on the Pennatulida collected in the Oban dredging excursion of the Birmingham Natural History and Microscopical Society, July 1881. Birmingham, Birmingham Natural History and Microscopical Society.
- McFadden C.S., France S.C., Sánchez J.A., Alderslade P. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41: 513–27.
- Morin J.G. 1976. Probable functions of bioluminescence in the Pennatulacea (Cnidaria, Anthozoa). In *Coelenterate Ecology and Behavior*. 6 pp
- Mortensen P.B., Buhl-Mortensen L., Gebruk A.V., Krylova E.M. 2008. Occurrence of deep-water corals on the Mid-Atlantic Ridge based on MAR-ECO data. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 55(1-2): 142-152.
- Murillo F.J., Kenchington E., Beazley L., Lirette C., Knudby A., Guijarro J., ..., Sainte-Marie B. 2016. Distribution modelling of sea pens, sponges, stalked tunicates and soft corals from research vessel survey data in the Gulf of St. Lawrence for use in the identification of significant benthic areas. Ocean and Ecosystem Sciences Division, Maritimes Region, Fisheries and Oceans Canada, Bedford Institute of Oceanography.
- Niedermeyer A. 1911. Studien über den Bau von *Pteroides griseum* (Bohadsch). *Arbeiten aus den zoologischen Institut der Universität Wien und der zoologischen Station in Triest*. 19(1): 99-164.
- Niedermeyer A. 1912. Über den Verschlussmechanismus der Stielporen bei *Pennatula* und *Pteroeides*. *Zoologischer Anzeiger* 39:190.
- Nicol J.A.C. 1955. Observations on luminescence in *Renilla* (Pennatulacca). *J. Exp. Biol.* 33: 399-320.
- Nygren A., Pleijel F. 2010. Redescription of *Imajimaea draculai* -a rare syllid polychaete associated with the sea pen *Funiculina quadrangularis*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*. 90(7): 1441-1448.
- OSPAR 1992. Convention for the Protection of the Marine Environment of the North-East Atlantic of 22nd September 1992, Entered into Force on 25th March 1998.
- OSPAR 2004. Descriptions of Habitats on the Initial OSPAR List of Threatened and/ or Declining Species and Habitats. OSPAR Convention for the Protection of the Marine Environment of the North–East Atlantic 7, p.7.

- Parker G.H. 1920. The phosphorescence of *Renilla*. Proceedings of the American Philosophical Society. 59(3): 171-175.
- Pavans de C.M., Buisson B. 1965. Reciprocal behavior of the rachis and peduncle in colonies of *Veretillum cynomorium* Pall. Am. Zool. 5: 531-535.
- Pavans de C.M., Buisson B., Gargouill Y. 1963. Rythmes naturels et reactions motrices chez *Alcyonium digitatum* Linn, et *Veretillum cynomorium*. Compt. Rend. Soc. Biol. 157(3): 616-618.
- Pérez C.D., de Moura Neves B., Cordeiro R.T., Williams G.C., Cairns S.D. 2016. Diversity and distribution of Octocorallia. In The Cnidaria, past, present and future. Springer, Cham. 109-123 pp.
- Pham N.B., Butler M.S., Healy P.C., Quinn R.J. 2000. Anthoptilides A-E, new Briarane diterpenes from the Australian sea pen *Anthoptilum* cf. *kukenthali*. J. Nat. Prod. 63: 318-21.
- Pierdomenico M., Russo T., Ambroso S., Gori A., Martorelli E., D'Andrea L., ..., Chiocci F.L. 2018. Effects of trawling activity on the bamboo-coral *Isidella elongata* and the sea pen *Funiculina quadrangularis* along the Gioia Canyon (Western Mediterranean, southern Tyrrhenian Sea). Progress in Oceanography, 169, 214-226.
- Rittschof D., Hooper I.R., Costlow J.D. 1986. Barnacle settlement inhibitors from sea pansies, *Renilla reniformis*. Bulletin of marine science. 39(2): 376-382.
- Rueda J.L., González-García E., Krutzky C., López-Rodríguez F.J., Bruque G., López-González N., ..., Díaz-del-Río V. 2016. From chemosynthesis-based communities to cold-water corals: Vulnerable deep-sea habitats of the Gulf of Cádiz. Marine Biodiversity, 46(2), 473-482.
- Rumphius G.E. 1705. **D'Amboinsche Rariteitkamer, behelzende eene Beschryvinge van allerhande zoo weeke ais harde schaalvisschen, te weete raare Krabben, Kreeften, en diergelyke Zeedieren, ais mede allerhande Hoorntjes en Schulpen, die men in d'Amboinsche Zee vindt: Daar benevens zommige Mineraalen, Gesteenten, en soorten van Aarde, die in d'Amboinsche, en zommige omleggende Eilanden gevonden worden.** T^{Amsterdam}, by Jan Roman de Jonge. 340 pp.
- Rondelet G. 1554. Libri de piscibus marinis, in quibus verae piscium effigies expressae suni. Lugduni, apud Matthiam Bonhomme.
- Schejter L., Acuña F.H., Garese A., Cordeiro R., Pérez C. 2018. Sea pens (Cnidaria: Pennatulacea) from Argentine waters: new distributional records and first report of associated sea anemones. Pan. Am. J. Aq. Sci. 13: 292-301.
- Shifera A.S., Hardin J.A. 2010. Factors modulating expression of *Renilla luciferase* from control plasmids used in luciferase reporter gene assays. Analytical biochemistry. 396(2): 167.
- Soong K. 2005. Reproduction and colony integration of the sea pen *Virgularia juncea*. Marine Biology. 146(6): 1103-1109.
- Tissot B.N., Yoklavich M.M., Love M.S., York K., Amend M. 2006. Benthic invertebrates that form habitat on deep banks off southern California, with special reference to deep sea coral. Fishery Bulletin. 104(2): 167-181.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris. (2)37(4):705-716.
- Troffe P.M., Levings C.D., Piercey G.B.E., Keong V. 2005. Fishing gear effects and ecology of the sea whip (*Halipteris willemoesi* (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea)) in British Columbia, Canada: preliminary observations. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems. 15: 523-533.

- Tyler P.A., Bronsdon S.K., Young C.M., Rice A.L. 1995. Ecology and gametogenic biology of the genus *Umbellula* (Pennatulacea) in the North Atlantic Ocean. *International Review of Hydrobiology*. 80(2): 187-199.
- Wampler J. E., Karkhanis Y.D., Morin J.G., Cormier M.J. 1973. Similarities in the bioluminescence from the Pennatulacea. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*. 314(1): 104-109.
- Wratten S.J., Faulkner D.J., Hirotsu K., Clardy J. 1977. Stylatulide, a sea pen toxin. *Journal of the American Chemical Society*. 99(8): 2824-2825.
- Wratten S.J., Faulkner D.J. 1979. Some diterpenes from the sea pen *Stylatula* sp. *Tetrahedron*. 35(16): 1907-1912.
- Willemoes-Suhm R. von. 1875. Distribution of the alcyonoid polyps of the Umbellularia group. *American Journal of Sciences and Arts* (3).10: 397-398.
- Williams G.C. 1990. The Pennatulacea of southern Africa (Coelenterata, Anthozoa). *Ann. S. Afr. Mus.* 99: 31-119.
- Williams G.C. 1995. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zool. J. Linn. Soc.* 113(2): 93-140.
- Williams G.C. 1997. Preliminary assessment of the phylogeny of Pennatulacea (Anthozoa: Octocorallia), with a reevaluation of Ediacaran frond-like fossils, and a synopsis of the history of evolutionary thought regarding the sea pens. *Proceedings of the Sixth International Conference on Coelenterate Biology*. 497-509.
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE*. 6(7), e22747.
- Williams G.C. 2015. A new genus and species of pennatulacean octocoral from equatorial West Africa (Cnidaria, Anthozoa, Virgulariidae). *Zookeys*. 546: 39-50.
- Williams G.C., Alderslade P. 2011. Three new species of pennatulacean octocorals with the ability to attach to rocky substrata (Cnidaria: Anthozoa: Pennatulacea). *Zootaxa*. 3001: 33-48.
- Williams G.C., Hoeksema B.W., van Ofwegen L.P. 2012. A fifth morphological polyp in pennatulacean octocorals, with a review of polyp polymorphism in the genera *Pennatula* and *Pteroeides* (Anthozoa: Pennatulidae). *Zoological Studies*. 51(7): 1006-1017.
- Wilson E.B. 1883. The development of *Renilla*. *Johns Hopkins University*. 22: 78-79.
- Wilson E.W. 1975. Some aspects of the biology of *Virgularia mirabilis* of Müller (Octocorallia, Pennatulaceae) (Doctoral dissertation, MSc thesis, University of Wales, Bangor).

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

CAPÍTULO PRIMERO

1 ESTUDIO FILOGENÉTICO

FEATURED ARTICLE

SCIENTIA MARINA 84(4)

December 2020, 317-330, Barcelona (Spain)

ISSN-L: 0214-8358

<https://doi.org/10.3989/scimar.05067.28A>

Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea)

Francisco J. García-Cárdenas¹, Mónica Núñez-Flores^{1,2}, Pablo J. López-González¹¹ Biodiversidad y Ecología Acuática, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain.(FIG-C) (Corresponding author) E-mail: frangarca@us.es, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-1503-9552>(MN-F) E-mail: nuez.monica@gmail.com, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-9692-1909>(PJL-G) E-mail: plopez@us.es, ORCID iD: <https://orcid.org/0000-0002-7348-6270>² Programa de Doctorado en Sistemática y Biodiversidad, Facultad de Ciencias Naturales y Oceanográficas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile.

Summary: Pennatulaceans are an important component of benthic marine communities usually related to soft bottoms. Despite their important ecological role, as yet little is known about their origin and divergence time. The first attempts to establish phylogenetic relationships among genera date from the early 20th century, when only morphological characters were available. In the last decade, phylogenetic analyses based on mitochondrial DNA sequences from a selected number of species have proposed a different hypothetical ancestor for this group, but their intergeneric relationships remain obscure. The present study is based on a combination of mitochondrial and nuclear markers (*mtMutS*, *Cox1* and 28S rDNA), adding new molecular information about the phylogenetic relationships among the pennatulacean genera, including 38 new sequences belonging to 13 different species. Some of the phylogenetic relationships inferred in the present study question the current classification of sea pens based on morphology (at different taxonomic levels), clearly indicating that the two main groups Sessiliflorae and Subsessiliflorae, some of their main families (e.g. Pennatulidae, Umbellulidae, Virgulariidae) and some genera (e.g. *Umbellula*, *Veretillum*) are non-monophyletic. In addition, the veretillids, traditionally considered the most primitive pennatulaceans, are not shown as the earliest-diverging taxon. Moreover, an analysis of divergence time performed here suggested that the origin of the pennatulaceans dates from the Lower Cretaceous (Berrassano, ~144 Ma), in agreement with their sparsely known fossil record, while the initial divergence of most extant genera occurred in the Oligocene and Miocene times.

Keywords: phylogeny; *mtMutS*; *Cox1*; 28S; Pennatulacea; sea pen; divergence time.

Filogenia molecular y estimación del tiempo de divergencia en pennatuláceos (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea)

Resumen: Los pennatuláceos son un componente importante de las comunidades bentónicas marinas generalmente relacionados con fondos blandos. A pesar de su importante papel ecológico, la información sobre su origen y tiempo de divergencia es aún escasa. Los primeros intentos de establecer relaciones filogenéticas entre géneros datan de principios del siglo XX, cuando sólo estaban disponibles caracteres morfológicos. En la última década, los análisis filogenéticos basados en secuencias de ADN mitocondrial procedentes de un limitado número de especies han propuesto un ancestro hipotético diferente para este grupo, pero sus relaciones intergenéricas permanecen oscuras. La presente investigación está basada en una combinación de marcadores mitocondriales y nuclear (*mtMutS*, *Cox1* y ADNr 28S), aportando nueva información molecular sobre las relaciones filogenéticas entre los géneros de pennatuláceos, incluyendo 38 nuevas secuencias pertenecientes a 13 especies. Algunas de las relaciones filogenéticas inferidas en el presente estudio cuestionan la actual clasificación de las plumas de mar basada en la morfología (a diferentes niveles taxonómicos), indicando claramente que los dos grupos principales Sessiliflorae y Subsessiliflorae, algunas de sus principales familias (por ejemplo Pennatulidae, Umbellulidae, Virgulariidae) y algunos géneros (por ejemplo *Umbellula*, *Veretillum*) son no-monofiléticos. Asimismo, los veretillidos, tradicionalmente considerados los pennatuláceos más primitivos, no se muestran como el taxón divergente más antiguo. Además, un análisis del tiempo de divergencia realizado en este trabajo sugirió que el origen de los pennatuláceos data del Cretácico Inferior (Berrassano, ~ 144 Ma), de acuerdo con su escasamente conocido registro fósil, mientras que la divergencia inicial de la mayoría de los géneros existentes ocurrió en tiempos del Oligoceno y Mioceno.

Palabras clave: filogenia; *mtMutS*; *Cox1*; 28S; Pennatulacea; plumas de mar; tiempos de divergencia.

Citation/Como citar este artículo: García-Cárdenas F.J., Núñez-Flores M., López-González P.J. 2020. Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). Sci. Mar. 84(4): 317-330. <https://doi.org/10.3989/scimar.05067.28A>

Editor: M. Pascual.

Received: April 13, 2020. **Accepted:** October 1, 2020. **Published:** November 5, 2020.

Copyright: © 2020 CSIC. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

** Nota: aunque el orden de la investigación fue el seguido en el apartado Objetivos, por motivos ajenos, este capítulo 1 se paralizó antes de su publicación, siendo el capítulo 2 publicado con anterioridad. Esto provoca que en el capítulo 1 ya aparezca resuelta la politomía de *Pennatula* que se determinó en el capítulo 2. Si el lector así lo prefiere, puede obviar aquellas referencias a *Ptillella*, que no será *resucitada* hasta el siguiente capítulo.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

1.1 Introducción

Los cnidarios antozoos son considerados uno de los más importantes bioconstructores marinos, y a menudo dominan sobre el sustrato rocoso (Roberts *et al.* 2006, Mortensen *et al.* 2008). Estas comunidades estructuralmente complejas proporcionan refugio y alimento para estadíos larvarios y adultos de una rica fauna asociada, a través del establecimiento de numerosas relaciones simbióticas así como de interacciones tróficas (Sammarco & Coll 1992, Roberts *et al.* 2010, Baillon *et al.* 2012). Los fondos blandos suponen alrededor del 95 % de las profundidades marinas (Cognetti *et al.* 2001), pero son un sustrato inestable para el asentamiento de la mayoría de las especies y géneros de antozoos, que dominan en áreas rocosas (Chia & Crawford 1973). Sin embargo, varios grupos de antozoos muestran adaptaciones (por ejemplo, partes basales con forma de gancho en el género antipathario *Schizopathes*, bases con forma de raíz arbórea en algunas especies del género de coral blando *Anthomastus* o el isídido *Isidella*, o cuerpos alargados en el Orden Ceriantharia) para vivir en estos hábitats (ver Jungersen 1927, Tiffon 1987, Opresko 2002, entre otros). Entre los octocorales, los pennatuláceos parecen ser el grupo más especializado a vivir en estos fondos, con adaptaciones morfológicas, tales como la presencia de un pedúnculo muscular que sirve como un sistema de anclaje en sedimentos blandos (Herklots 1858, Tixier-Durivault 1965, Williams 2011), aunque se hayan descubierto unas pocas especies de plumas de mar habitando sobre rocas, modificando la porción basal del pedúnculo como un sistema de agarre para fijarse al sustrato rocoso (Williams & Alderslade 2011).

El Orden Pennatulacea contiene más de 200 especies consideradas válidas, distribuidas en 37 géneros y 14 familias (Williams 2011, 2015, García-Cárdenas *et al.* 2019). Estas están presentes en todos los océanos, con una distribución batimétrica que oscila desde zonas intermareales hasta una profundidad aproximada de 6100 m (Williams 2011). Algunas especies de plumas de mar forman extensas praderas modificando el hábitat y aumentando la diversidad local debido a la rica

fauna asociada con ellas (Hughes 1998, Baillon *et al.* 2014, Clippele *et al.* 2015). Este importante papel ecológico ha sido reconocido mediante la inclusión de los pennatuláceos y su megafauna asociada en la lista OSPAR de especies y hábitats amenazados y/o en declive (Jones *et al.* 2000, Curd 2010).

Estructuralmente, los pennatuláceos son organismos coloniales con un pedúnculo muscular que ancla la colonia al sustrato blando, y un polipario (o raquis) donde se encuentran los zooides (Herklots 1858, Kükenthal 1912). Tanto la estructura colonial como los tejidos comunes se generan desde el pólipo inicial, llamado oozooide (Williams *et al.* 2012). El resto de pólipos surge por gemación lateral de su pared corporal, y al menos dos tipos se distinguen: los autozooides (con una corona de ocho tentáculos recolectores, responsables de las funciones de alimentación y reproducción), y los sifonozooides (sin corona de tentáculos recolectores, a veces teniendo sólo uno con varios grados de desarrollado) que son responsables de los intercambios de agua hacia y desde el interior de la colonia (Tixier-Durivault 1965, Williams *et al.* 2012). Otros dos tipos, mesozooides y acrozooides, pueden estar presente (el primero en *Pennatula* y *Ptilella*, y el último en *Pteroeides*) (ver Williams *et al.* 2012, García-Cárdenas *et al.* 2019).

La clasificación propuesta para octocorales por Hickson (1930), basada en formas coloniales y diversidad morfológica de los escleritos, fue posteriormente modificada por Bayer (1981), quien los dividió en tres grupos principales. Entre ellos, los pennatuláceos (O. Pennatulacea) se distinguen claramente de otros octocorales [estolonados, corales blandos y gorgonias (O. Alcyonacea) y corales azules (O. Helioporacea)] por la estructura colonial arriba mencionada (Williams 1995, Daly *et al.* 2007, Pérez *et al.* 2016). Sin embargo, los primeros intentos de establecer posibles relaciones filogenéticas entre los géneros de pennatuláceos son atribuidos a Kölliker (1870), quien usó las similitudes morfológicas y complejidad estructural de las colonias para proponer un origen común para el grupo (Kölliker 1880, Kükenthal & Broch 1911). Kükenthal (1915) propuso una clasificación en la cual las familias fueron divididas en dos subórdenes: Sessiliflorae (los

autozooides están directamente localizados sobre el raquis) y Subselliiflorae (los autozooides están agrupados formando crestas elevadas u hojas laterales). Otras propuestas desarrolladas en las décadas siguientes (Hickson 1937, Bayer 1956, 1981) continuaron ahondando en detalles como la distribución de autozooides y sifonozooides, así como la forma y ornamentación de los escleritos (Williams 1995, Fabricius & Alderslade 2001, López-González & Williams 2002). La clasificación actual de pennatuláceos está exclusivamente basada en el conjunto de caracteres morfológicos arriba mencionados (Williams 1997). Más recientemente, los análisis moleculares han revelado posibles homoplasias (por ejemplo, la organización de autozooides en hojas polípiferas) y la consideración de agrupaciones no-monofiléticas dentro de Pennatulacea (Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019, García-Cárdenas *et al.* 2019).

Hickson (1916), de acuerdo con Kükenthal (1912) y Niedermeyer (1913), consideró a los veretílidos (Veretillidae) como los pennatuláceos más primitivos, siendo el Orden probablemente derivado de un ancestro alciónido con simetría colonial radial (relacionado con el género de coral blando *Anthomastus*). Estos pensamientos sobre el grupo basal de los pennatuláceos fueron considerados factibles hasta el final del Siglo XX (Williams 1994, 1997). La incorporación de los análisis moleculares a la reconstrucción filogenética en octocorales [basada en los marcadores mitocondriales *msh1* (en adelante *mtMutS*) y *ND2*] ha soportado sólidamente a las gorgonias de la familia Ellisellidae (una de las cinco familias tradicionalmente incluidas en el Suborden Calcaxonia; ver Grasshoff 1999) como el grupo hermano de los pennatuláceos (McFadden *et al.* 2006). Marcadores moleculares adicionales, como *Cox1* y el nuclear *ADNr 28S*, corroboraron la estrecha relación entre elisélidos y pennatuláceos (McFadden *et al.* 2010). Consecuentemente, Williams (2019) propuso dos escenarios alternativos para el emplazamiento de los pennatuláceos: 1) los pennatuláceos deben incluirse en Calcaxonia junto con las cinco familias de gorgonias previamente reconocidas (Ellisellidae, Ifalukellidae, Primnoidae, Chrysogorgiidae e Isididae; ver Grasshoff 1999); o 2)

los elisélidos deben ser eliminados de Calcaxonia e incluirse junto con los pennatuláceos en un clado llamado Actinaxonia (*sensu* Williams 2019). Sin embargo, estas hipótesis necesitan ser testadas usando una filogenia molecular de octocorales más exhaustiva. Aunque había discrepancias con respecto al grupo hermano de los pennatuláceos, tanto los enfoques metodológicos morfológico como molecular reconocieron el origen monofilético de los pennatuláceos el cual, según el registro fósil indiscutible más antiguo de pennatuláceos, podría haber ocurrido en el Cretácico Tardío (Reich & Kutscher 2011).

McFadden *et al.* (2014) complementaron su inicial *barcode* mitocondrial para octocorales (*Cox1+igr1+msh1*, McFadden *et al.* 2011) con un segmento nuclear (*ADNr 28S*), constituyendo esta secuencia multilocus (*mtMutS+Cox1+ADNr 28S*), la cual ha sido considerada un *barcode* más preciso para identificar especies de octocorales y útil en la identificación de relaciones intra- e intergenéricas de un selecto grupo de pennatuláceos (García-Cárdenas *et al.* 2019).

Estudios filogenéticos más recientes en pennatuláceos basados en genes mitocondriales (*mtMutS* y *ND2*) han propuesto la existencia de cuatro clados principales (Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019). Sin embargo, dada la baja tasa de evolución del genoma mitocondrial en octocorales, y su herencia uniparental, las hipótesis filogenéticas apoyadas solamente en ADNmt podrían estar sesgadas, y la integración de ambos marcadores mitocondriales y nuclear (como *28S*) debe ser preferible (Bilewitch & Degnan 2011, McFadden *et al.* 2014, Núñez-Flores *et al.* 2020). En la presente contribución, se ha llevado a cabo una reconstrucción filogenética sobre las relaciones internas entre taxones de pennatuláceos (subórdenes, familias y géneros). Una amplia cobertura taxonómica (aportando 38 nuevas secuencias de pennatuláceos, 13 *mtMutS*, 13 *Cox1*, y 12 *28S*), basada en el *barcode* concatenado propuesto previamente para octocorales (*mtMutS+Cox1+28S*) es usada para tal propuesta. Las relaciones filogenéticas propuestas en estudios moleculares previos son discutidas, así como la naturaleza

monofilética o no-monofilética de las familias y géneros de plumas de mar. Además, se incluye aquí por primera vez una estimación del tiempo de divergencia para pennatuláceos, la cual proporciona conocimientos sobre el tiempo de origen de los diferentes linajes que comprenden las plumas de mar.

1.2 Materiales y Métodos

1.2.1 Muestreo

Los materiales aquí examinados fueron recolectados durante varias campañas a través de diferentes áreas geográficas y programas de muestreo: en el noreste Ártico-Atlántico (programa BIOICE), el noreste Atlántico (cruceros *Scotia*, INDEMARES Chica), el Mar Mediterráneo (INDEMARES Alborán, INDEMARES Cap de Creus), el sureste Atlántico (BENGUELA VIII), y la Península Antártica y el este del Mar de Weddell (cruceros *Polarstern* ANT XVII/3, ANT XIX/5, y ANT XXIII/8) (ver Tabla 1.1).

Durante las diferentes expediciones, los especímenes fueron organizados y etiquetados a bordo. Las colonias (o una muestra de tejido de cada una) fueron fijadas directamente en etanol 100% para futuros estudios moleculares. La parte

Tabla 1.1. Pennatuláceos incluidos en los análisis filogenéticos moleculares en la Figura 1. Las especies en negrita son aquellas secuenciadas para este estudio. Nótese que todas las secuencias de GenBank son presentadas aquí con los nombres tal y como aparecen en GenBank y sus publicaciones originales (incluyendo números o letras). Las casillas con fondo gris forman las secuencias del Grupo Externo. Abreviaciones: NMS, National Museum Scotland Smithsonian (Escocia, UK); MNHM, Muséum national d'histoire naturelle (París, Francia); BECA, Biodiversidad y Ecología Acuática (Sevilla, España); MBARI, Monterey Bay Aquarium Research Institute (California, USA); NWFSC, Northwest Fisheries Science Center (Seattle, USA); NTM, Museum and Art Gallery of the Northern Territory (Darwin city, Australia); RMNH, Rijksmuseum van Natuurlijke Historie (Leiden, Países Bajos); SCF, Collection of S.C. France (USA); JAS, Colección de J. A. Sánchez; AMQ, Colección de A. M. Quattrini; n. d.: no data.

Referencias: (1) Este estudio; (2) Elz *et al.* no publicado; (3) Brockman & McFadden 2012; (4) Pante *et al.* 2012; (5) McFadden *et al.* 2006; (6) Everett *et al.* 2016; (7) McFadden & van Ofwegen 2012; (8) Kayal *et al.* 2013; (9) Quattrini *et al.* 2013; (10) García-Cárdenas *et al.* 2019; (11) France & Pante no publicado; (12) Hogan *et al.* 2019.

Taxón	Número de catálogo (o información adicional)	Área geográfica	mtMutS	Cox1	28S
Veretillidae					
<i>Cavernularia pusilla</i>	BECA OPEN-465	Noroeste Mar Mediterráneo	MT968957 ¹	MT952706 ¹	MT951908 ¹
<i>Veretillum cynomorium</i>	BECA OPEN-462	Noroeste Mar Mediterráneo	MT968958 ¹	MT952707 ¹	MT951909 ¹
Anthoptilidae					
<i>Anthoptilum grandiflorum</i>	NMS.Z.2019.25.16	Greenland	MK919655 ¹²	MK919655 ¹²	
<i>Anthoptilum</i> sp. 1	NMS.Z.2019.25.1	Whittard Canyon	MK919656 ¹²	MK919656 ¹²	
Funiculinidae					
<i>Funiculina quadrangularis</i>	NWFSC 34210-032	USA, Pacífico este	JN866526 ²	KF874185 ²	
<i>Funiculina</i> sp. 1	BECA OPEN-466	Atlántico norte	MT968959 ¹	MT952708 ¹	MT951910 ¹
<i>Funiculina</i> sp. 2	BECA OPEN-132	Atlántico nor-este	MT968960 ¹	MT952709 ¹	MT951911 ¹
Stachyptilidae					
<i>Gillibelemnon octodentatum</i>	BECA OPEN-452	Isla Seymour, Antártida	MK603841 ¹⁰	MK603855 ¹⁰	MK603851 ¹⁰
Halopteridae					
<i>Halopteris</i> sp.	BECA OPEN-167	Atlántico nor-este	MT968961 ¹	MT952710 ¹	MT951912 ¹
<i>Halopteris callornica</i>	NWFSC 34213-022	USA, Pacífico este	JN866542 ²	KF874203 ²	
<i>Halopteris finmarchica</i>	NTM-C014596	Pacífico oeste (Tasman Sea, AUS)	DQ302868 ⁵	GQ342425 ³	JX203741 ⁷
<i>Halopteris willemoesi</i>	NWFSC 34212-052	USA, Pacífico este	JN866533 ²	KF874192 ²	
Kophobelemnidae					
<i>Kophobelemnon</i> sp. 1	BECA OPEN-141	Atlántico nor-este	MT968962 ¹	MT952711 ¹	MT951913 ¹
<i>Kophobelemnon</i> sp. 2	BECA OPEN-151	Atlántico sur-este	MT968963 ¹	MT952712 ¹	MT951914 ¹
<i>Kophobelemnon</i> sp. 3	NMS.Z.2019.25.5	Whittard Canyon	MK919661 ¹²	MK919661 ¹²	
<i>Kophobelemnon</i> sp. 4	NMS.Z.2019.25.6	Whittard Canyon	MK919662 ¹²	MK919662 ¹²	
<i>Kophobelemnon macrospinum</i>	NTM-C014985	Pacífico oeste (Tasman Sea, AUS)	DQ302865 ⁵	GQ342429 ³	JX203742 ⁷
Pennatulidae					
<i>Gyrophyllum hironellei</i>	MNHM OCT.A.579	Atlántico norte	MT968964 ¹	MT952713 ¹	MT951915 ¹
<i>Gyrophyllum</i> sp.	NTM-C014392=NOR89/53	Pacífico oeste (Tasman Sea, AUS)	DQ302869 ⁵	JX203865 ⁷	JX203740 ⁷
<i>Ptilella grayi</i>	NMS.Z.2019.2.2	Rockall Bank, Atlántico nor-este	MK603846 ¹⁰	MK603856 ¹⁰	MK603853 ¹⁰
<i>Ptilella grandis</i>	BECA OPEN-143	South Iceland, Atlántico nor-este	MK603844 ¹⁰	MK603860 ¹⁰	MK603854 ¹⁰
<i>Pennatula aculeata</i>	NMS.Z.2019.25.7	Whittard Canyon	MK919663 ¹²	MK919663 ¹²	
<i>Pennatula rubra</i>	BECA OPEN-139	Alborán, Mar Mediterráneo	MK603845 ¹⁰	MK603857 ¹⁰	MK603852 ¹⁰
<i>Pennatula phosphorea</i>	BECA OPEN-453	Mar de Hebrides, Atlántico noreste	MK603848 ¹⁰	MK603858 ¹⁰	MK882492 ¹⁰
<i>Pennatula</i> sp.	BECA OPEN-152	Mar de Ross, Antártida	MK603849 ¹⁰	MK603859 ¹⁰	MK882493 ¹⁰
<i>Pteroeides griseum</i>	BECA OPEN-140	Noroeste Mar Mediterráneo	MT968965 ¹	MT952714 ¹	MT951916 ¹

<i>Ptilosarcus gurneyi</i>	NWFSC 34212-082	USA, Pacífico este	JN866536 ²	KF874195 ²	
Umbellulidae					
<i>Umbellula huxleyi</i>	BECA OPEN-161	Atlántico noroeste	MT968966 ¹	MT952715 ¹	MT951917 ¹
<i>Umbellula</i> sp. A	BECA OPEN-464	Antártida	MT968967 ¹	MT952716 ¹	
<i>Umbellula</i> sp. B	BECA OPEN-463	Antártida	MT968968 ¹	MT952717 ¹	MT951918 ¹
<i>Umbellula</i> sp. 1	NMS.Z.2019.25.12	Whittard Canyon	MK919669 ¹²	MK919669 ¹²	
<i>Umbellula</i> sp. 2	NMS.Z.2019.25.13	Porcupine Bank, Irlanda	MK919670 ¹²	MK919670 ¹²	
<i>Umbellula</i> sp. 3	NMS.Z.2019.25.14	Whittard Canyon	MK919671 ¹²	MK919672 ¹²	
Virgulariidae					
<i>Virgularia mirabilis</i>	BECA OPEN-310	Mar Mediterráneo	MT968969 ¹	MT952718 ¹	MT951919 ¹
<i>Virgularia schultzei</i>	RMNH Coel. 40823	Oeste Cape Province, sur Africa	GQ342527 ³	GQ342459 ³	JX203743 ³
<i>Acanthoptilum gracile</i>	NWFSC 34213-027	USA, Pacífico este	JN866544 ²	KF874205 ²	
Renillidae					
<i>Renilla</i> sp.	CSM-2010-UF4000	Pacífico este, Golfo de Panamá	GQ342526 ³	GQ342455 ³	
<i>Renilla muelleri</i>	SCF-FLA	Pacífico este	DQ297432 ⁵		
<i>Renilla muelleri</i>	n. d.	n. d.		NC_018378 ⁸	
Protoptilidae					
<i>Protoptilum carpenteri</i>	NMS.Z.2019.25.10	Whittard Canyon	MK919667 ¹²	MK919667 ¹²	
<i>Distichoptilum gracile</i>	NTM-C014561	Pacífico oeste (Tasman Sea, AUS)	DQ302866 ⁵	GQ342454 ³	JX203739 ⁷
Echinoptilidae					
<i>Actinoptilum molle</i>	RMNH Coel. 40822	Este Cape Province, sur Africa	GQ342491 ³	GQ342414 ³	JX203738 ⁷
Ellisellidae					
<i>Nicella</i> sp.	AMO-2013	Noroeste Atlántico	KC788269 ⁹	KC788231 ⁹	
<i>Nicella</i> sp.	AMO-2016	Noroeste Atlántico			KX890219 ⁹
<i>Ctenocella schmitti</i>	JAS-238	Noroeste Atlántico	JN227995 ⁴	FJ268628 ¹¹	
<i>Verrucella</i> sp.	NTM-C014982	Tasman Sea, AUS	DQ302864 ⁵		
<i>Verrucella</i> sp.	RMNH Coel. 40030	Oeste Papua, Indonesia		JX203851 ⁷	JX203704 ⁷
<i>Viminella</i> sp. 1	RMNH Coel. 40032	Oeste Papua, Indonesia	JX203794 ⁷	JX203852 ⁷	JX203703 ⁷

restante de las colonias fue fijada en hexametilentetramina tampona al 4% formalina-agua de mar o en etanol 70%. Tras el periodo de fijación, todas las colonias fueron preservadas en etanol 70%. Los especímenes secuenciados fueron depositados en el Museu de Zoologia de Barcelona (MZB), en el Muséum National d'histoire Naturelle (MNHN) de París y en la colección del grupo de investigación Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla (BECA).

1.2.2 Análisis moleculares

Extracción de ADN y perfiles PCR.

El ADN genómico total fue extraído de especímenes conservados en etanol (EtOH) usando el kit de ADN EZNA (OmegaBiotech) siguiendo las instrucciones del fabricante. Dos regiones mitocondriales (*mtMutS* y *Cox1*) y una región nuclear (*ADNr 28S*) fueron secuenciadas. El inicio de la región *mtMutS* se amplificó utilizando los cebadores ND42599F y MUT3458R (France & Hoover 2002, Sánchez *et al.* 2003). El inicio de la región *Cox1* fue amplificada utilizando los primers COI18068F y COIOCTR (France & Hoover 2002, McFadden *et al.* 2004). El gen ribosómico nuclear *28S* (*ADNr 28S*) fue amplificado utilizando los primers 28S-Far y 28S-Rar (McFadden & van Ofwegen 2013). Cada PCR usó 0.5 U de DNA Stream Polymerase (BIORON), 0.2 mM de dNTPs, 0.3 μ M de cada primer, aproximadamente entre 30 ng de ADN genómico, y se llevó a un volumen final de 25 μ L con H₂O. La PCR de *mtMutS* se llevó a cabo usando el siguiente perfil de ciclo: desnaturalización inicial a 94°C durante 2 min, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 s, emparejamiento (*annealing*) a 55°C durante 30 s, y una extensión a 72°C durante 5 min. La PCR de *Cox1* usó el mismo perfil de ciclo pero con 58°C para el emparejamiento y 40 s como duración de la extensión para cada uno de los 35 ciclos. La PCR de *28S* usó el mismo perfil de ciclo que *Cox1*, pero con 50°C como temperatura de emparejamiento. Los productos de la PCR se purificaron usando el Kit de Purificación de ADN NucleoSpin® Extract II, siguiendo las instrucciones del fabricante. Los productos purificados fueron sometidos a electroforesis en un analizador genético ABI PRISM® 3730xl, y los fragmentos de secuencias **fueron editados usando Sequencher™ v4.0.**

Análisis filogenéticos

Las nuevas secuencias se compararon con secuencias homólogas obtenidas de GenBank (ver Tabla 1.1). Cualquier secuencia de GenBank que mostrara una identidad dudosa fue descartada de nuestros análisis, especialmente algunas atribuidas al género *Anthoptilum* (detectadas ya por Kushida & Reimer 2019). El emplazamiento de este género se consideró atendiendo a un reciente estudio que revela

que las especies de *Anthoptilum* (*Anthoptilum grandiflorum* MK91965 y *Anthoptilum* sp.1 MK919656) tienen la misma ordenación de genes que los corales bambú *Isididae* sp. (EF622534) y *Acanella eburnea* (EF672731) (Hogan *et al.* 2019). Atendiendo a las hipótesis moleculares previas (McFadden *et al.* 2006, 2010, McFadden & van Ofwegen 2012), se seleccionó un conjunto de gorgonias elisélidas como grupo externo para la reconstrucción filogenética (Brockman & McFadden 2012, Everett *et al.* 2016, Kushida & Reimer 2019).

La saturación por sustitución fue testada en los genes individuales usando el software DAMBE (Xia *et al.* 2003, Xia & Lemey 2009). *MtMutS*, *Cox1* y *28S* mostraron bajos niveles de saturación por sustitución en la tercera posición.

El conjunto de nuevas secuencias obtenidas en este estudio (*mtMutS*, *Cox1*, *28S*) y aquellas procedentes de GenBank fueron alineadas usando el método de alineamiento MUSCLE implementado en MEGA 6 (Tamura *et al.* 2013). El conjunto de datos concatenados involucró a 45 secuencias nucleotídicas *mtMutS*, 45 secuencias *Cox1*, y 27 secuencias *28S*. El alineamiento fue de 704 pb para *mtMutS* (63% posiciones conservadas), 775 pb para *Cox1* (80% conservado), 790 pb para *28S* (54% conservado), y 2.323 pb para el conjunto concatenado *mtMutS+Cox1+28S*. Tras el alineamiento, el mejor modelo de sustitución nucleotídica fue seleccionado usando Modeltest implementado en MEGA 6, atendiendo el criterio de información *Akaike* y los valores de prueba de ratio de verosimilitud jerárquica. La reconstrucción filogenética fue obtenida aplicando los métodos de máxima verosimilitud (ML) e inferencia Bayesiana. El método de máxima verosimilitud se llevó a cabo en MEGA 6 utilizando el método de búsqueda heurística Intercambio del Vecino más Próximo y 1000 replicaciones bootstrap. El modelo de sustitución nucleotídica seleccionado fue T92+G para el concatenado *mtMutS+Cox1+28S*. La inferencia Bayesiana se llevó a cabo en MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001, Ronquist & Huelsenbeck 2003), usando el modelo de sustitución GTR+G (Iset nst=6 rates=gamma) y 10^7 generaciones y descartando el 25% de los árboles iniciales. Para las propuestas comparativas y

discusión, las designaciones de los clados I-IV usadas en estudios filogenéticos previos (Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019) fueron usadas, aunque algunas de estas podrían no ser soportadas por nuestro estudio.

Para observar el efecto del marcador mitocondrial o nuclear usado, filogenias adicionales se obtuvieron basadas en los marcadores individuales y el concatenado *mtMutS+ Cox1*. Las condiciones de reconstrucción filogenéticas fueron similares a aquellas descritas arriba. Los modelos de sustitución nucleotídica seleccionados fueron T92+G+I para *mtMutS*, *Cox1* y *mtMutS+ Cox1*; y K2+G para *28S*. Los árboles resultantes fueron incluidos en el material suplementario (Figuras S1.2-S1.5). Cuando se detectó saturación por sustitución, se llevaron a cabo dos inferencias Bayesianas adicionales en las mismas condiciones, usando (A) el 1^a, 2^a y 3^a posiciones de codón de mt-genes; y (B) solamente las posiciones 1^a y 2^a (excluyendo las posibles posiciones saturadas del 3^{er} codón). Los árboles resultantes fueron prácticamente idénticos, sólo con ligeras diferencias en ciertos valores de soporte de los nodos (por ejemplo de 0.96 PP a 0.98 PP). Esto indica que la pequeña saturación detectada con DAMBE no influye en las relaciones genéricas mostradas aquí.

1.2.3 Análisis del tiempo de divergencia

El análisis del tiempo de divergencia se llevó a cabo dentro de un marco Bayesiano en BEAST 2.5.0 (Bouckaert *et al.* 2014), utilizando los 45 taxones de los que al menos dos de los tres loci estaban disponibles. BEAST permite que las topologías sean consideradas "fijadas" o estimadas para acomodarse a la incertidumbre filogenética (Bouckaert *et al.* 2014, Drummond & Rambaut 2007). Aquí elegimos el segundo enfoque porque las probabilidades del nodo posterior de la filogenia Bayesiana fueron relativamente bajas en pocos casos. Varios trabajos han enfatizado la importancia de la selección rigurosa de un modelo de reloj apropiado (por ejemplo, Duchêne *et al.* 2014), y para este fin cuatro modelos fueron comparados: i) relajado con una distribución de tipo local exponencial; ii) relajado con una distribución de tipo log-normal; iii) local aleatorio; y iv) estricto. Para cada modelo,

estimamos sus probabilidades marginales usando un enfoque de muestreo anidado implementado en el paquete NS de BEAST 2 (Maturana *et al.* 2018), y usamos el Factor Bayes (BF) para obtener el modelo mejor soportado. En cada uno de estos modelos, las tres particiones se trataron como vinculadas, y utilizamos un árbol previo de nacimiento-puro (Yule) (Bouckaert *et al.* 2014, Drummond & Rambaut 2007, Drummond & Bouckaert 2015). El modelo Yule es un modelo simple de especiación que generalmente es más apropiado para considerar secuencias de diferentes especies (Drummond & Bouckaert 2015). Las estimas absolutas de tiempos de divergencia fueron calculadas después de calibraciones de un fósil (ver sección siguiente calibración Fósil). Para el modelo mejor soportado de reloj molecular, dos corridas independientes de 100 millones de generaciones, muestreando cada 10000 generaciones, fueron realizadas. Las corridas fueron consideradas completas con tamaños muestreo efectivo superiores a 200 para todos los parámetros (Rambaut *et al.* 2018). Se usó LogCombiner (Rambaut & Drummond 2010) para combinar los archivos log de las corridas independientes de BEAST. Se usó TreeAnnotator (Rambaut & Drummond 2010) para resumir las muestras de árboles resultantes en un único árbol consenso usando la máxima credibilidad de clado, opciones de altura promedia y descartando el 10% de los árboles como quemados. La máxima credibilidad de clado resumió el 95% de los límites de mayor densidad posterior (HDP) de la edad del nodo.

Calibración fósil. El fósil indiscutible más antiguo de pennatuláceos proviene de varios estratos del Cretácico Tardío en Europa y norte América (Reich & Kutscher 2011). Estas formas se asignaron a los géneros '*Graphularia*' (4 spp.) y *Glyptosceptron* (1 sp.; ver detalles en Reich & Kutscher 2011), que son del Maastrichtiense inferior al superior (66– 72.1 m.a.) de los Países Bajos, Alemania, Bélgica, Estados Unidos y Ucrania. El otro registro fósil de pennatuláceos bien reconocido procede del Eoceno Temprano al Medio (41.2-47.8 m.a.) de Trinidad (Formación Pointe-a-Pierre) basado en el reconocimiento de *Virgularia presbytes* (Bayer 1955), un género con representantes existentes. La edad del ancestro común más

reciente del género *Virgularia* (ca. 41.2 m.a.) se estableció como una compensación, mientras que la media y la desviación estándar de la distribución log-normal se estableció como $M=2$ y $S=1$. Evitamos utilizar la edad del fósil de pennatuláceo indiscutible más antiguo en nuestros análisis de calibración de tiempo (Reich & Kutscher 2011) porque ciertamente restringiría el origen temprano de este clado pobremente fosilificado. En los siguientes párrafos usamos la abreviatura estándar 'Ma.' (= millones de años) para la edad de un momento específico en el pasado geológico (Aubry *et al.* 2009).

1.3 Resultados

1.3.1 Análisis filogenéticos

Visión general

Nuestro análisis filogenéticos basado en el conjunto de datos concatenados *mtMutS+ Cox1+ 28S* mostró la distribución de un conjunto de géneros de plumas de mar en dos clados relacionados y bien soportados [Clado I y Clado II, bootstrap (bst) >75%, probabilidad posterior (PP) >0.90], y el resto de géneros en dos agrupaciones cuyas relaciones variaron ligeramente dependiendo del método filogenético utilizado (Fig. 1.1). El método de inferencia Bayesiana agrupó los géneros *Gyrophyllum*, *Kophobelemnon* y *Halipterus*, así como una secuencia atribuida a una especie de *Umbellula* (*Umbellula* sp. 2 MK919670) con un fuerte apoyo (0.98 PP), y sin incluir al género *Funiculina*, que formó un clado separado bien apoyado. El método de máxima verosimilitud agrupó los géneros *Gyrophyllum*, *Funiculina* y *Kophobelemnon* con fuerte soporte (96% bst) en lo que nosotros hemos llamado Clado III, como un grupo hermano del Clado I-Clado II; mientras que *Umbellula* sp. 2 se reunió con el género *Halipterus*, constituyendo un relativamente pobremente soportado Clado IV (60% bst) (ver Fig. 1.1, recuadro inferior).

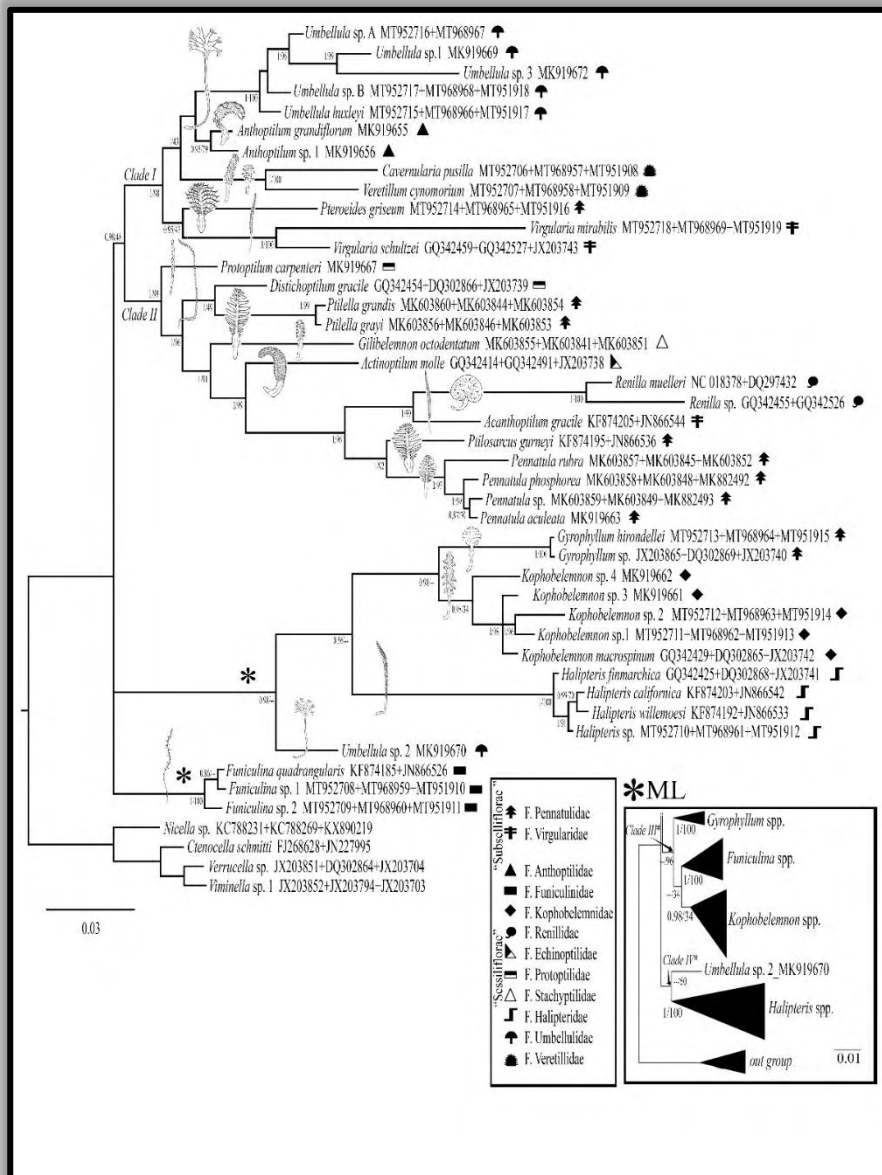


Figura 1.1. Relaciones filogenéticas en el Orden Pennatulacea basadas en inferencia Bayesiana (BI) para las regiones combinadas *mtMutS*+*Cox1*+*28S*. Una filogenia parcial basada en máxima verosimilitud (ML) se muestra en el recuadro inferior (ver Resultados para comentarios adicionales), aquellas agrupaciones que cambian con respecto al método de BI se resaltan con asterisco (ver Discusión). Probabilidad posterior y valores de soporte bootstrap están indicados.

La distribución obtenida de los géneros no soportó las tradicionales agrupaciones suprafamiliares (Sessiliflorae y Subselliflorae). Los géneros con hojas polipíferas (anteriormente bajo Subselliflorae) fueron localizados en diferentes clados (*Pteroeides* y *Virgularia* dentro del Clado I; *Ptilella*, *Acanthoptilum*, *Ptilosarcus* y *Pennatula* dentro del Clado II), mientras que las especies sin hojas polipíferas (anteriormente bajo Sessiliflorae) fueron halladas en todas las agrupaciones. Como resultado de esto, los subórdenes tradicionales Sessiliflorae y Subselliflorae no pueden ser por más tiempo reconocidos aquí como agrupaciones monofiléticas. Las colonias con simetría radial (caracterizadas por su forma colonial cilíndrica-clavada y zooides sin cálices permanentes distribuidos uniformemente por toda la superficie del raquis), representadas aquí por los géneros *Cavernularia*, *Veretillum* y *Actinoptilum* se observaron dentro de los Clados I y II (Fig. 1.1), mientras que las colonias con simetría bilateral se distribuyeron ampliamente por todo el árbol. Estos ejemplos de distribución morfológica ilustran la falta de concordancia entre las agrupaciones morfológicas tradicionales y moleculares.

Status de las familias tradicionales

De las 14 familias actualmente en uso en Pennatulacea, 12 fueron incluidas en nuestro análisis filogenético (Fig. 1.1, las familias están representadas por símbolos en el árbol). Aquellas familias representadas aquí por un género único (como Anthoptilidae, Funiculinidae, Stachyptilidae, Halipteridae, Kophobelemnidae, Renillidae y Echinoptilidae), la mayoría de ellas con más de una única especie, mostraron un origen común, excepto Umbellulidae (ver abajo). Aquellas familias con dos o más géneros (como Protoptilidae, Pennatulidae y Virgulariidae) no fueron recuperadas como agrupaciones monofiléticas, a excepción de Veretillidae, cuyos géneros *Cavernularia* y *Veretillum* (incluida su especie tipo *V. cynomorium*) se reunieron dentro del Clado I con un fuerte soporte (bst = 100%, PP = 1).

Los géneros protoptílidos *Protoptilum* y *Distichoptilum*, aunque localizados dentro del mismo Clado II, no se mostraron cerca uno del otro, siendo este último el grupo hermano de *Ptilella* (bst = 49%, PP = 1). Los géneros pennatúlidos

se distribuyeron en diferentes clados: *Pteroeides* dentro del Clado I con soporte moderado (bst = 43%, PP = 0.95); *Pennatula* y *Ptilosarcus* dentro del Clado II con fuerte soporte (bst = 92%, PP = 0.98); y *Gyrophyllum* como el grupo hermano de *Kophobelemnon* (PP = 0.98). *Ptilella* (incluida tentativamente en Pennatulidae) se situó dentro del Clado II con fuerte soporte (bst = 99%, PP = 1) pero no cerca de los otros pennatulidos *Pennatula* y *Ptilosarcus*. Los dos géneros virguláridos (*Virgularia* y *Acanthoptilum*) se emplazaron dentro de dos clados diferentes: *Virgularia* dentro del Clado I con soporte moderado (bst = 43%, PP = 0.95), y *Acanthoptilum* dentro del Clado II con fuerte soporte (bst = 99%, PP = 1). La familia Echinoptilidae representada aquí por el género *Actinoptilum* se emplazó dentro del Clado II, como el grupo hermano de un clado que incluye *Renilla*, *Acanthoptilum*, *Ptilosarcus* y *Pennatula*, con un fuerte apoyo (bst = 99%, PP = 1). La familia Renillidae representada por el género *Renilla* se ubicó dentro del Clado II con fuerte soporte (bst = 100%, PP = 1), como el grupo hermano del género virgulárido *Acanthoptilum*. La familia Umbellulidae representada por el género *Umbellula* se situó dentro del Clado I con fuerte soporte (bst = 100%, PP = 1), como el grupo hermano de *Anthoptilum* spp. Sin embargo, una secuencia identificada como *Umbellula* sp. 2 estuvo relacionada con *Kophobelemnon*, *Gyrophyllum* y *Halipteris* (PP = 0.98). En la hipótesis de máxima verosimilitud (ver Fig. 1.1, recuadro inferior) esta secuencia solo estuvo cerca de *Halipteris* spp. con soporte moderado (bst = 60%) (ver Discusión). La familia Funiculinidae, representada por el género *Funiculina* con fuerte soporte (bst = 100%, PP = 1), tuvo una localización sin soporte fuera de estas agrupaciones descritas anteriormente, aunque en el árbol máxima verosimilitud estas secuencias constituyeron el grupo hermano de *Kophobelemnon*, con bajo soporte (bst = 34%). Nuestros resultados indicaron que el emplazamiento de *Funiculina* spp. se debe principalmente a la adición del segmento nuclear 28S y no sólo debido al método utilizado (Tabla S1.1). Las filogenias (máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana) basadas en *mtMutS* (Fig. S1.2), *Cox1* (Fig. S1.3) y el combinado *mtMutS+Cox1* (Fig. S1.4) respaldaron la inclusión de *Funiculina* dentro del llamado Clado III o IV, en contraste con la

filogenia basada en 28S (Fig. S1.5) mostrando una ubicación sin soporte fuera de las agrupaciones mencionadas (ver Tabla S1.1 y Discusión). Finalmente, la familia Anthoptilidae representada por el género *Anthoptilum* estuvo dentro del Clado I con soporte moderado (bst = 79%, PP = 0.95) con *Umbellula* spp. como el grupo hermano.

Clasificación cladal en Pennatulacea

Nuestros resultados muestran que las agrupaciones supragenéricas distribuidas en los clados resultantes de los análisis moleculares son inconsistentes con la agrupación tradicional de las familias basadas en características morfológicas, como que hay géneros con diferentes formas coloniales reunidos en el mismo clado. Clado I con fuerte soporte (bts = 98%, PP = 1), está formado aquí por una mezcla de crecimiento colonial bilateral, radial, elongado y clavado (Fig. 1.1).

Clado II (bts = 99%, PP = 1) reunió especies pertenecientes a seis familias con simetría bilateral, excepto *Actinoptilum* (simetría radial). Este clado incluye géneros con colonias alargadas-flageliformes (por ejemplo *Protoptilum*, *Distichoptilum*), reniforme (por ejemplo *Renilla*), con hojas polipíferas de desarrollo moderado (por ejemplo *Acanthoptilum*) y con hojas polipíferas bien desarrolladas (por ejemplo *Ptilella*). Entre estos géneros, *Protoptilum*, *Distichoptilum* y *Ptilella* parecen ser los primeros taxones divergentes, siendo la agrupación *Pennatula* la más derivada.

La agrupación final estaba formada por especies pertenecientes a cuatro familias abarcando diferentes morfologías coloniales, incluyendo colonias con y sin hojas polipíferas (por ejemplo *Gyrophyllum* y *Kophobelemnon*, respectivamente), o formas elongadas y alargadas-flageliformes (por ejemplo *Haliopteris*). Finalmente, las secuencias de *Funiculina* constituyeron una agrupación separada, sin una relación clara con los clados anteriormente mencionados.

1.3.2 Análisis del árbol del tiempo

La probabilidad marginal estimada para el análisis del árbol del tiempo bajo diferentes modelos de reloj indicó que el modelo Log-normal relajado es el mejor soportado (Tabla S1.2). El resultado de este modelo se representa en la Figura 1.2 (y Fig. S1.1). Las fechas de divergencia inferidas por los análisis reloj-relajado Bayesianos indicaron la Edad del Cretácico Inferior (Edad Berriasiana; edad media inferida de 144.3 m.a.; HPD 95%: 65.7–249.1 m.a.) para el origen de Pennatulacea. Además, los cuatro linajes principales dentro de Pennatulacea se originaron poco

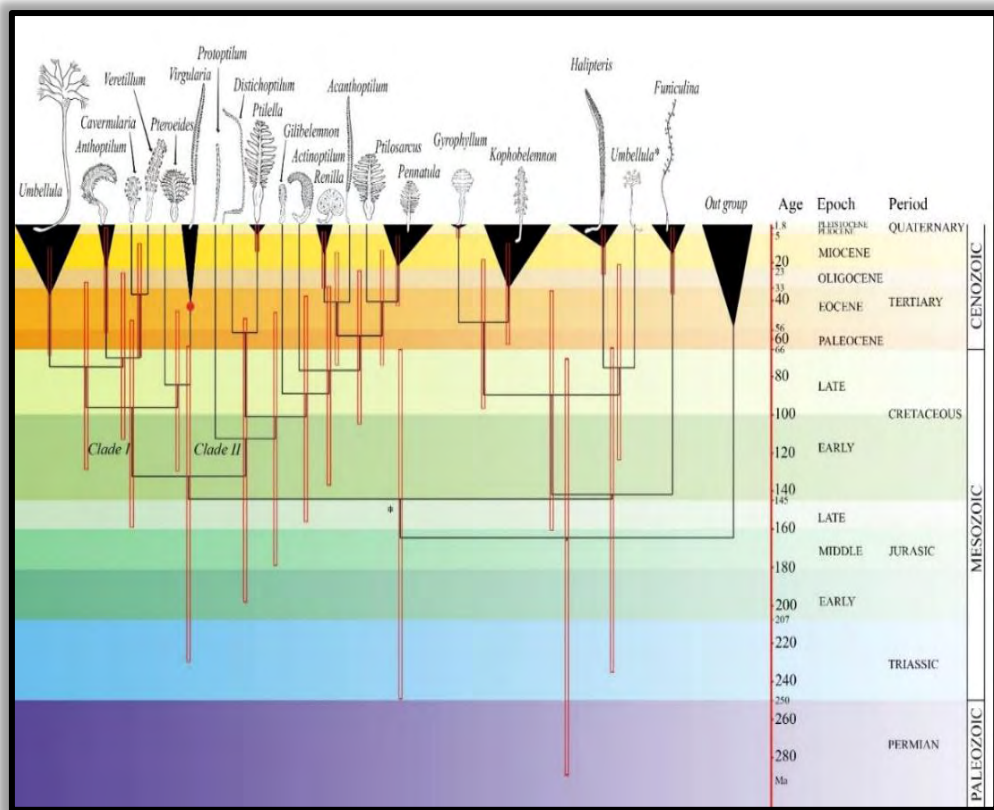


Figura 1.2. Árbol calibrado del análisis del Tiempo de Divergencia (basado en *mtMutS+ Cox1+ 28S*) mostrando la divergencia entre géneros y las diversas morfologías coloniales de los pennatuláceos. El punto rojo indica el punto de calibración fósil. Los intervalos de confianza de las estima de edad de divergencia se indican en cada nodo.

después, con Clados I y II divergidos durante la Era Hauteriviana (Cretácico In-

ferior; edad media inferida de 132.4 m.a.; HPD 95%: 64.1–229.9 m.a.). Las agrupaciones obtenidas en el análisis BEAST fueron similares a aquellas de MrBayes, incluso considerando las inciertas afinidades del género *Funiculina* (Figs. 1.2, S1.1). El último género parece comenzar su diversificación en el Mioceno Medio (edad media inferida de 15.6 m.a.; HPD 95%: 2.2–36.4 m.a.). El ancestro común más reciente de los géneros *Halipterus*, *Kophobelemnon* y *Gyrophyllum* es de la Edad Coniaciana (Cretácico Superior; edad media inferida de 89.3 m.a.; HPD 95%: 35.2–161 m.a.). El comienzo de la diversificación de la mayoría de los géneros con más de una secuencia, exceptuando *Virgularia*, *Gyrophyllum* y *Ptilella*, ocurrió durante las Épocas Oligoceno y Mioceno (que van desde 33.9 a 5.3 m.a.). Finalmente, los veretílidos (incluyendo *Cavernularia* y *Veretillum*) parecen haber diversificado sólo después del Eoceno Tardío (edad media inferida de 36.9 m.a.; HPD 95%: 10.3-70 m.a.).

1.4 Discusión

1.4.1 Monofilia de las divergencias basales en pennatuláceos

Hickson (1916: 131) ya había resaltado la dificultad de llevar a cabo estudios sistemáticos en Pennatulacea basados en características como la simetría colonial debido al amplio rango de variación de aquellos caracteres que se superponen entre géneros y especies. Como ha sucedido antes con otros grupos octocorales, hay una evidente falta de acuerdo entre las actuales sistemáticas de pennatuláceos basadas en caracteres morfológicos (ver Kükenenthal 1915, Hickson 1930, Williams 1997, entre otros) y las hipótesis filogenéticas generadas de datos moleculares (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019, entre otros). La presencia de caracteres homoplásicos (por ejemplo convergencias y reversiones) es un inconveniente serio en la formulación de hipótesis evolutivas fiables de pennatuláceos basadas solo en morfología (Landing *et al.* 2015, Pérez *et al.* 2016).

Sin embargo, varias sinapomorfías observadas en plumas de mar se han utilizado tradicionalmente para diferenciar a los pennatuláceos de otros octocorales y soportarlos como un grupo monofilético (Hickson 1930, 1937, Williams 1994). En las últimas décadas, a pesar de la inclusión de marcadores inadecuados o secuencias dudosas que cuestionaron este origen común (ver resultados de Berntson *et al.* 1999, 2001), la mayoría de los estudios moleculares llevados a cabo han corroborado el origen monofilético de los pennatuláceos con fuerte soporte (McFadden *et al.* 2006, Everett *et al.* 2016, Kushida & Reimer 2019).

El uso de los dos subórdenes tradicionales, Sessiliflorae y Subselliflorae (Kükenthal 1915), hasta principios de los 90s (por ejemplo, Hickson 1916, Tixier-Durivault 1965, Williams 1990) se ha evitado en las décadas recientes desde que Williams (1995: 136) cuestionó la validez de estas agrupaciones. En trabajos monográficos las diferentes familias fueron simplemente listadas desde las colonias estructuralmente más simples (formas radiales como los veretílidos) hasta las estructuralmente más complejas (bilaterales portadoras de hojas polipíferas bien desarrolladas como los pennatúlidos), siendo los últimos a menudo considerados desde un punto de vista morfológico como las formas más derivadas (Williams 1997, López-González & Williams 2002). En el presente estudio, usando un *barcode* molecular para octocorales y un rango más amplio de taxones muestreados, esta clasificación tradicional en Subórdenes ha sido claramente mostrada como una no-monofilética, de acuerdo con estudios moleculares previos (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019). Por tanto, aunque Sessiliflorae y Subselliflorae todavía son mencionados desde un punto de vista práctico (por ejemplo Yesson *et al.* 2012, Hogan *et al.* 2019) es evidente que ellas son agrupaciones no monofiléticas, siendo la evolución morfológica interna de cada clado todavía difícil de comprender.

1.4.2 Situación actual de las familias tradicionales

Los rasgos morfológicos han sido utilizados para categorizar a los pennatuláceos existentes en 14 familias, 37 géneros y aproximadamente 200 especies consideradas válidas (Williams 2011, 2015, García-Cárdenas *et al.* 2019) en concordancia con las contribuciones más importantes relacionadas con el Orden Pennatulacea (por ejemplo Kükenthal & Broch 1910, Kükenthal 1915, Hickson 1916, entre muchos otros). Sin embargo, estudios moleculares recientes no han logrado recuperar la monofilia de algunas de estas familias, como Umbellulidae, Pennatulidae, Virgulariidae, Protoptilidae, Scleroptilidae, Stachyptilidae y Kophobelemnidae (Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019). El presente estudio, incluyendo siete géneros no secuenciados previamente y secuencias mitocondriales adicionales y marcadores moleculares, confirmó la naturaleza no monofilética de algunas de estas familias (como Protoptilidae, Virgulariidae o Pennatulidae).

La familia Veretillidae, que incluye la mayoría de las formas coloniales radiales y estructuralmente más simples observadas en pennatuláceos, se ha considerado desde principios del siglo XIX como formas transicionales entre corales blandos y pennatuláceos (Koch 1878). La idea de que Veretillidae y Echinoptilidae fuesen los primeros taxones divergentes en filogenias basadas en morfología se extendió durante principios (Kükenthal & Broch 1910, Niedermeyer 1913, Hickson 1916) y finales (Williams 1994, 1997) del siglo XX, y la transición al siglo XXI (López-González & Williams 2002), antes de que los enfoques moleculares postularan un origen y relaciones basales de los pennatuláceos diferentes de los del resto de taxones octocorales (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013). En contraste con esa idea tradicional, y siguiendo los postulados moleculares posteriores, nuestra filogenia no respalda la hipótesis de que Veretillidae y Echinoptilidae se ubiquen en una posición basal, ejemplificando la morfología ancestral de las plumas de mar.

Recientes filogenias basadas en los marcadores mitocondriales *ND2* y *mtMutS* incluyendo secuencias de los géneros veretílidos *Veretillum* y *Caver-*

nulina les mostraron estrechamente relacionados a secuencias del género *Sclerobelemnon* (Kophobelemnidae) y situados todos ellos dentro del Clado I con soporte moderado (Kushida & Reimer 2019: 9). Nuestra investigación incluye nuevas secuencias adicionales de veretílidos pertenecientes a *Cavernularia* (*C. pusilla*) y *Veretillum* (incluyendo la especie tipo *V. cynomorium* Pallas, 1766). En nuestra filogenia estos veretílidos (*Cavernularia* y *Veretillum*) están reunidos en un clado con fuerte soporte (bst = 100%, PP = 1) dentro del Clado I (Fig. 1.1). Un análisis de máxima verosimilitud exploratorio adicional basado en *mtMutS* incluyendo todas las secuencias *mtMutS* disponibles en GenBank (Fig. S1.2) reveló que esas secuencias atribuibles a las especies del Pacífico *Veretillum* sp. 1 (MK133435) y *Veretillum* sp. 2 (MK133539, MK133545, MK133526) de Kushida & Reimer (2018) (aunque cayendo dentro del mismo Clado I) no estuvieron cerca de nuestra secuencia de la especie tipo *V. cynomorium*, sino más bien cercana a las secuencias de *Cavernulina* y *Sclerobelemnon*, en una agrupación diferente. Así, la inclusión de secuencias del Pacífico y Mediterráneo (especie tipo) en un único género resultaría en un taxón parafilético. Este hecho sugiere la necesidad de un estudio morfológico detallado de las colonias del Pacífico, ya que ellas podrían pertenecer a un género diferente, a pesar de su posible apariencia morfológica similar. En resumen, con la actual información, la familia Veretillidae parece ser una agrupación monofilética dentro del Clado I (ver Fig. 1.1). La recopilación de más datos moleculares sobre los remanentes generos veretílidos (como *Lituarina* o *Amphibelemnon*) sería deseable para delinear mejor la naturaleza monofilética de la actual lista de géneros incluidos en la familia Veretillidae.

La familia Echinoptilidae (incluyendo *Actinoptilum* y *Echinoptilum*) fue considerada tradicionalmente el otro taxón con divergencia más temprana en la filogenia de pennatuláceos, principalmente debido a su raquis radialmente simétrico (o al menos en su porción distal) (Kükenthal & Broch 1911, Niedermeyer 1913, Williams 1992). Kushida & Reimer (2018) consideraron la simetría radial solo para aquellas especies incluidas en Veretillidae (*Veretillum*, *Cavernulina*) dentro del Clado I, siendo el resto de taxones en el Clado I y todos los taxones incluidos

en los Clados II, III y IV bilaterales (Kushida & Reimer 2019: 5). Sin embargo, ambos géneros echinoptílicos exhiben simetría radial en las colonias en diferentes grados (Williams 1995). La filogenia propuesta por estos autores mostró al género *Echinoptilum* como un taxón derivado con un fuerte soporte dentro del Clado II, con *Renilla-Pennatula* como el grupo hermano. En nuestro estudio, la secuencia atribuible al otro género echinoptílico, *Actinoptilum molle*, fue también localizada como un taxón derivado dentro del Clado II como el grupo hermano de un [(*Renilla-Acanthoptilum*)-(*Ptilosarcus-Pennatula*)] clado.

La familia Protoptilidae, incluyendo los géneros *Protoptilum* y *Distichoptilum*, se reconoce aquí como un taxón no-monofilético, de acuerdo con Kushida & Reimer (2018). La familia Renillidae, constituida por el género *Renilla*, no se mostró cercana a Veretillidae (como fue sugerido desde la morfología, ver Williams 1997, Pérez & Ocampo 2001), respaldando los resultados de Dolan *et al.* (2013) y Kushida & Reimer (2018). En nuestra filogenia, *Renilla* es el grupo hermano de *Acanthoptilum* (Virgulariidae), y ambos son el grupo hermano de *Ptilosarcus-Pennatula* (Pennatulidae). La familia Anthoptilidae, representada aquí por *Anthoptilum* sp. 1 MK919656 y *A. grandiflorum* MK919655, se emplazó dentro del Clado I como el grupo hermano de *Umbellula*, y no ocupando una posición ancestral como lo sugirieron Dolan *et al.* (2013: Fig.1). Como se comentó anteriormente, las dos familias mejor representadas de pennatuláceos Pennatulidae y Virgulariidae (Williams 1995) se reconocen aquí como agrupaciones no monofiléticas, de acuerdo con Dolan *et al.* (2013) y Kushida & Reimer (2018).

La familia Umbellulidae se muestra aquí como una agrupación no monofilética, como se observó en trabajos previos (Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019) (Figs. 1.1, 1.2, S1.2). Como la especie tipo de *Umbellula*, *U. encrinus* (Linnaeus, 1758), cae dentro del Clado I, ese conjunto de secuencias tiene que ser considerado como el género *Umbellula*. Aunque el género *Umbellula* estuvo implicado en viejas hipótesis que postulaban el origen profundo de los pennatuláceos (ver Kölliker 1880), otros autores (Marshall 1883) reconocieron *Umbellula* como

una forma altamente modificada. En el siglo XX, Umbellulidae fue considerada una familia altamente derivada entre los autores que apoyaron el origen en aguas poco profundas de los pennatuláceos (Kükenthal & Broch 1911, Williams 1997, entre otros). Nuestra investigación respalda una divergencia tardía de *Umbellula* dentro del Clado I (Fig. 1.2).

La inclusión en nuestro estudio del marcador nuclear *28S* fue útil para reforzar el apoyo de los Clados I y II. Sin embargo, también puso al descubierto el inestable emplazamiento de los géneros *Funiculina* y *Halipterus* (ver Figs. 1.1, S1.2-S1.5 y Tabla S1.1) dependiendo del enfoque filogenético utilizado. Los Clados III y IV identificados por Kushida & Reimer (2018), fueron reconocidos en nuestro estudio (con soporte alto o relativamente bajo, bst 96% y 60%, respectivamente) solo cuando se utilizó el método de máxima verosimilitud, mientras que la inferencia Bayesiana indicó una hipótesis filogenética diferente. Por lo tanto, la inclusión del locus *28S* nos permite, por un lado, reforzar el soporte de los Clados I y II, pero además aporta evidencias de la inestabilidad de los otros clados propuestos en estudios previos, probablemente requiriendo un muestreo taxonómico y molecular más grande.

En general, nuestros resultados, basados en una combinación de segmentos mitocondriales y nucleares (*mtMutS+Cox1+28S*), indican el origen monofilético de la mayoría de los géneros de plumas de mar con fuerte soporte (1 PP). Este es uno de los pocos puntos en común en los cuales los estudios morfológicos y moleculares están de acuerdo

1.4.3 Estimación del tiempo de divergencia en pennatuláceos

Muy poco se sabe acerca del marco temporal de la evolución pennatulácea, y nuestro estudio es el primer intento de construir una filogenia calibrada en el tiempo basada en el análisis del reloj molecular relajado Bayesiano. La estimación en el Cretácico Inferior (Berriasiense, ~ 144 m.a.) para la divergencia de Pennatulacea

de su grupo hermano Ellisellidae es ligeramente más antigua que aquella inferida recientemente (edad estimada de su ancestro común más reciente como 82-125 m.a.; ver Bilewitch 2014). Sin embargo, es altamente consistente con estudios previos respecto a estimaciones del tiempo de divergencia de Calcaxonia (con el cual se ha relacionado a los pennatuláceos; 120-300 m.a., Park *et al.* 2012), así como con la edad de los indiscutibles fósiles más antiguos de pennatuláceos recuperados hasta ahora (Reich & Kutscher 2011).

El Cretácico es bien conocido como un período de efecto invernadero causado en gran parte por el aumento de CO₂ procedente de la elevada actividad volcánica global (por ejemplo Takashima *et al.* 2006, Prokoph *et al.* 2008), pero también es la última etapa en la ruptura de Gondwana, y muestra altas tasas de expansión del lecho marino, incrementos en los niveles del mar (tanto como 260 m por encima del actual) y altas temperaturas oceánicas (aguas superficiales >35°C y aguas profundas del océano >20°C), así como evidencias de cambios en la circulación global de los océanos (Haq *et al.* 1987, Pearson *et al.* 2001, Friedrich *et al.* 2012). Las condiciones climáticas globales durante el Berriasiense, donde probablemente ocurrió el origen de los pennatuláceos, fueron generalmente áridas y el nivel del mar estaba bastante bajo (Föllmi 2012). El Berriasiense también coincide con una fase de extinción (Tithoniano/Berriasiense), el cual, sin embargo, aparentemente afectó la vida continental más duramente que la vida marina (Föllmi 2012). Además, durante el Cretácico Inferior ocurrieron varios eventos anóxicos oceánicos, representando intervalos de tiempo de generalmente relativamente corta duración (<1 m.a.) en los cuales llegó a agotarse el oxígeno de masas de agua intermedias y de fondo (Föllmi 2012).

Nuestros resultados por tanto refuerzan la noción de que el Cretácico fue un momento crucial en la evolución octocoral, porque varios clados parecen iniciar su diversificación en esta época (por ejemplo primnoides; ver Taylor *et al.* 2013). Los principales clados aquí recuperados parecen haber divergido rápidamente (Hauteriviano-Berriasiense) tras sus orígenes pennatuláceos iniciales (Fig. 1.2), y

este hallazgo indica que la fase temprana de su diversificación tuvo lugar en un período invernadero y especialmente en períodos de cambios medioambientales dramáticos (Prokoph *et al.* 2008, Föllmi 2012). Como consecuencia, cambios en la temperatura del mar y eventos anóxicos oceánicos habrían jugado un papel forzando la diversificación pennatulácea, y probablemente también en el desplazamiento vertical (inmersión y emersión de linajes) a lo largo de la completa batimetría colonizable, como se ha demostrado las plumas de mar son uno de los grupos zoológicos presentes a lo largo del rango batimétrico más amplio (0-6100 m de profundidad) (Williams 2011). Nuestros resultados también aportan más soporte para un origen tardío de veretílidos (Eoceno Tardío), en contraste con la noción temprana basada en características morfológicas discutidas previamente.

Finalmente, es evidente que las calibraciones fósiles individuales disponibles utilizadas en el presente trabajo tienen un impacto en la calidad del cronograma resultante. Nosotros así enfatizamos que este cronograma debe ser considerado como el primer intento de producir un árbol de plumas de mar calibrado en el tiempo. Solo después de alcanzar una muestra más amplia de información molecular nosotros seremos capaces de refinar o incluso probar las interpretaciones ofrecidas en el presente trabajo.

1.5 Agradecimientos

Parte de este estudio fue incluido en una Tesis de Máster para el grado de máster en Biología Evolutiva en la Universidad de Sevilla. Queremos agradecer a numerosos colegas y capitanes de cruceros que han trabajado en las diferentes campañas durante las cuales se obtuvo el material aquí examinado: BIAÇORES, GUINEA BISSAU, BENGUELA XV, ANT XVII/3, BIOICE, ANT XIX/5, BIOROSS, ANT XXIII/8, ARCO, INDEMARES I (Canal de Menorca-Cap de Creus), cruceros *Scotia*, INDEMARES-Alborán e INDEMARES-Chica. En estas campañas, nuestro especial agradecimiento a Francesc Pagès, Wolf Arntz, Josep-María Gili, Jim DREWERY, Gudmundur Gudmundsson, Gudmundur Vidir, Jörundur Svavarsson, Stefano Schiaparelli, Annenina Lortz, Julian Gutt, Enrique Isla, Helmut Zibrowius, Victor Díaz-del-Río, José Luís Rueda, Serge Gofas, Ángel Luque y César Megina. Esta investigación fue parcialmente apoyada por los proyectos españoles REN2001-4929-E/ANT (LAMPOS, ANT XIX/5), POL2006-06399/CGL (CLIMANT, ANT XXIII/8), LIFE07/NAT/E/000732 LIFE+INDEMARES (INDEMARES-Cap de Creus, INDEMARES-Alborán e INDEMARES-Chica), y CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2017–21170438 (NFM). El estudio de los especímenes antárticos y la concepción final de este documento se llevaron a cabo en el marco del proyecto CTM2017-83920-P (DIVERSICORAL), financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España. Los autores también desean agradecer a R. Santos Gally (Departamento de Biología y Ecología Vegetal, Universidad de Sevilla) y G. Gutiérrez Pozo (Departamento de Genética, Universidad de Sevilla) por su asistencia durante los análisis moleculares.

1.6 Referencias

- Aubry M.P., Van Couvering J.A., Christie-Blick N., et al. 2009. Terminology of geological time: Establishment of a community standard. *Stratigraphy* 6: 100-105.
- Baillon S., Hamel J.F., Warehem V.E., et al. 2012. Deep cold-water corals as nurseries for fish larvae. *Front. Ecol. Environ.* 10: 351-356. <https://doi.org/10.1890/120022>

- Baillon S., Hamel J.F., Mercier A. 2014. Diversity, distribution and nature of faunal associations with deep-sea pennatulacean corals in the Northwest Atlantic. *PLoS ONE* 9: e111519. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111519>
- Bayer F.M. 1956. Octocorallia. In: Moore R.C. (eds), *Treatise on invertebrate paleontology*. Part F. Coelenterata. Geol. Soc. America Univ. Kansas Press. New York and Lawrence Kansas, pp. 166-231.
- Bayer F.M. 1981. Key to the genera of Octocorallia exclusive of Pennatulacea (Coelenterata: Anthozoa), with diagnoses of new taxa. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 94: 902-947.
- Berntson E.A., France S.C., Mullineaux L.S. 1999. Phylogenetic relationships within the class Anthozoa (phylum Cnidaria) based on nuclear 18S rDNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 13: 417-433. <https://doi.org/10.1006/mpev.1999.0649>
- Berntson E.A., Bayer F.M., McArthur A.G., et al. 2001. Phylogenetic relationships within the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on nuclear 18S rRNA sequences. *Mar. Biol.* 138: 235-246. <https://doi.org/10.1007/s002270000457>
- Bilewicz J.P. 2014. The roles of morphological diversification, depth range expansions and a novel gene in the evolution of the Octocorallia. Unpublished Phd thesis, The University of Queensland, Australia.
- Bilewicz J.P., Degnan S.M. 2011. A unique horizontal gene transfer event has provided the octocoral mitochondrial genome with an active mismatch repair gene that has potential for an unusual self-contained function. *BMC Evol. Biol.* 11: 1-14. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-11-228>
- Bouckaert R., Heled J., Kühnert D., et al. 2014. BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLoS Comput. Biol.* 10: e1003537. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003537>
- Brockman S.A., McFadden C.S. 2012. The mitochondrial genome of *Paraminabea aldersladei* (Cnidaria: Anthozoa: Octocorallia) supports intramolecular recombination as the primary mechanism of gene rearrangement in octocoral mitochondrial genomes. *Genome Biol. Evol.* 4: 882-894. <https://doi.org/10.1093/gbe/evs074>
- Chia F.S., Crawford B.J. 1973. Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guerneyi*. *Mar. Biol.* 23: 73-82. <https://doi.org/10.1007/BF00394113>
- Clippele L.H., Buhl-Mortensen P., Buhl-Mortensen L. 2015. Fauna associated with cold water gorgonians and sea pens. *Cont. Shelf. Res.* 105: 67-78. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2015.06.007>
- Cognetti G., Sarà M., Magazzù G. 2001. *Biología marina*. Ed. Ariel, Barcelona. 619 pp. Baillon S., Hamel J.F., Mercier A. 2014. Diversity, distribution and nature of faunal associations with deep-sea pennatulacean corals in the Northwest Atlantic. *PLoS ONE* 9(11): e111519.
- Curd A. 2010. Background Document for sea pen and burrowing megafauna communities., Biodiversity Series. OSPAR Commission, Oskar Convention for the Protection of the Marine Environment of the Northeast Atlantic, 26 pp.
- Daly M., Brugler M.R., Cartwright P. 2007. The phylum Cnidaria: a review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus. *Zootaxa* 1668: 127-182. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.1668.1.11>
- Dolan E., Tyler P.A., Yesson C., et al. 2013. Phylogeny and systematics of deep-sea sea pens (Anthozoa: Octocorallia: Pennatulacea). *Mol. Phylogenet. Evol.* 69: 610-618. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2013.07.018>

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Drummond A.J., Rambaut A. 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol.* 7: 214. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-7-214>
- Drummond A.J., Bouckaert R.R. 2015. Bayesian evolutionary analysis with BEAST. Cambridge University Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139095112>
- Duchêne S., Lanfear R., Ho S.Y. 2014. The impact of calibration and clock-model choice on molecular estimates of divergence times. *Mol. Phylogenet. Evol.* 78: 277-289. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2014.05.032>
- Everett M.V., Park L.K., Berntson E.A., et al. 2016. Large-scale genotyping-by-sequencing indicates high levels of gene flow in the deep-sea octocoral *Swiftia simplex* (Nutting 1909) on the west coast of the United States. *PLoS ONE* 11: e0165279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165279>
- Fabricius K., Alderslade P. 2001. Soft corals and sea fans. Australian Institute of Marine Science, Australia. 264 pp. Föllmi K. B. 2012. Early Cretaceous life, climate and anoxia. *Cretaceous Res.* 35: 230-257. <https://doi.org/10.1016/j.cretres.2011.12.005>
- France S.C., Hoover L.L. 2002. DNA sequences of the mitochondrial COI gene have low levels of divergence among deep-sea octocorals (Cnidaria: Anthozoa). *Hydrobiologia* 471: 149-155. <https://doi.org/10.1023/A:1016517724749>
- Friedrich O., Norris R.D., Erbacher J. 2012. Evolution of middle to Late Cretaceous oceans—a 55 my **record of Earth's temperature and carbon cycle**. *Geology* 40: 107-110. <https://doi.org/10.1130/G32701.1>
- García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia, Pennatulacea). *Sci. Mar.* 83: 261-276. <https://doi.org/10.3989/scimar.04845.26A>
- Grasshoff M. 1999. The shallow water gorgonians of New Caledonia and adjacent islands (Coelenterata: Octocorallia). *Senckenb. Biol.* 78: 1-245.
- Haq B.U., Hardenbol J., Vail P.R. 1987. Chronology of fluctuating sea levels since the Triassic. *Science* 235: 1156-1167. <https://doi.org/10.1126/science.235.4793.1156>
- Herklots J.A. 1858. **Notices pour servir à l'étude des polypiers nageurs ou pennatulidés**. *Bijdragen tot de Dierkunde* 7: 1-31. <https://doi.org/10.1163/26660644-00701001>
- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. *Siboga-Expeditie Monographs* 14, Livr. 77: 265 pp.
- Hickson S.J. 1930. On the Classification of the Alcyonaria. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 100: 229-252. <https://doi.org/10.1111/j.1096-3642.1930.tb00975.x>
- Hickson S.J. 1937. The Pennatulacea. *Scientific Rep. John Murray Expedition, 1933-v1934* 4: 109-130.
- Hogan R.I., Hopkins K., Wheeler A.J., et al. 2019. Novel diversity in mitochondrial genomes of deep-sea Pennatulacea (Cnidaria: Anthozoa: Octocorallia). *Mitochondr. DNA Part A.* 30: 764-777. <https://doi.org/10.1080/24701394.2019.1634699>
- Hughes D.J. 1998. Sea pens and burrowing megafauna (volume III). An overview of dynamics and sensitivity characteristics for conservation management of marine SACs. Scottish Association for Marine Science (UK Marine SACs Project). 105 pp.
- Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- Jones L.A., Hiscock K., Connor D.W. 2000. Marine habitat reviews, a summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of Marine

- SAC's. Peterborough: Joint Nature Conservation Committee (UK Marine SAC's Project Report).** 178 pp.
- Jungersen H.F.E. 1927. Anthomastus. The Danish Ingolf-Expedition. Vol. V. Bianco Luno. Copenhagen.
- Kayal E., Roure B., Philippe H., et al. 2013. Cnidarian phylogenetic relationships as revealed by mitogenomics. *BMC Evol. Biol.* 13: 5. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-13-5>
- Koch G. von. 1878. Notiz über die Zooide von Pennatula. *Zool. Anz.* 1: 103-104.
- Kölliker R.A. 1870. Anatomisch-Systematische Beschreibung der Alcyonararien. I. Die Pennatuliden. *Abh. Senckenb. Naturforsch. Ges.* 7: 487-602.
- Kölliker R.A. 1880. Report on the Pennatulida dredged by HMS Challenger during the years 1873-1876. Report of the Scientific Results of the Voyage of H. M. S. Challenger during the years 1873-76. *Zoology* 1(2): 1-41.
- Kükenthal W. 1912. Der Stammbaum der Seefedem. *Verhandlungen der internationalen Zoologischen Kongress Jena* 8: 563-570.
- Kükenthal W. 1915. Pennatularia. *Das Tierreich.* 43: 1-132. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin.
- Kükenthal W., Broch H. 1910. System und Stammesgeschichte der Seefedem. *Zool. Anz.* 36: 222-230.
- Kükenthal W., Broch H. 1911. Pennatulacea. *Wissenschaftliche Ergebnisse der deutschen Tiefsee-Expedition "Valdivia"* 13: 113-576.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the northwestern Pacific Ocean. *Mol. Phylogenet. Evol.* 131: 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.032>
- Landing E., Antcliffe J.B., Brasier M.D., et al. 2015. **Distinguishing Earth's oldest known bryozoan** (*Pywackia*, late Cambrian) from pennatulacean octocorals (Mesozoic-Recent). *J. Paleontol.* 89: 292-317. <https://doi.org/10.1017/jpa.2014.26>
- López-González P.J., Williams G.C. 2002. A new genus and species of sea pen (Octocorallia: Pennatulacea: Stachyptilidae) from the Antarctic Peninsula. *Invertebr. Syst.* 16: 919-929. <https://doi.org/10.1071/IT01027>
- Marshall A.M. 1883. Report on the Pennatulida dredged by H.M.S. Triton. *Trans. R. Soc. Edinb.* 32: 119-152. <https://doi.org/10.1017/S0080456800026697>
- Maturana R.P., Brewer B.J., Klaere S., et al. 2018. Model selection and parameter inference in phylogenetics using nested sampling. *Syst. Biol.* 68: 219-233. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy050>
- McFadden C.S., van Ofwegen L.P. 2012. Stoloniferous octocorals (Anthozoa, Octocorallia) from South Africa, with descriptions of a new family of Alcyonacea, a new genus of Clavulariidae, and a new species of *Cornularia* (Cornulariidae). *Invertebr. Syst.* 26: 331-356. <https://doi.org/10.1071/IS12035>
- McFadden C.S., van Ofwegen L.P. 2013. Molecular phylogenetic evidence supports a new family of octocorals and a new genus of Alcyoniidae (Octocorallia, Alcyonacea). *Zookeys* 346: 59-83. <https://doi.org/10.3897/zookeys.346.6270>
- McFadden C.S., Tullis I.D., Hutchinson M.B., et al. 2004. Variation in coding (NADH dehydrogenase subunits 2, 3, and 6) and noncoding intergenic spacer regions of the mitochondrial genome in Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa). *Mar. Biotechnol.* 6: 516-526. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0102-1>

- McFadden C.S., France S.C., Sánchez J.A., et al. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41: 513-527. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.06.010>
- McFadden C.S., Sánchez J.A., France S.C. 2010. Molecular phylogenetic insights into the evolution of Octocorallia: a review. *Integr. Comp. Biol.* 50: 389-410. <https://doi.org/10.1093/icb/icq056>
- McFadden C.S., Benayahu Y., Pante E., et al. 2011. Limitations of mitochondrial gene barcoding in Octocorallia. *Mol. Ecol. Resour.* 11: 19-31. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02875.x>
- McFadden C.S., Brown A.S., Brayton C., et al. 2014. Application of DNA barcoding in biodiversity studies of shallow- water octocorals: molecular proxies agree with morphological estimates of species richness in Palau. *Coral Reefs* 33: 275-286. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1123-0>
- Mortensen P.B., Buhl-Mortensen L., Gebruk A.V., et al. 2008. Occurrence of deep-water corals on the Mid-Atlantic Ridge based on MAR-ECO data. *Deep-Sea Res. Part II* 55: 142-152. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2007.09.018>
- Niedermeyer A. 1913. Über einige histologische Befunde an *Veretillum cynomorium*. *Zool. Anz.* 43: 263-270.
- Núñez-Flores M., Gomez-Uchida D., López-González P.J. 2020. Molecular and morphological data reveal three new species of Thouarella (Anthozoa: Octocorallia: Primnoidae) from the Southern Ocean. *Mar. Biodivers.* 50: 30. <https://doi.org/10.1007/s12526-020-01053-z>
- Opresko D.M. 2002. Revision of the Antipatharia (Cnidaria: Anthozoa). Part II. Schizopathidae. *Zool. Opresko Meded. Leiden* 76: 411-442.
- Pante E., France S.C., Couloux A., et al. 2012. Deep-sea origin and in-situ diversification of chryso-gorgiid octocorals. *PLoS ONE* 7: e38357. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038357>
- Park E., Hwang D.S., Lee J.S., et al. 2012. Estimation of divergence times in cnidarian evolution based on mitochondrial protein-coding genes and the fossil record. *Mol. Phylogenet. Evol.* 62: 329-345. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.10.008>
- Pearson P.N., Ditchfield P.W., Singano J., et al. 2001. Warm tropical sea surface temperatures in the Late Cretaceous and Eocene epochs. *Nature* 413: 481-487. <https://doi.org/10.1038/35097000>
- Pérez C.D., Ocampo F.C. 2001. Cladistic analysis of the pennatulacean genus *Renilla* Lamarck, 1816 (Coelenterata, Octocorallia). *J. Nat. Hist.* 35: 169-173. <https://doi.org/10.1080/00222930150215305>
- Pérez C.D., de Moura Neves B., Cordeiro R.T., et al. 2016. Diversity and distribution of Octocorallia. In: Goffredo S., Dubinsky Z. (eds). *The Cnidaria, Past, Present and Future*. Springer, Cham, Switzerland, pp. 109-123. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4_8
- Prokoph A., Shields G.A., Veizer J. 2008. Compilation and timeseries analysis of a marine carbonate $\delta^{18}\text{O}$, $\delta^{13}\text{C}$, $87\text{Sr}/86\text{Sr}$ and $\delta^{34}\text{S}$ database through Earth history. *Earth-Science Reviews* 87: 113-133. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2007.12.003>
- Quattrini A.M., Georgian S.E., Byrnes L., et al. 2013. Niche divergence by deep-sea octocorals in the genus *Callogorgia* across the continental slope of the Gulf of Mexico. *Mol. Ecol.* 22: 4123-4140. <https://doi.org/10.1111/mec.12370>
- Rambaut A., Drummond A.J. 2010. TreeAnnotator version 1.6.1. University of Edinburgh, Edinburgh, UK. <http://beast.bio.ed.ac.uk>

- Rambaut A., Drummond A.J., Xie D., et al. 2018. Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Syst. Biol.* 67: 901-904. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syy032>
- Reich M., Kutscher M. 2011. Sea pens (Octocorallia: Pennatulacea) from the Late Cretaceous of northern Germany. *J. Paleontol.* 85: 1042-1051. <https://doi.org/10.1666/10-109.1>
- Roberts J.M., Wheeler A.J., Freiwald A. 2006. Reefs of the deep: the biology and geology of cold-water coral ecosystems. *Science* 312: 543-547. <https://doi.org/10.1126/science.1119861>
- Roberts J.M., Wheeler A.J., Freiwald A., et al. 2010. The biology and geology of deep-sea coral habitats. *Oceanography* 23: 226-227. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2010.105>
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Sammarco P.W., Coll J.C. 1992. Chemical adaptations in the Octocorallia: evolutionary considerations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 88: 93-104. <https://doi.org/10.3354/meps088093>
- Sánchez J.A., McFadden C.S., France S.C., et al. 2003. Molecular phylogenetic analyses of shallow-water Caribbean octocorals. *Mar. Biol.* 142: 975-987. <https://doi.org/10.1007/s00227-003-1018-7>
- Takashima R., Nishi H., Huber B.T., et al. 2006. Greenhouse world and the Mesozoic ocean. *Oceanography* 19: 64-74. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2006.07>
- Tamura K., Stecher G., Peterson D. et al. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729. <https://doi.org/10.1093/molbev/mst197>
- Taylor P.D., Berning B., Wilson M.A. 2013. Reinterpretation of the **Cambrian 'Bryozoan' Pywackia** as an Octocoral. *J. Paleontol.* 87: 984-990. <https://doi.org/10.1666/13-029>
- Tiffon Y. 1987. Ordre des Cérianthaires. In: Grassé P (ed) *Traité de Zoologie: Anatomie, Systématique, Biologie - Cnidaires/ Anthozoaires - Tome III*. Masson, Paris, pp. 210-256.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.* 4: 705-716.
- Williams G.C. 1990. The Pennatulacea of southern Africa (Coelenterata, Anthozoa). *Ann. S. Afr. Mus.* 99: 1-120.
- Williams G.C. 1992. Biogeography of the octocorallian coelenterate fauna of southern Africa. *Biol. J. Linn. Soc.* 46: 351-401. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1992.tb00869.x>
- Williams G.C. 1994. Biotic diversity, biogeography and phylogeny of pennatulacean octocorals associated with coral reefs in the Indo-Pacific. *Proc. 7th Int. Coral Reef Symp.* 1994: 739-745.
- Williams G.C. 1995. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zool. J. Linn. Soc.* 113: 93-140. <https://doi.org/10.1006/zjls.1995.0004>
- Williams G.C. 1997. Preliminary assessment of the phylogeny of Pennatulacea (Anthozoa: Octocorallia), with a reevaluation of Ediacaran frond-like fossils, and a synopsis of the history of evolutionary thought regarding the sea pens. *Proc. 6th Int. Conf. Coel. Biol.* 1997: 497-509.
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE* 6: e22747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022747>
- Williams G.C. 2015. A new genus and species of pennatulacean octocoral from equatorial West Africa (Cnidaria, Anthozoa, Virgulariidae). *Zookeys* 546: 39-50. <https://doi.org/10.3897/zookeys.546.6344>

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Williams G.C. 2019. A new genus and species of enigmatic gorgonian coral from the Ryukyu Archipelago, northwestern Pacific, with a discussion of calcaxonian systematics (Cnidaria, Anthozoa, Octocorallia). *Zootaxa* 4701: 417-433. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4701.5.2>
- Williams G.C., Alderslade P. 2011. Three new species of pennatulacean octocorals with the ability to attach to rocky substrata (Cnidaria: Anthozoa: Pennatulacea). *Zootaxa* 3001: 33-48. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3001.1.2>
- Williams G.C., Hoeksema B.W., van Ofwegen L.P. 2012. A fifth morphological polyp in pennatulacean octocorals, with a review of polyp polymorphism in the genera *Pennatula* and *Pteroeides* (Anthozoa: Pennatulidae). *Zool. Stud.* 51: 1006-1017.
- Xia X., Lemey P. 2009. Assessing substitution saturation with DAMBE. In: Lemey P., Salemi M., et al. (eds) *The Phylogenetic Handbook: A Practical Approach to DNA and Protein Phylogeny*. Cambridge University Press, Cambridge, pp. 615-630. <https://doi.org/10.1017/CBO9780511819049.022>
- Xia X., Xie Z., Salemi M., et al. 2003. An index of substitution saturation and its application. *Mol. Phylog. Evol.* 26: 1-7. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(02\)00326-3](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(02)00326-3)
- Yesson C., Taylor M.L., Tittensor D.P., et al. 2012. Global habitat suitability of cold-water octocorals. *J. Biogeogr.* 39: 1278-1292. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2699.2011.02681.x>

1.7 Material Suplementario

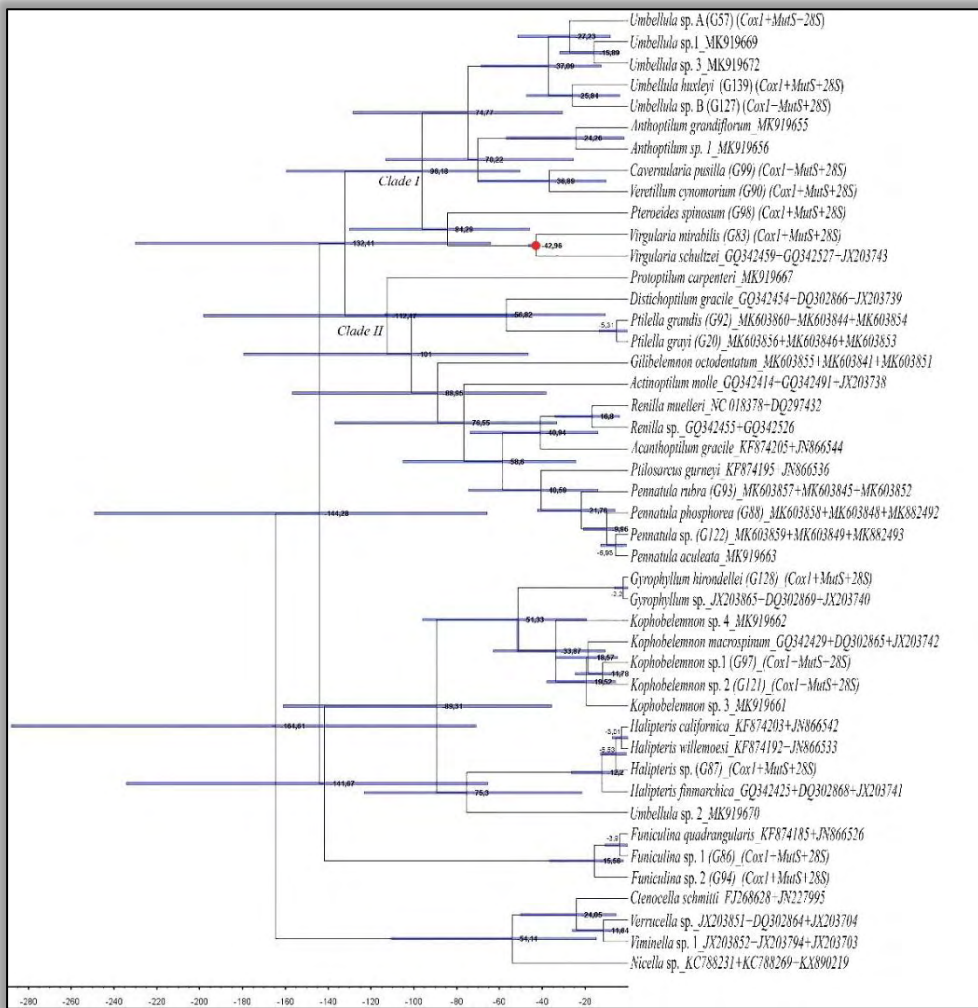


Figura S1.1. Árbol calibrado del análisis del Tiempo de Divergencia. Las relaciones filogenéticas se basaron en métodos de inferencia Bayesiana (BI) para las regiones combinadas *mtMutS+Cox1+28S*. Las barras indican el 95% de la densidad posterior más alta (HPD) con la edad promedio inferida. El punto rojo indica el punto de calibración fósil.

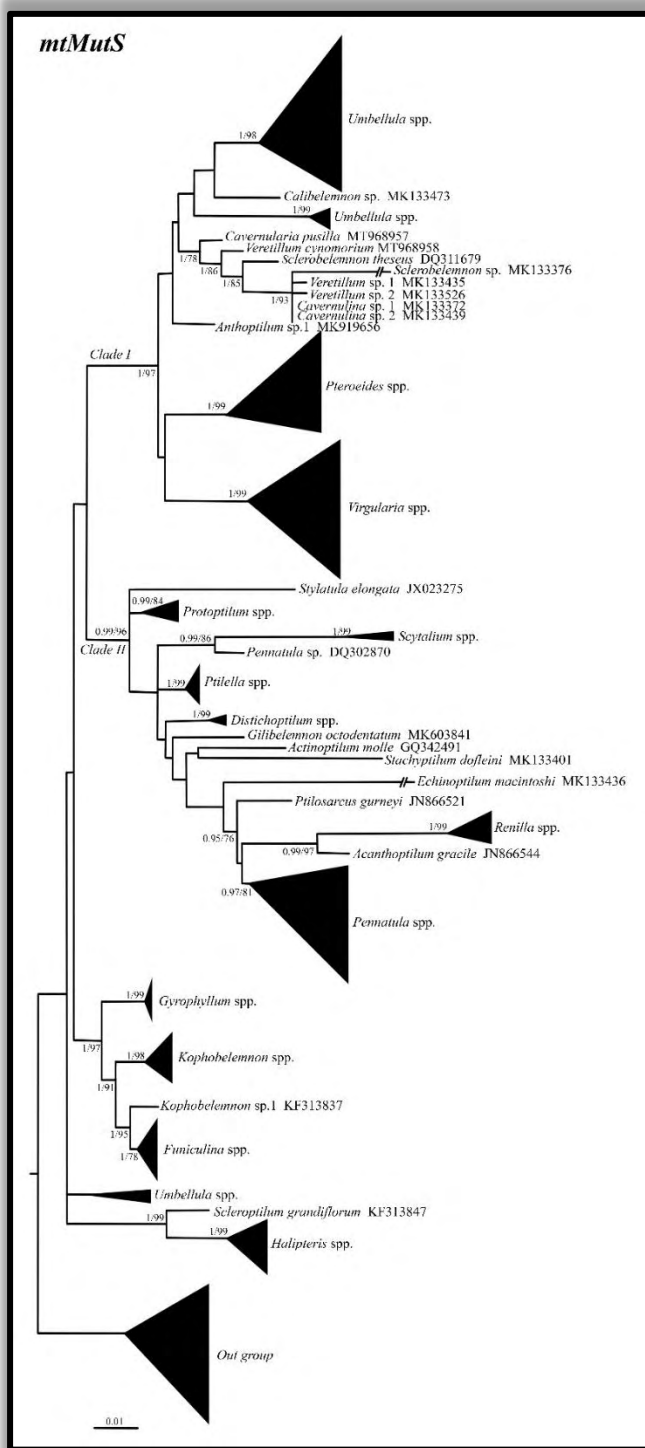


Figura S1.2. Relaciones filogenéticas en el Orden Penatulacea basadas en el método de máxima verosimilitud para el marcador *mtMutS*. Valores de soporte de probabilidad posterior y bootstrap están indicados sobre los nodos. Ver la Tabla S1.3 para las especies y números de acceso de Genbank utilizados en este árbol.

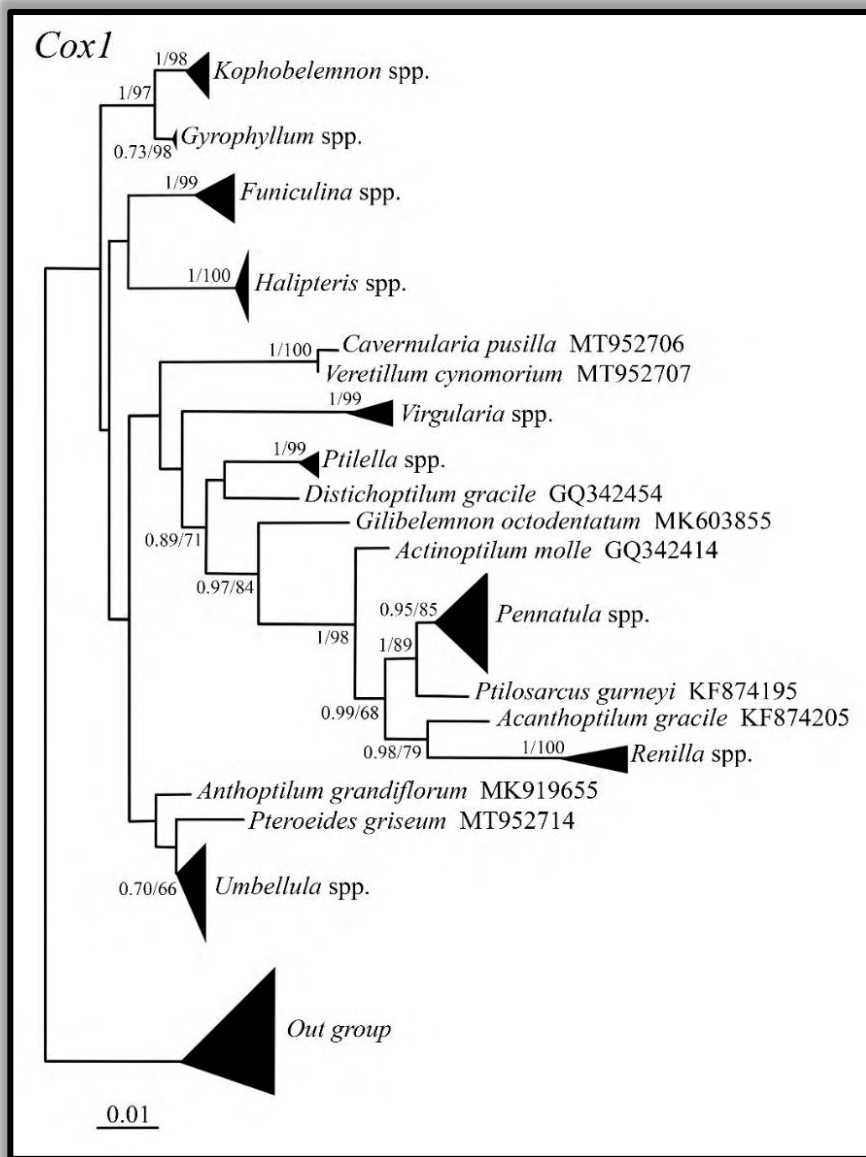


Figura S1.3. Relaciones filogenéticas en el Orden Pennatulacea basadas en el método de máxima verosimilitud para el marcador individual *Cox1*. Valores de soporte de probabilidad posterior y bootstrap están indicados sobre los nodos. Ver la Tabla 1.1 para las especies y números de acceso de Genbank utilizados en este árbol.

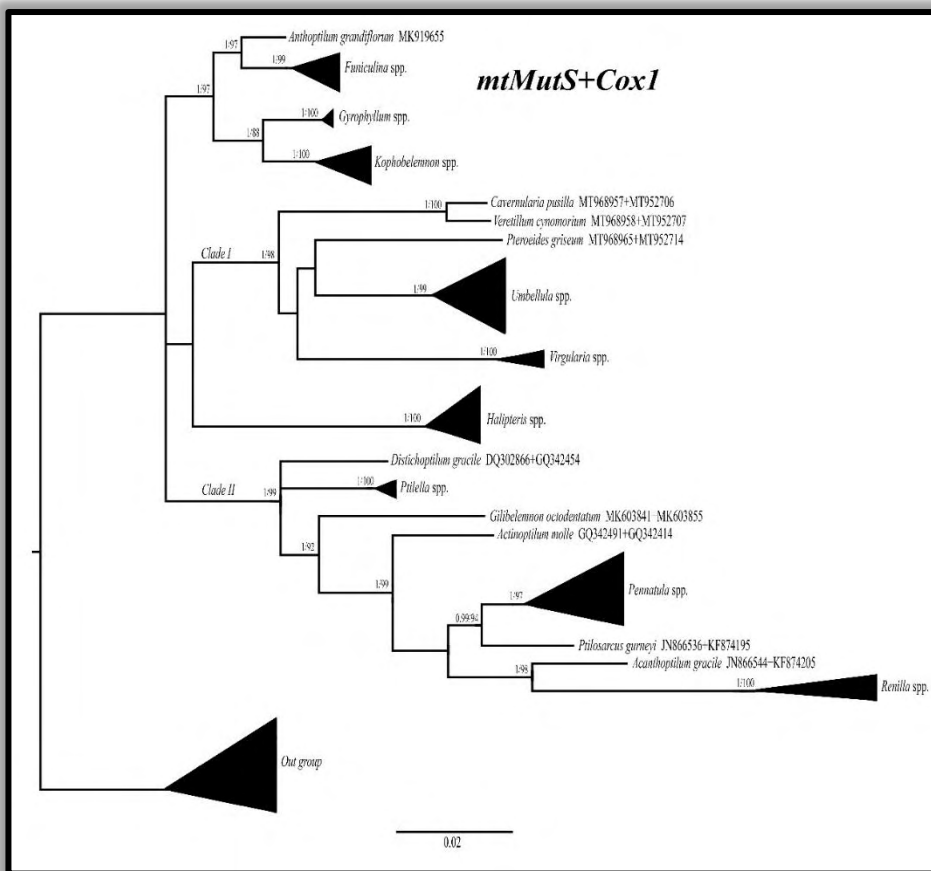


Figura S1.4. Relaciones filogenéticas en el Orden Pennatulacea basadas en el método de máxima verosimilitud para los marcadores mitocondriales concatenados *mtMutS+cox1*. Valores de soporte de probabilidad posterior y bootstrap están indicados sobre los nodos. Ver la Tabla 1.1 para las especies y números de acceso de Genbank utilizados en este árbol.

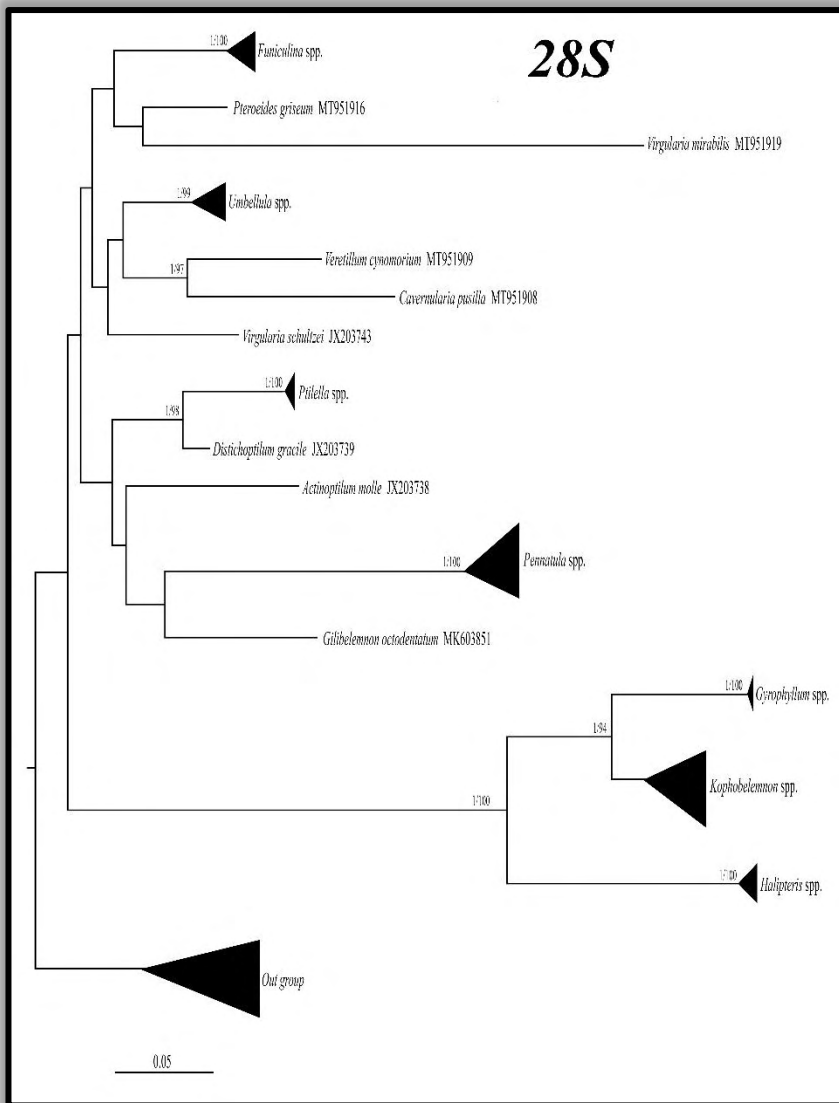


Figura S1.5. Relaciones filogenéticas en el Orden Pennatulacea basadas en el método de máxima verosimilitud para el marcador individual 28S. Valores de soporte de probabilidad posterior y bootstrap están indicados sobre los nodos. Ver la Tabla 1.1 para las especies y números de acceso de Genbank utilizados en este árbol.

Tabla S1.1. Diferente composición del Clado III según los marcadores y métodos filogenéticos utilizados. G = *Gyrophyllum*; K = *Kophobelemnon*; F = *Funiculina*; H = *Halipteris*; ML = método de Máxima Verosimilitud; BI = Inferencia Bayesiana.

Marcadores	CLADE III // out		Source
	ML	BI	
<i>Cox1+mtMutS+28S</i>	G-(K-F) // H	(G-K)-H // F	Presente estudio (Fig. 1.1)
<i>MutS</i>	G-(K-F) // H	G-(K-F) // H	Presente estudio (Fig. S1.2)
<i>Cox1</i>	G-K // F-H	G-K // F-H	Presente estudio (Fig. S1.3)
<i>Cox1+mtMutS</i>	(G-K)-F // H	(G-K)-F // H	Presente estudio (Fig. S1.4)
<i>28S</i>	(G-K)-H // F	(G-K)-H // F	Presente estudio (Fig. S1.5)
<i>mtMutS+ND2</i>	G-(K-F) // H	G-(K-F) // H	Dolan <i>et al.</i> 2013; Kushida & Reimer 2019

Tabla S1.2. Resultados de las comparaciones del modelo de reloj molecular.

Modelo	Marginal Likelihood	Bayes factor
Relaxed Log Normal	-13209.7	5.6
Relaxed Exponential	-13215.3	209.2
Strict	-13424.5	1161.2
Random Local	-14585.7	-

Table S1.3. Números de acceso de GenBank de las secuencias *mtMutS* usadas en la Figure S1.2.

Especies	<i>mtMutS</i>	Species	<i>mtMutS</i>
<i>Acanthoptilum gracile</i>	JN866544	<i>Pteroeides</i> sp.	DQ302871
<i>Actinoptilum molle</i>	GQ342491	<i>Pteroeides griseum</i>	MT968965
<i>Anthoptilum</i> sp.1	MK919656	<i>Pteroeides caledonicum</i>	MK133429
<i>Calibelemnon</i> sp.	MK133473	<i>Pteroeides</i> sp.1	MK133370
<i>Cavernularia pusilla</i>	MT968957	<i>Pteroeides</i> sp.2	MK133387
<i>Cavernulina</i> sp.1	MK133372	<i>Pteroeides</i> sp.2	MK133452
<i>Cavernulina</i> sp.2	MK133439	<i>Pteroeides</i> sp.3	MK133371
<i>Distichoptilum gracile</i>	KF313843	<i>Pteroeides</i> sp.4	MK133467
<i>Distichoptilum gracile</i>	DQ302866	<i>Pteroeides</i> sp.5	MK133521
<i>Distichoptilum gracile</i>	MK919657	<i>Pteroeides</i> sp.6	MK133527
<i>Echinoptilum macintoshi</i>	MK133436	<i>Ptilella grandis</i>	MK603844
<i>Funiculina armata</i>	KF313833	<i>Ptilella grayi</i>	MK603846
<i>Funiculina quadrangularis</i>	JN866526	<i>Ptilosarcus gurneyi</i>	JN866521
<i>Funiculina quadrangularis</i>	JN866545	<i>Renilla muelleri</i>	DQ297432
<i>Funiculina quadrangularis</i>	MK919658	<i>Renilla reniformis</i>	EU293803
<i>Funiculina</i> sp.	JN227941	<i>Renilla</i> sp.	GQ342526
<i>Funiculina</i> sp.1	MT968959	<i>Renilla</i> sp.	MK133484
<i>Funiculina</i> sp.2	MT968960	<i>Sclerobelemnon</i> sp.	MK133376
<i>Gilibelemnon octodentatum</i>	MK603841	<i>Sclerobelemnon theseus</i>	DQ311679
<i>Gyrophyllum hironellei</i>	MT968964	<i>Scleroptilum grandiflorum</i>	KF313847
<i>Gyrophyllum hironellei</i>	KY039182	<i>Scytalium martensi</i>	MK133361
<i>Gyrophyllum</i> sp.	DQ302869	<i>Scytalium</i> sp.1	MK133363
<i>Gyrophyllum</i> sp.	KF313845	<i>Stachyptilum dofleini</i>	MK133401
<i>Gyrophyllum</i> sp.	KF313846	<i>Stylatula elongata</i>	JX023275
<i>Halipteris californica</i>	JN866560	<i>Umbellula carpenteri</i>	KF313848
<i>Halipteris californica</i>	JN866542	<i>Umbellula encrinus</i>	KF313849
<i>Halipteris finmarchica</i>	DQ302868	<i>Umbellula huxleyi</i>	KF313850
<i>Halipteris finmarchica</i>	KF313835	<i>Umbellula huxleyi</i>	MK919668
<i>Halipteris</i> cf. <i>finmarchica</i>	MK919659	<i>Umbellula huxleyi</i>	MT968966
<i>Halipteris willemoesi</i>	JN866533	<i>Umbellula magniflora</i>	KF313851
<i>Halipteris</i> sp.	MT968961	<i>Umbellula</i> sp.	JN866562
<i>Kophobelemnon macrospinum</i>	DQ302865	<i>Umbellula</i> sp.	JN866532
<i>Kophobelemnon pauciflorum</i>	KF313836	<i>Umbellula</i> sp.	JN227908
<i>Kophobelemnon</i> sp.1	KF313837	<i>Umbellula</i> sp.	DQ302867
<i>Kophobelemnon</i> sp.1	MK919660	<i>Umbellula</i> sp. 1	MK919669
<i>Kophobelemnon</i> sp.1	MT968962	<i>Umbellula</i> sp. 3	MK919672
<i>Kophobelemnon</i> sp.2	KF313838	<i>Umbellula</i> sp. A	MT968967
<i>Kophobelemnon</i> sp.2	MT968963	<i>Umbellula</i> sp. B	MT968968
<i>Kophobelemnon</i> sp.3	KF313839	<i>Umbellula</i> sp.1	KF313855
<i>Kophobelemnon</i> sp.3	MK919661	<i>Umbellula</i> sp.2	KF313856
<i>Kophobelemnon</i> sp.4	MK919662	<i>Umbellula</i> sp.2	MK919670
<i>Pennatula rubra</i>	MK603845	<i>Umbellula thomsoni</i>	KF313853

<i>Pennatula aculeata</i>	MK919663	<i>Umbellula thomsoni</i>	KF313854
<i>Pennatula aculeata</i>	KF313840	<i>Umbellula monocephalus</i>	KF313852
<i>Pennatula murrayi</i>	KF313842	<i>Veretillum cynomorium</i>	MT968958
<i>Pennatula phosphorea</i>	MK603848	<i>Veretillum</i> sp.1	MK133435
<i>Pennatula phosphorea</i>	JN866531	<i>Veretillum</i> sp.2	MK133526
<i>Pennatula phosphorea</i>	KF313841	<i>Virgularia</i> cf. <i>gustaviana</i>	MK133518
<i>Pennatula phosphorea</i>	KX904975	<i>Virgularia</i> cf. <i>halisceptrum</i>	MK133359
<i>Pennatula</i> cf. <i>phosphorea</i>	MK133428	<i>Virgularia</i> cf. <i>rumphi</i>	MK133423
<i>Pennatula</i> sp.	DQ302870	<i>Virgularia mirabilis</i>	MT968969
<i>Pennatula</i> sp.	MK603849	<i>Virgularia mirabilis</i>	KF313857
<i>Protoptilum carpenteri</i>	MK919667	<i>Virgularia mirabilis</i>	KF313858
<i>Protoptilum</i> sp.	DQ297431	<i>Virgularia mirabilis</i>	MK919673
<i>Protoptilum</i> sp.	EU293804	<i>Virgularia schultzei</i>	GQ342527
<i>Protoptilum</i> sp.	KF313844	<i>Virgularia</i> sp.1	MK133378
<i>Virgularia</i> sp.10	MK133462	<i>Nicella carinata</i>	KF803720
<i>Virgularia</i> sp.3	MK133393	<i>Nicella obesa</i>	KF803727
<i>Virgularia</i> sp.4	MK133400	<i>Nicella toeplitzae</i>	KF803730
<i>Virgularia</i> sp.5	MK133410	<i>Nicella</i> sp.	KC788269
<i>Virgularia</i> sp.7	MK133424	<i>Nicella</i> sp.	KF803728
<i>Virgularia</i> sp.9	MK133449	<i>Nicella</i> sp.	KC788269
OUTGROUP		<i>Nicella</i> sp.	KF803729
<i>Ellisella</i> sp.	JN227994	<i>Verrucella</i> sp.	DQ302864
<i>Ctenocella barbadensis</i>	AY533651	<i>Viminella flagellum</i>	KF803745
<i>Ctenocella schmitti</i>	JN227995	<i>Viminella</i> sp.	GQ342493
<i>Nicella americana</i>	KF803719	<i>Viminella</i> sp.	JX203794

1.8 La filogenia de pennatuláceos en el momento actual

Desde la publicación del estudio filogenético (García-Cárdenas *et al.* 2020) y hasta el momento presente (primavera 2022), son varias las aportaciones que se han sucedido en el Orden Pennatulacea, desde la descripción de nuevas especies y géneros, al incremento de nuevas secuencias en Genbank y la adición de nuevos marcadores moleculares. Por tanto, se vuelve interesante incluir aquí la filogenia más reciente publicada (Fig. A1, adaptada de López-González & Drewery 2022 y López-González *et al.* 2022) y discutir las diferencias con la nuestra publicada en 2020.

1.8.1 Marcadores moleculares

Nuestra filogenia está basada en el barcode más robusto y fiable propuesto para octocorales, formado por dos genes mitocondriales (*mtMuts* y *Cox1*) y el marcador nuclear (ARNr *28S*). La nueva filogenia se obtuvo con la adición de otro marcador mitocondrial (*ND2*), ya usado en anteriores filogenias de pennatuláceos (Dolan *et al.* 2013) pero no junto a *Cox1* o *28S*. Esta adición forma la secuencia multiloci *mtMuts+ND2+ Cox1+28S* que parece ofrecer una mejor resolución en determinados puntos de divergencia pobremente resueltos en filogenias anteriores basada en dos segmentos mitocondriales (*MutS+ND2*) o aquellas dos mitocondriales y uno nuclear (*MutS+Cox1+28S*) (como el soporte de los clados III y IV, Fig. A1).

1.8.2 Clados

Clado I

El clado I presenta un soporte alto (bst>90, PP>0.95) en ambas filogenias. Las principales agrupaciones de las secuencias no varían. En la filogenia actual, la incorporación de las nuevas secuencias atribuidas a *Umbellula encrinus* (especie-

tipo de *Umbellula*), *U. magniflora* y *U. thomsoni*, refuerza el grupo de las umbélulas, a la espera de una nueva separación entre las umbélulas sin escleritos (incluyendo a *U. encrinus*) y las *Umbellulas* con escleritos (que estará formado por el momento sólo por *Umbellula thomsoni*, López-González com. pers.). La extraña secuencia de *Calibelemnon hinoenma* se sitúa entre las especies de *Umbellula* y las secuencias de *Anthoptilum*. Yuka Kushida se encuentra secuenciando marcadores adicionales para *C. hinoenma*, lo que permitirá a corto plazo un mejor emplazamiento para esta especie y género (López-González com. pers.).

El grupo de los veretílidos se amplía incorporando dos secuencias muy relacionadas, una secuencia atribuida a *Cavernulina* sp., y otra fuertemente unida de *Sclerobelemnon theseus*. Esto implica que para mantener la familia Veretillidae monofilética, este último género debería ser incorporado a la familia, para que no se vuelva parafilética.

El grupo que incluye las especies de *Pteroeides* se afianza con la adición de *Pt. caledonicum*, al igual que ocurre con su grupo hermano formado por las especies del género *Virgularia*, que queda reforzado con las secuencias tentativas de *V. cf. halisceptrum*, *V. cf. rumphi* y *V. cf. gustaviana*.

Clado II

El clado II continúa siendo el más problemático desde un punto de vista taxonómico, por incluir morfologías muy dispares que impiden o dificultan la delimitación de agrupaciones taxonómicas supragenéricas.

Las nuevas secuencias atribuidas a *Echinoptilum macintoshi* y *Stachyptilum dofleini* se sitúan con escaso soporte entre *Gilibelemnon octodentatum* y la robusta agrupación formada por *Pennatula*, *Ptilosarcus*, *Acanthoptilum* y *Renilla*. El nuevo género, *Alloptilella* (con una sola especie *A. splendida*) se sitúa como grupo hermano de las secuencias de *Scytalium* (*S. herklotsi*, *S. martensi* y *S. veneris*). Estos dos géneros se unen con alto soporte y forman el grupo hermano de *Distichoptilum* y *Ptilella*. En *Ptilella*, la obtención de secuencias de *Pt. inflata*

(que en nuestro estudio no se logró, y fue tentativamente situada dentro de *Ptilella* por compartir caracteres morfológicos) confirmó su localización dentro del género *Ptilella* con un alto soporte (bst>90, PP>0.95). En la base de este clado II se sitúan las secuencias hermanas de *Protoptilum carpenteri* y *Stylatula elongata*, con un relativo soporte (bst>50, PP>0.60).

Clado III

En nuestra filogenia, el clado III solo queda soportado al usar la máxima verosimilitud (ML, bst = 96), mientras que la filogenia basada sólo en Inferencia Bayesiana (IB) aleja al grupo de las especies de *Funiculina*, y muestra unificado con bajo soporte al grupo formado de *Gyrophyllum*, *Kophobelemnon* y *Halipteris* (*Balticina*, en adelante).

En la filogenia actual, sin embargo, el clado III queda bien definido y soportado mediante IB (PP=1). El género *Funiculina* (incluyendo la nueva secuencia *F. armata*) queda bien soportado, al igual que ocurre con el género *Gyrophyllum* (incluyendo la nueva secuencia *G. sibogae*). En el caso de *Kophobelemnon*, una extraña secuencia se separa del resto (*Kophobelemnon* sp. 4), apareciendo como grupo hermano del resto de secuencias de *Kophobelemnon* (incluyendo la nueva secuencia *K. pauciflorum*) y *Gyrophyllum*.

Clado IV

Finalmente, el clado IV solo se mantuvo en nuestra filogenia mediante ML (bst = 60), formado por las secuencias de *Balticina* y una secuencia de *Umbellula* sp. 2.

En la filogenia actual, el clado IV se muestra relativamente soportado (bst>65; PP=0.85) y queda constituido por *Balticina* unida a la nueva secuencia de *Scleroptilum grandiflorum*, y ambos géneros como grupo hermano de los nuevos géneros *Solumbellula* (*S. monocephalus*) y *Pseudoumbellula* (incluyendo las secuencias de *P. pomona*, *P. scotiae*, *Pseudoumbellula* sp.).

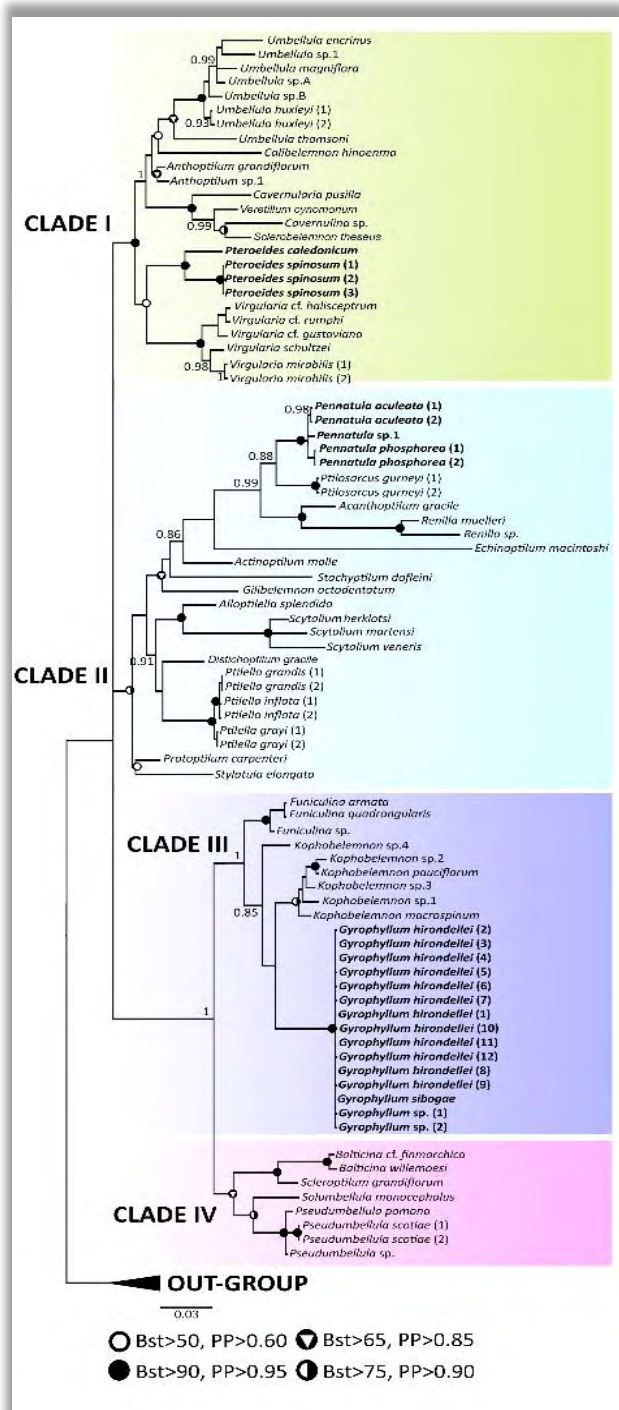


Figura S1.6. Filogenia molecular de pennatuláceos basada en *mtMutS+ND2+COI+28S*

(árbol filogenético adaptado de López-González & Drewery 2022 y López-González *et al.* 2022)

1.8.3 Notas sobre el análisis del Tiempo de Divergencia

Posteriormente a nuestro análisis del tiempo de divergencia en pennatuláceos (García-Cárdenas *et al.* 2020), donde situábamos el origen de este grupo de octocorales a principio del Cretácico (~145 Ma), algunos trabajos relacionados han sido publicados hasta el momento presente.

El estudio paleoclimático de Quattrini *et al.* (2020) que compara la evolución de los corales y sus esqueletos a través del tiempo profundo, usó una filogenia molecular calibrada en el tiempo para datar la división del Orden Pennatulacea dentro del clado Calcaxonia-Pennatulacea. Quattrini *et al.* (2020) situaron el origen de los pennatuláceos en el Devónico tardío (~ 380 Ma), basándose en el origen de sus ejes de calcita altos en Mg, que los emplazaba en los mares de calcita del Paleozoico temprano (>400 Ma). Esta aproximación fue consistente con la que posterior aportación de McFadden *et al.* (2021), en un trabajo general sobre paleogenómica en antozoos, en el cual la agrupación de pennatuláceos fue datada a mediados del Carbonífero (~330 Ma), y la división de las familias calcaxonias Isididae y Chrysogorgiidae en el Triásico temprano (~250 Ma). Sin embargo, el recién publicado trabajo de Goedert *et al.* (2022), indica que el registro fósil de los ejes de calcita altos en Mg de las plumas de mar (Figura S1.7) solo se remontaría al Cretácico superior (66-100 Ma).

A pesar de que Goedert *et al.* (2022) dudan de la validez de nuestro punto de calibración basado en *Virgularia presbytes* Bayer, 1955 [en base al trabajo de Häntzschel (1958), quien pone en duda la veracidad del fósil de Bayer y sugiere que sea una traza de fósil en vez de un octocoral, véase Goedert *et al.* (2022: 10)], como ellos mismos indican, “el origen sugerido en el Cretácico Inferior para Pennatulacea [por García-Cárdenas *et al.* 2020] concuerda mucho mejor con el registro fósil, que el origen en el Paleozoico Temprano indicado por Quattrini *et al.* (2020) y McFadden *et al.* (2021) y es consistente con un origen de los ejes de calcita altos en Mg de los pennatuláceos dentro de la época de los mares de calcita (Balthasar & Cusack 2015)”.

Naturalmente estas cuestiones siguen abiertas a la adición de nuevos descubrimientos tanto en el registro fósil como en un mejor muestreo molecular para completar género y especies aún sin datos, y que nos permitan también diferentes velocidades de especiación en el grupo.

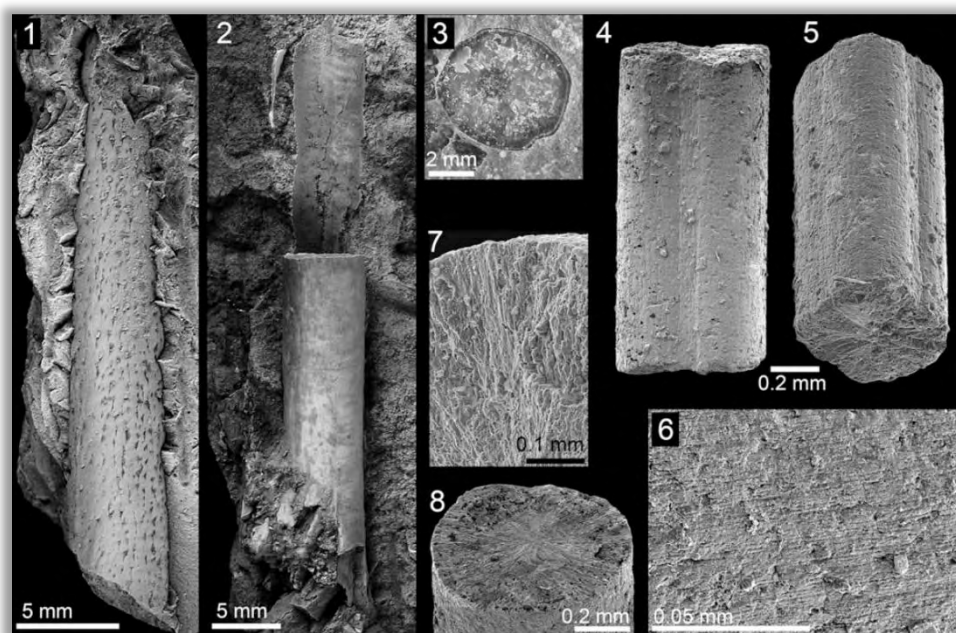


Figura S1.7. Pennatuláceos fósiles de estratos del Eoceno tardío-Oligoceno. (1–3) ‘*Graphularia*’ (?) aff. sasai Yabe, 1955; (4–8) ‘*Graphularia*’ sp.; (7, 8) espécimen con sección transversal casi circular y una disposición interna radial de cristales (imagen tomada de Goedert *et al.* 2022).

Referencias citadas

- Balthasar U., Cusack M. 2015. Aragonite-calcite seas-Quantifying the gray area: *Geology*, v. 43, p. 99–102.
- Goedert J.L., Guthrie L.S., Kiel S. 2022. Octocorals (Alcyonacea and Pennatulacea) from Paleogene deep-water strata in western Washington State, USA. *Journal of Paleontology*, 1-13.
- Häntzschel W. 1958. Oktokoralle oder Lebensspur?: *Mitteilungen aus dem Geologisch-Paläontologischen Institut der Universität Hamburg*, v. 27, p. 77–87.
- López-González P.J., Drewery, J. 2022. When distant relatives look too alike: a new family, two new genera and a new species of deep-sea *Umbellula*-like sea pens (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea). *Invertebrate Systematics*, 36(3): 199-225.

- López-González P.J., Drewery J, Williams G.C. 2022. A new family for the enigmatic sea pen genus *Gyrophyllum* Studer, 1891 (Octocorallia, Pennatulacea), a molecular and morphological approach. *European Journal of Taxonomy*,___
- McFadden C.S., Quattrini A.M., Brugler M.R., Cowman P.F., Dueñas L.F., Kitahara M.V., Paz-García D.A., Reimer J.D., Rodríguez E. 2021, Phylogenomics, origin, and diversification of anthozoans (phylum Cnidaria): *Systematic Biology*, v. 70: 635–647.
- Quattrini A.M., Rodríguez E., Faircloth B.C., Cowman P.F., Brugler M.R., Farfan G.A., Hellberg M.E., Kitahara M.V., Morrison C.L., Paz-García D.A., Reimer J.D., McFadden C.S. 2020. Palaeoclimate ocean conditions shaped the evolution of corals and their skeletons through deep time: *Nature Ecology & Evolution*, v. 4, p. 1531–1538.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

CAPÍTULO SEGUNDO

2 ESTUDIO TAXONÓMICO

SCIENTIA MARINA 83(3)

September 2019, 261-276, Barcelona (Spain)

ISSN-L: 0214-8358

<https://doi.org/10.3989/scimar.04845.26A>

Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia: Pennatulacea)

Francisco J. García-Cárdenas¹, Jim Drewery², Pablo J. López-González¹¹ Biodiversidad y Ecología Acuática, Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain.(FIG-C) (corresponding author) E-mail: frangarc@us.es, ORCID-ID: <https://orcid.org/0000-0002-1503-9552> (P.J.L-G) E-mail: pjlopez@us.es, ORCID-ID: <https://orcid.org/0000-0002-7348-6270>² Marine Scotland Science, Marine Laboratory, 375 Victoria Road, Aberdeen, Scotland, UK, AB11 9DB. (JD) E-mail: jim.drewery@gov.scot, ORCID-ID: <https://orcid.org/0000-0003-4308-1798>

Summary: The order Pennatulacea covers a group of specialized and morphologically distinct octocorals found in all oceans from intertidal areas to more than 6000 m in depth. Sea pens constitute an important structural component in marine soft-bottom communities by increasing the complexity of these environments. Despite being both morphologically distinctive and ecologically important, the taxonomy and systematics of sea pens is still poorly understood. Recent molecular studies have shown the existence of convergent morphological features, making the current familial distribution of genera unstable. The genus *Pennatula* Linnaeus, 1758 was one of the first described octocoral genera. It is the type genus of its family, Pennatulidae. Colonies of this genus have a characteristic morphology. Recent sampling efforts in the northeastern Atlantic have provided a number of colonies initially attributable to the genus *Pennatula*. Both morphological and molecular (*mtMut5*, *Cox1* and 28S genes) study of this material supports the polyphyletic nature of this genus and the need to resurrect the genus *Ptilella* Gray, 1870 to accommodate these and other species. A new species, *Ptilella grayi* n. sp., is described and illustrated. The species *Pennatula bayeri* is proposed to be a junior synonym of *Pennatula bellissima* (here also considered in the genus *Ptilella*).

Keywords: NE Atlantic; Pennatulacea; *Ptilella grayi*; sea pen; new species.

Resurrección del género de pluma de mar *Ptilella* Gray, 1870, y descripción de *Ptilella grayi* n. sp. del Atlántico NE (Octocorallia: Pennatulacea)

Resumen: El orden Pennatulacea abarca a un grupo de octocorales especializados y morfológicamente diferenciados, distribuidos por todos los océanos, desde las zonas intermareales hasta más de 6000 metros de profundidad. Las plumas de mar constituyen un importante componente estructural en las comunidades marinas de fondo blando, incrementando la complejidad de estos ambientes. A pesar de ser característicos morfológicamente, e importantes ecológicamente, la taxonomía y la sistemática de las plumas de mar es aún pobremente conocida. Recientes estudios moleculares han mostrado la existencia de características morfológicas convergentes, haciendo inestable la actual distribución familiar de los géneros. El género *Pennatula* Linnaeus, 1758, fue uno de los primeros géneros de octocorales descritos. Es el género tipo de su familia, Pennatulidae. Las colonias de este género tienen una morfología característica. Los recientes esfuerzos de muestreo en el noreste Atlántico han proporcionado un número de colonias inicialmente atribuibles al género *Pennatula*. Tanto el estudio morfológico como molecular (genes *mtMut5*, *Cox1* y 28S) de este material respaldan la naturaleza polifilética de este género, y la necesidad de resucitar al género *Ptilella* Gray, 1870 para acomodar a éstas y otras especies. Una nueva especie, *Ptilella grayi* n. sp., es descrita e ilustrada. La especie *Pennatula bayeri* es propuesta como sinónimo reciente de *Pennatula bellissima* (aquí también considerada en el género *Ptilella*).

Palabras clave: noreste Atlántico; Pennatulacea; *Ptilella grayi*; pluma de mar; nueva especie.

Citation/Como citar este artículo: García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia: Pennatulacea). Sci. Mar. 83(3): 261-276. <https://doi.org/10.3989/scimar.04845.26A>

LSID: <http://zoobank.org/urn:lsid:zoobank.org:pub:2E460301-B5FC-43E5-8393-9D803E034D02>

Editor: D. Vaqué.

Received: August 22, 2018. **Accepted:** June 7, 2019. **Published:** July 9, 2019:

Copyright: © 2019 CSIC. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International (CC BY 4.0) License.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

2.1 Introducción

La fauna de antozoos procedente de zonas marinas profundas todavía es poco conocida, a pesar de los recientes esfuerzos internacionales que han mejorado nuestro conocimiento general de la diversidad y ecología de las comunidades bentónicas marinas profundas. Las plumas de mar son un grupo de octocorales especializados y morfológicamente distintivos hallados en todos los océanos, desde zonas intermareales hasta más de 6000 m de profundidad (Bayer 1956, Williams 2011). El Orden Pennatulacea incluye más de 200 especies en 36 géneros y 14 familias (Williams 1995, López-González *et al.* 2001, López-González & Williams 2002, Williams 2015). Las plumas de mar constituyen un importante componente estructural en las comunidades marinas de fondo blando, aumentando la complejidad de estos ambientes en un papel similar a ese de otros grupos de corales como gorgonias o escleractinias, los cuales son típicamente hallados sobre un sustrato más rocoso (Sale 1977, Done 1999). La importancia ecológica de las recientemente descubiertas “**plumas de rocas**” (Williams & Alderslade 2011) está aún por ser evaluada, aunque ellas potencialmente podrían también contribuir de forma similar a escleractinias y gorgonias aportando otro nicho medioambiental mas en fondos rocosos. Es más, se ha demostrado que las plumas de mar son a menudo usadas como un refugio o guarderías para fauna demersal (Sammarco & Coll 1992, Baillon *et al.* 2012). La importancia ecológica de los lechos de plumas de mar es internacionalmente reconocida, con éstos siendo incluidos en las listas rojas de ambientes marinos amenazados por las actividades antropogénicas (ver Comisión OSPAR 2010).

Entre las plumas de mar, el género *Pennatula* Linnaeus, 1758 fue uno de los primeros géneros de octocorales descritos. Éste es el género-tipo de su propia familia, Pennatulidae. Las colonias asignadas a este género exhiben una alta consistencia de caracteres morfológicos, siendo típicamente en forma pinnada (forma de

pluma), con hojas polipíferas bien desarrolladas, con zooides polimórficos. Los autozooides están dispuestos a lo largo del borde ventral de las hojas polipíferas, así como los sifonozooides y a veces los mesozooides están en la base de las hojas polipíferas o sobre el raquis, y con los escleritos a lo largo de la colonia principalmente como agujas trialadas (ver Kükenthal 1915, Williams 1995a).

Recientes estudios moleculares en octocorales han identificado al Orden Pennatulacea como un grupo monofilético (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013; Kushida & Reimer 2019). Sin embargo, la monofilia de las varias agrupaciones familiares y suprafamiliares de pennatuláceos que han sido propuestas históricamente ha sido recientemente cuestionada por estos mismos estudios moleculares (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019).

Aunque Dolan *et al.* (2013: 615) no descartaron la posible monofilia de algunos géneros como *Kophobelemnon*, *Pennatula* es claramente identificada como polifilética, sugiriendo la necesidad de una redefinición de este género. Esto aportará una solución al actual problema de que los criterios morfológicos usados para identificar a los miembros del género *Pennatula* se han encontrado que solo resuelven pobremente sus relaciones filogenéticas cuando se compararon con los análisis basados en las secuencias de datos de ADN (ver Dolan *et al.* 2013: 614-615). Más recientemente (Kushida & Reimer 2019), los géneros *Umbellula*, *Pennatula* y *Kophobelemnon* fueron también mostrados como grupos polifiléticos. Cuando se detecta un grupo polifilético o parafilético desde la evidencia molecular, los caracteres morfológicos son reexaminados para identificar aquellos caracteres concordantes con los clados moleculares, y resolver situaciones homoplásicas potenciales de acuerdo con las reglas nomenclaturales (Lowther *et al.* 2004, Fleck *et al.* 2008). La delimitación de agrupaciones monofiléticas y el establecimiento de sus relaciones es un problema común en investigación en biología evolutiva (por ejemplo Weeeler & Nixon 1990, Crisp & Chandler 1996, Brummitt 2002, entre muchos otros).

La concepción actual del género cosmopolita *Pennatula* incluye al menos 14 especies válidas (Williams 2011). Sin embargo, algunas de estas especies tienen descripciones basadas en un único y frecuentemente mal conservado espécimen, o en especímenes carentes de aquellas características actualmente en uso para diagnosis fiables (Kölliker 1880, Kükenthal 1915, Hickson 1916).

En años recientes el componente bentónico de una serie de campañas llevadas a cabo en el noreste Atlántico por la Marina Científica Escocesa (*Marine Scotland Science*, MSS) ha proporcionado una interesante colección de pennatuláceos, muchos de los cuales han formado la base para este estudio. El material examinado fue recolectado durante el período 2007-2016 durante varias campañas de arrastre demersal llevadas a cabo por la MSS a bordo del buque de investigación MRV *Scotia*.

En este estudio, ciertas colonias inicialmente atribuidas a dos formas cromáticas de la especie del noreste Atlántico *Pennatula grandis* Ehrenberg, 1834 fueron recolectadas. Sin embargo, el estudio morfológico y molecular detallado de estos especímenes resaltó diferencias, sugiriendo una mayor consideración del actual género *Pennatula* como una agrupación polifilética. Se discute la ubicación del género de la especie de Ehrenberg y la necesidad de la resurrección de un género de plumas de mar olvidado, y se propone una nueva especie.

2.2 Métodos

2.2.1 Muestreo

El material estudiado fue recolectado usando una gran red de arrastre demersal (suplementada ocasionalmente con una pequeña red de engranaje de suelo que fue desplegada directamente debajo de la red principal desplegada) sobre bancos y terrazas al oeste de las *Outer Hebrides*, Escocia, durante la campaña *Rockall Haddock Survey* (2010), *OFFCON Rockall Survey* (2011), *Rockall Anglerfish Survey*

(2010, 2013 y 2014) y *Deepwater Time Series* (2008, 2009 y 2011), y hacia el noreste de Escocia durante el *North Sea Anglerfish Survey* (2012). Adicionales aportaciones procedentes de campañas similares durante el período 2005-2016 son usadas para mejorar la distribución conocida (Figura 2.1; Material suplementario Tabla S2.1). En general, estas campañas cubrieron un rango de profundidad de 42 a 2145 m.

Todo el material analizado procedente de los cruceros *Scotia* fue recolectado usando una red de arrastre de peces demersales con tanto el extremo como el cuerpo completo de la red siendo minuciosamente examinado en busca de especímenes después de cada despliegue. Pennatuláceos de todos los tipos, incluyendo los nuevos especímenes estudiados aquí, fueron raramente registrados en el extremo aunque comunmente encontrado enredados en las alas o vientre de la red. Las observaciones durante un total de 1541 lanzamientos de arrastre fueron utilizadas para proporcionar datos de distribución sobre el género. Datos de temperaturas cercanos al fondo marino fueron registrados utilizando tanto un despliegue vertical del perfilador Seabird 19+ CTD como un registrador Star-Oddi DST montado en el encabezado de la red. Ambos dieron temperaturas del agua dentro de 3 a 5 m del fondo marino. La información relevante sobre materiales y estaciones de muestreo de estos y otro material comparativo utilizado en este estudio es compilado en la Tabla 2.1.

Las colonias de pennatuláceos fueron clasificadas, etiquetadas y fijadas en formalina tamponada (5% en agua de mar). Tras el período de fijación, las colonias fueron preservadas en etanol 70%. Un cierto número de colonias se fijó directamente en etanol 100% para estudios moleculares adicionales.

Con fines comparativos, se examinó también la morfología de especies adicionales de *Pennatula*. Estas colonias fueron recolectadas durante varias campañas bentónicas y en diferentes áreas geográficas: Antártida (BIROSS), el noreste Atlántico-Ártico (BIOICE), el noreste Atlántico (cruceros *Scotia*, INDEMARES

Chica), el sureste Atlántico (BENGUELA VIII), y el Mediterráneo (INDEMARES Alborán). Una submuestra de éstas fue secuenciada (Tabla 2.2).

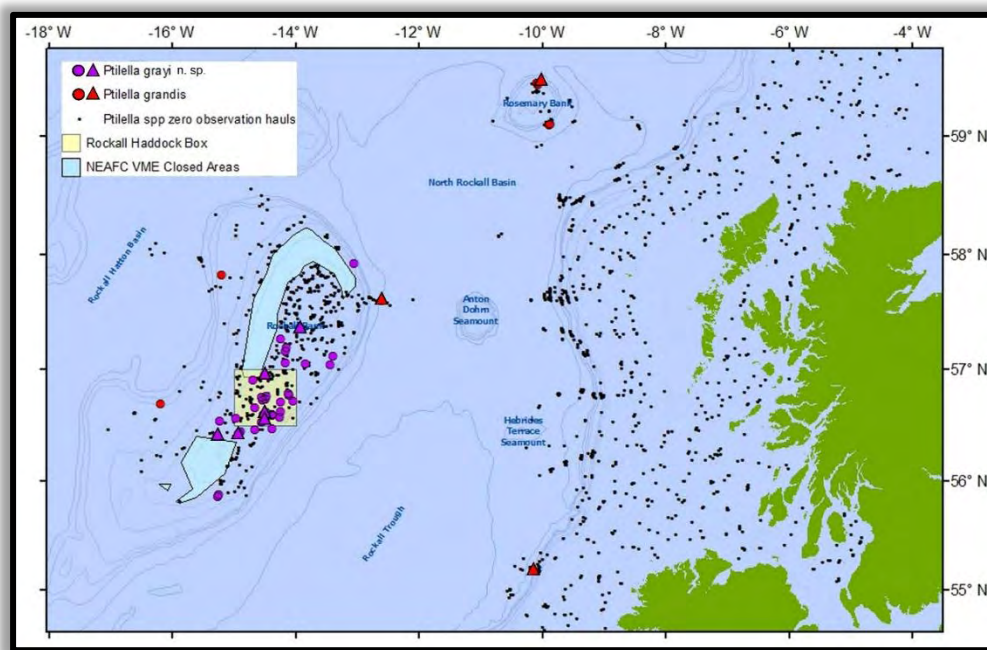


Figura 2.1. Distribución conocida de *Ptiliella grayi* n. sp. (símbolos violetas) y *Ptiliella grandis* (símbolos rojos) en el área de estudio y lances sin hallazgos (puntos negros). Los símbolos representan los puntos medios aproximados de los lances. Los círculos indican estaciones de muestreo donde las especies sólo fueron registradas, mientras que los triángulos indican las estaciones de muestreo donde las especies fueron registradas y examinadas durante el curso de este estudio. Mapa © Crown copyright.

El material de los cruceros *Scotia* referido aquí es depositado en el Museo Nacional de Escocia (NMS), en el Museo de Historia Natural de Londres (NHM), en el Museo de Zoología de Barcelona (MZB), y en la colección del grupo de investigación Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla (BECA).

Tabla 2.1. Datos de muestreo asociados con el material Atlántico de *Ptilella* comparado en este documento. Abreviaturas: NMS, Museo Nacional de Escocia; MZB, Museo de Zoología de Barcelona; NHM, Museo de Historia Natural de Londres; BECA, Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla; n.a., no disponible; i.c., colonia incompleta. Nótese que la última columna no fue incluida en la publicación.

Especie	Statu	Código de registro	Evento	Cruzada no. (ano)	Áreas y coordenadas (Inicio-Fin)	Range (m)	Fecha	Nº Colonias (Long-Totals, mm)	Otros coligios
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.	Epitipo	NMS.Z.2019.2.1	Rockall Tracklock Survey 2011	10115 (S11426)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°32.63'N 14°30.92'W 56°33.97'N 14°28.78'W	198-202	30 Ago 2011	1 (471)	2011A13 G 140
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.	Paratipo	NMS.Z.2019.2.1	Rockall Anglerfish Survey 2010	04015 (S10150)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°23.22'N 15°14.67'W 56°22.91'N 15°16.75'W	246-261	6 Abr 2010	1 (254)	2010M1 G 20
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.	Paratipo	NMS.Z.2019.2.1	Rockall Tracklock Survey 2011	10115 (S11426)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°32.63'N 14°30.92'W 56°33.97'N 14°28.78'W	198-202	30 Ago 2011	1 (491)	2011A15 G 141
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.	Paratipo	MZB.2018.0761	Rockall Tracklock Survey 2011	10115 (S11426)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°32.63'N 14°30.92'W 56°33.97'N 14°28.78'W	196-202	30 Ago 2011	1 (301)	2011A18
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		NMS.Z.2019.2.4	OPPCON 2012	07125 (S12287)	Rockall Bank, NE Atlántico 57°22.23'N 13°51.87'W 57°21.36'N 13°57.73'W	146-152	24 Jul 2012	1 (705)	OPEN-312 2014A1
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		NMS.Z.2019.2.1	Rockall Anglerfish Survey 2011	24035 (S13371)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°36.59'N 14°26.65'W 56°35.81'N 14°32.89'W	197-199	24 Oct 2011	1 (450)	OPEN-331 2014B4
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		MZB.2018.0762	Rockall Anglerfish Survey 2013	14135 (S13372)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°55.82'N 14°31.33'W 56°58.65'N 14°28.61'W	179-188	24 Oct 2013	1 (450)	OPEN-333 2014E3
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		BECA OPEN-335	Rockall Anglerfish Survey 2013	14135 (S13371)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°36.59'N 14°26.65'W 56°35.81'N 14°32.89'W	197-199	24 Oct 2013	1 (575)	OPEN-335 2014E3
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		NHM UK 2019.1	Rockall Anglerfish Survey 2013	14135 (S13371)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°36.59'N 14°26.65'W 56°35.81'N 14°32.89'W	197-199	24 Oct 2013	1 (570)	OPEN-336 2014E2
<i>Ptilella grisea</i> n. sp.		MZB.2018.0763	Rockall Anglerfish Survey 2013	14135 (S13371)	Rockall Bank, NE Atlántico 56°36.59'N 14°26.65'W 56°35.81'N 14°32.89'W	197-199	24 Oct 2013	1 (545)	OPEN-337 2014E5

<i>Psittula grayi</i> n. sp.		BECA OPEN-33B	Rockall Anglerfish Survey 2013	14139 (811371)	Rockall Bank, NE Atlantic 56°36.6'N 14°26.6'W 56°35.81'N 14°29.89'W	197-199	24 Oct 2013	1 (572)	OPEN-33B 201446
<i>Psittula grayi</i> n. sp.		BECA OPEN-33G	Rockall Anglerfish Survey 2014	04145 (811411)	Rockall Bank, NE Atlantic 56°25.40'N 14°57.57'W 56°26.56'N 14°54.75'W	206-215	14 Abr 2014	1 (c. 1115)	OPEN-33G 20144115
<i>Psittula grayi</i> n. sp.		BECA OPEN-340	Rockall Anglerfish Survey 2014	04149 (811411)	Rockall Bank, NE Atlantic 56°25.40'N 14°57.57'W 56°26.56'N 14°54.75'W	206-215	14 Abr 2014	1 (c. 900)	OPEN-340 20144114
<i>Psittula grandis</i> (Ehrenberg, 1834)		NMS.Z.2010.2.6	Deepwater Time-Series 2008	11085 (808465)	Federbass Skjeps, NE Atlantic 55°13.79'N 10°08.87'W 55°08.49'N 10°10.66'W	1018 3078	14 Sept 2008	1 (256)	201141 c. 69
<i>Psittula grandis</i> (Ehrenberg, 1834)		MZB.2018-0759	OPPCON 2011	07113 (811364)	NE Rockall, NE Atlantic 57°36.37'N 12°36.66'W 57°35.94'N 12°36.98'W	1601 1605	30 Jun 2011	1 (102)	2011412 c. 138
<i>Psittula grandis</i> (Ehrenberg, 1834)		M11MUK.2019.2	North Sea Anglerfish Survey 2012	04128 (812220)	S Norwegian Sea, NE Atlantic 61°55.05'N 02°28.94'E 61°52.66'N 02°34.22'E	390-396	29 Abr 2012	1 (510)	OPEN-33A 201407
<i>Psittula grandis</i> (Ehrenberg, 1834)		BECA OPEN-143	BIOCE	516 (3837)	South Iceland, NE Atlantic 63°54.95'N, 19°17.02'W	1505	1 Sep 2002	1 (114)	OPEN-143 c. 92
<i>Psittula refusa</i> (Kühnthal, 1910)		NMS.Z.2010.2.7	Benguela VII	67	Namibia, SE Atlantic 23°28.03'S 13°05.08'E	418	23 Jul 1985	1 (201)	19741
<i>Psittula refusa</i> (Kühnthal, 1910)		M11MUK.2019.3	Benguela VII	67	Namibia, SE Atlantic 23°28.03'S 13°05.08'E	418	23 Jul 1985	1 (207)	19742
<i>Psittula refusa</i> (Kühnthal, 1910)		MZB.2018.0740	Benguela VII	67	Namibia, SE Atlantic 23°28.03'S 13°05.08'E	418	23 Jul 1985	1 (227)	19743
<i>Psittula hutchinsoni</i> (Fowler, 1880)	Íslóttip	BMNH.11888.C.28.1	n.a.	n.a.	Babauas Island, NW Atlantic	n.a.	01 Feb 1900	1 (170)	

Tabla 2.2. Pennatuláceos incluidos en los análisis filogenéticos moleculares. Las especies en negrita son aquellas secuenciadas en el presente estudio. Nótese que todas las secuencias de GenBank se presentan aquí con los nombres que ellas aparecen en GenBank y en sus publicaciones originales. Abreviaciones: NMS, National Museum Scotland (UK); NHM, Natural History Museum (London, UK); MZB, Museo de Zoología de Barcelona (Spain); BECA, Biodiversidad y Ecología Acuática (Sevilla, España); MBARI, Monterey Bay Aquarium Research Institute (California, U.S.A.); NWFSC, Northwest Fisheries Science Center (Seattle, U.S.A.); NIWA, National Institute of Water and Atmospheric Research (Auckland, New Zealand); NOCS, National Oceanography Centre (Southampton, UK); RMNH, Rijksmuseum van Natuurlijke Historie (Leiden, Netherlands); NTM, Museum and Art Gallery of the Northern Territory (Darwin city, Australia); SCF, Collection of S.C. France (U.S.A.); UF, Florida Natural History Museum (Florida; U.S.A.). n.d.: no data. *: Ambos especímenes proceden del noreste Pacífico. Sin embargo, a pesar de que estos especímenes se identificaron originalmente como *Pennatula phosphorea*, según las hipótesis filogenéticas presentadas en este estudio (ver Fig. 4.5) nosotros consideramos estas identificaciones como dudosas. Nosotros sugerimos estas evidencias como indicativas de una morfoespecie y por tanto merecen investigación adicional. Referencias: (1) McFadden *et al.* 2006; (2) Elz *et al.* sin publicar; (3) Brockman & McFadden 2012; (4) McFadden & van Ofwegen 2012; (5) Everett *et al.* 2016.

Familia / Especies	Número de Catálogo (o información adicional)	Área Geográfica	<i>mtMutS (=msh1)</i>	<i>Cox1</i>	28S
Pennatulidae					
<i>Ptilella grandis</i>	BECA OPEN-143	S Islandia, NE Atlántico	MK603844	MK603860	MK603854
<i>Ptilella grandis</i>	NMS.Z.2019.2.6	Hebridean Slope, NE Atlántico	MK603843	MK882496	MK882494
<i>Ptilella grayi</i> n. sp. (Holotipo)	NMS.Z.2019.2.1	Rockall Bank, NE Atlántico	MK603847	MK882497	MK882495
<i>Ptilella grayi</i> n. sp. (Paratipo)	NMS.Z.2019.2.2	Rockall Bank, NE Atlántico	MK603846	MK603856	MK603853
<i>Pennatula rubra</i>	BECA OPEN-139	Alborán, Mar Mediterráneo	MK603845	MK603857	MK603852
<i>Pennatula phosphorea</i>	BECA OPEN-453	Sea of the Hebrides, NE Atlántico	MK603848	MK603858	MK882492
<i>Pennatula phosphorea</i>	BECA OPEN-454	Golfo de Cádiz, NE Atlántico	MK603850	MK603861	MK882491
<i>Pennatula</i> sp.	BECA OPEN-152	Ross Sea, Antártida	MK603849	MK603859	MK882493
<i>Pennatula phosphorea</i> *	MBARI K2-06-070110-01	USA, E Pacífico	KX904975 ⁵	KX904957 ⁵	
<i>Pennatula phosphorea</i> *	NWFSC 34212-045	USA, E Pacífico	JN866531 ²	KF874190 ²	
<i>Ptilosarcus gurneyi</i>	NWFSC 34212-082	USA, E Pacífico	JN866536 ²	KF874195 ²	
<i>Ptilosarcus gurneyi</i>	NWFSC 34213-020	USA, E Pacífico	JN866540 ²	KF874201 ²	
Virgulariidae					
<i>Acanthoptilum gracile</i>	NWFSC 34210-026	USA, E Pacífico	JN866525 ²	KF874184 ²	
<i>Acanthoptilum gracile</i>	NWFSC 34212-029	USA, E Pacífico	JN866529 ²	KF874188 ²	
Echinoptilidae					
<i>Actinoptilum molle</i>	RMNH Coel.40822	n.d.	GQ342491 ³	GQ342414 ³	JX203738 ⁴
Protoptilidae					
<i>Distichoptilum gracile</i>	NTM C14561	AUS, Tasman Sea	DQ302866 ¹	GQ342454 ³	JX203739 ⁴
Stachyptilidae					
<i>Gilibelmonon octodentatum</i>	BECA OPEN-452	Seymour Island, Antártida	MK603841	MK603855	MK603851
Renillidae					
<i>Renilla muelleri</i>	SCF-FLA	USA, Golfo de México	DQ297432 ¹	NC_018378 ¹	
<i>Renilla</i> sp.	UF4000	Off California coast, Pacífico	GQ342526 ³	GQ342455 ³	
OUTGROUP (Ellisellidae)					
<i>Viminella</i> sp.	RMNH Coel.40813	n.d.	JX203794 ⁴	JX203852 ⁴	JX203703 ⁴
<i>Viminella</i> sp.	RMNH Coel.40032	n.d.	GQ342493 ³	GQ342416 ³	JX203705 ⁴

2.2.2 Estudio de morfología externa y SEM

Escleritos de diferentes partes de las colonias fueron preparados para el estudio de microscopía electrónica (SEM) empleando la metodología estándar descrita por varios autores (por ejemplo Bayer & Stefani 1988), y se realizaron preparaciones permanentes para su examinación usando microscopía óptica. Las ilustraciones y dimensiones de los escleritos están basadas en el holotipo o lote indicado. La terminología de colonia y esclerito sigue a Bayer *et al.* (1983).

2.2.3 Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación

El ADN genómico total fue extraído de especímenes conservados en etanol (EtOH) usando el Kit de ADN E.Z.N.A. (OmegaBiotech), siguiendo las instrucciones del fabricante. Dos regiones mitocondriales, *mtMutS* (= *msh1*) y *Cox1*, más una región nuclear, ADN ribosómico *28S*, fueron secuenciadas. Estos tres marcadores son concatenados como éste que ha sido considerado un barcode octocoral (McFadden *et al.* 2014). El inicio de la región *mtMutS* fue amplificado utilizando los cebadores ND42599F y MUT3458R (France & Hoover 2002, Sánchez *et al.* 2003). La región *Cox1* fue amplificada utilizando los cebadores COI18068F y COIOCTR (France & Hoover 2002, McFadden *et al.* 2004). El gen ribosómico nuclear *28S* (ADNr *28S*) fue amplificado utilizando los cebadores 28S-Far y 28S-Rar (McFadden & van Ofwegen 2013). Cada PCR usó 0.5 U de ADN Stream Polymerase (BIORON), 0.2 mM de dNTPs, 0.3 μ M de cada cebador y aproximadamente 30 ng de ADN genómico, y fue llevado a un volumen final de 25 μ L con H₂O. La PCR de *mtMutS* fue llevada a cabo utilizando el siguiente perfil de ciclo: desnaturalización inicial a 94°C durante 2 min, 35 ciclos de desnaturalización a 94°C durante 30 s, hibridación a 55°C durante 30 s, extensión a 72°C durante 30 s, y una extensión final a 72°C durante 5 min. La PCR de *Cox1* utilizó el mismo perfil de ciclo con 58°C como la temperatura de hibridación y 40 s para la duración de la extensión en cada uno de los 35 ciclos. La PCR de *28S* utilizó el mismo ciclo como el perfil *Cox1*, pero con 50°C

como la temperatura de hibridación. Los productos de PCR fueron purificados usando el Kit de Purificación de ADN NucleoSpin® Extract II, siguiendo las instrucciones del fabricante. Los productos purificados fueron sometidos a electroforesis en un analizador genético ABI PRISM® 3730xl, y las trazas de secuencias **fueron editadas usando Sequencher™ v4.0.**

De acuerdo con la filogenia molecular propuesta por Dolan *et al.* (2013) y Kushida & Reimer (2018), las especies de *Pennatula* fueron incluidas en el Clado II. Como no han sido demostradas relaciones basales claras entre los tres clados de pennatuláceos, para el presente estudio secuencias de dos elisélidos procedentes de GenBank fueron seleccionadas como grupo externo. El conjunto de nuevas secuencias obtenidas en este estudio y aquellas de GenBank (ver Tabla 2.2) fueron alineadas utilizando MUSCLE implementado en MEGA 5 (Tamura *et al.* 2011). Tras el alineamiento, se seleccionó el mejor modelo de sustitución nucleotídica utilizando Modeltest implementado en MEGA 5 de acuerdo con el Criterio de Información de Akaike (AIC) y los valores de radio-test verosimilitud jerárquica (hLRT). La reconstrucción filogenética se obtuvo aplicando los métodos de máxima verosimilitud e inferencia Bayesiana. El método de máxima verosimilitud se llevó a cabo en MEGA 5 utilizando el método heurístico intercambio del vecino más próximo (*Nearest Neighbor Interchange*) y 1000 repeticiones bootstrap. El modelo de sustitución nucleotídica seleccionado fue T92+G+I para el conjunto de datos concatenado *mtMutS+Cox1+28S*. La Inferencia Bayesiana se llevó a cabo con MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist 2001, Ronquist & Huelsenbeck 2003), utilizando el modelo de sustitución GTR+G (Iset nst =6 rates=gamma), 107 generaciones y descartando el 25% de los árboles iniciales.

2.3 Resultados

2.3.1 Resurrección del género *Ptilella* Gray (1870)

Subclase OCTOCORALLIA Haeckel, 1866

Orden Pennatulacea Verrill, 1865

Familia Pennatulidae Ehrenberg, 1834

Género *Ptilella* Gray, 1870

Ptilella Gray 1870: 21; Koren & Danielssen 1874: 422, 1877: 82.

Pennatula, Kölliker 1872: 136 (en parte); Kölliker 1880: 4 (en parte); Grieg 1892: 10 (en parte); Jungersen 1904: 11 (en parte); Kükenthal & Broch 1910: 348 (en parte); Broch 1913: 28 (en parte); Kükenthal 1915: 81 (en parte); Hickson 1916: 181 (en parte), 1937: 123; Williams 1995a: 125 (en parte); López-González *et al.* 2001: 70 (en parte); Altuna 2015: 2 (en parte).

Pennatula (*Ptilella*), Verrill 1883: 3, 1885: 532 (en parte).

Diagnosis (modificado de Gray 1870: 21). Colonias pinnadas. Raquis bilateralmente simétrico a lo largo. Raquis con un tracto dorsal central libre de zooides. Límite raquis-pedúnculo con un distintivo engrosamiento o hinchazón, el engrosamiento a veces formando un anillo rebordeado en el punto más ancho. Eje circular en sección, presente a lo largo de toda la colonia. Hojas polipíferas grandes, conspicuas y en forma de abanico. Autozooides en grupos de 3-4 (ocasionalmente 2) pólipos en el borde ventral de las hojas polipíferas, grupos de pólipos en líneas oblicuas. Antocodio retráctil en cálices espiculíferos, tubulares y octodentados. Sifonozoides numerosos, en las axilas de las hojas polipíferas. Mesozoides en el raquis (en ambos lados del tracto dorsal longitudinal desnudo) y en 2/3 de la parte proximal del borde dorsal de las hojas polipíferas. Borde dorsal de las hojas polipíferas

sin zooides distalmente. Escleritos trialados y varillas. Escleritos en las partes superior e inferior del límite raquis-pedúnculo distintivamente diferenciados (agujas trialadas en la parte superior, pero varillas más pequeñas en la parte inferior).

Especie tipo. *Pennatula borealis* Sars, 1846 (= *Pennatula grandis* Ehrenberg, 1834), por monotipo.

Especies Nominales. Cuatro especies atlánticas son aquí atribuidas a este género: *Ptilella grandis* (Ehrenberg, 1834) comb. nov. (Atlántico norte), *Ptilella bellissima* (Fowler, 1888) (Atlántico noroeste), *Ptilella inflata* (Kükenthal, 1910) n. comb. (Índico oeste y Atlántico sureste), y *Ptilella grayi* n. sp. (Atlántico noreste). Además, las descripciones morfológicas de otras cuatro especies del Pacífico, *P. naresi* Kölliker (1880: 2), *P. pearceyi* Kölliker (1880: 4), *P. murrayi* Kölliker (1880: 5), y *P. moseleyi* Kölliker (1880: 6), sugieren que éstas podrían pertenecer también al género *Ptilella*. Ellas son aquí tentativamente incluidas en *Ptilella*, aunque información morfológica y molecular revisada y actualizada es necesario para establecer esto concluyentemente (ver también Discusión). El análisis molecular llevado a cabo en este estudio sugiere la necesidad de una reevaluación de la variabilidad morfológica previamente considerada dentro del género *Pennatula*. Nuestro estudio revela que un intento histórico de segregar alguno de estos caracteres había ya sido emprendido por Gray (1870) al describir el género *Ptilella*. Como esto está en concordancia con nuestros datos moleculares, *Ptilella* es resucitado aquí.

2.3.2 Nueva especie *Ptilella grayi*

Ptilella grayi n. sp.

(Figs. 2.1-2.3)

<http://zoobank.org/9844EDA5-AAEC-4884-A054-6CBDE378BE15>

Holotipo: NMS.Z.2019.2.1, Rockall Haddock Survey cruise 1011S (haul S11426), 56°32.63N 14°30.92O a 56°33.97N 14°28.78O, Atlántico noreste, 198-202 m profundidad, 30 agosto 2011.

Paratipos: NMS.Z.2019.2.2, Rockall Anglerfish Survey 2010 cruise 0410S (haul S10150), 56°25.22N 15°14.67O a 56°22.91N 15°18.75O, Atlántico noreste, 246-261 m profundidad, 6 abril 2010. NMS.Z.2019.2.3, Rockall Haddock Survey cruise 1011S (haul S11426), 56°25.22N 15°14.67O a 56°22.91N 15°18.75O, Atlántico noreste, 198-202 m profundidad, 30 agosto 2011. MZB 2018-0761, Rockall Haddock Survey cruise 1011S (haul S11426), 56°25.22N 15°14.67O a 56°22.91N 15°18.75O, Atlántico noreste, 198-202 m profundidad, 30 agosto 2011.

Ver Tabla 2.1 para materiales adicionales.

Descripción del holotipo. Colonia alargada, pinnada, y erecta (Fig. 2.2A) con 457 mm de longitud en estado preservado. Eje presente a lo largo de la colonia, redondeado en sección transversal, 5 mm de máximo diámetro. Raquis simétrico bilateralmente, 354 mm de longitud (77% de la longitud total) y 42 mm de ancho, con un distintivo tracto dorsal y ventral desnudo visible a lo largo del raquis. Límite raquis-pedúnculo con un prominente anillo rebordeado (Fig. 2.2A: er). Pedúnculo 103 mm de longitud (23% de la longitud total) y 36 mm de anchura en el punto más ancho (el engrosamiento). Raquis con 94 hojas polípferas, insertadas oblicuamente y extendiéndose ventralmente hacia arriba, hojas gradualmente aumentando en tamaño a lo largo del raquis hasta la zona media, luego disminuyendo en tamaño hacia la parte distal. Autozooides numerosos (aproximadamente 50-60 por hoja polípfera), bien desarrollados (hasta 5 mm de longitud, hasta 2 mm de anchura), dispuestos en grupos de 3-4 (ocasionalmente 2), formando filas oblicuas a lo largo del borde de la hoja polípfera (Fig. 2.2B: az). Antocodio retráctil en cálices espiculíferos permanentes. Cálices densamente espiculados y distintivamente octodentados. Sifonozooides diminutos, aproximadamente 0.35-0.50 mm de diámetro, numerosos, en las axilas de las hojas polípferas (Fig. 2.2C: sz). Mesozooides bien desarrollados, de 0.50-0.75 mm de diámetro, numerosos, situados en la superficie latero-dorsal del raquis y en el borde dorsal de las hojas polípferas (Fig. 2.2D: mz). Borde dorsal de la hoja polípfera con una zona distintiva libre de zooides distalmente (Fig. 2.2D: *).

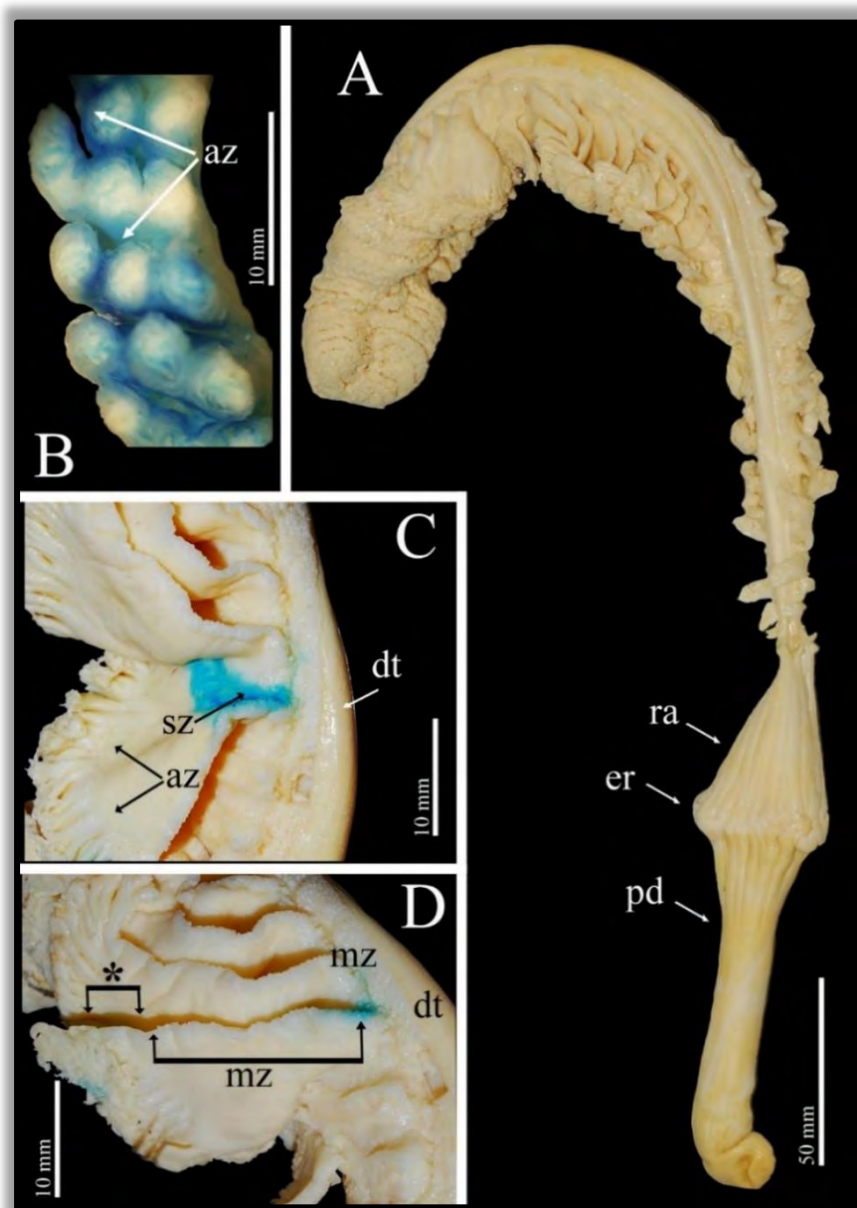


Figura 2.2. *Ptilella grayi* n. sp. Holotipo (NMS.Z.2019.2.1). A, colonia completa, mostrando el anillo bordeado (er), entre pedúnculo (pd) y raquis (ra); B, detalle de autozooides (az) en filas oblicuas, seccionados basalmente; C, vista dorsal de hojas polipíferas mostrando la ubicación de mesozooides (mz), sifonozooides (sz) y la parte distal desprovista de pólipos (asterisco); D, área entre dos hojas polipíferas desde una vista latero-dorsal mostrando la localización de mesozooides (mz), autozooides (az) en el borde ventral de la hoja polipífera, y el tracto dorsal desnudo (dt). Nótese que algunas partes de B a D están teñidas con azul de metileno para aumentar el contraste.

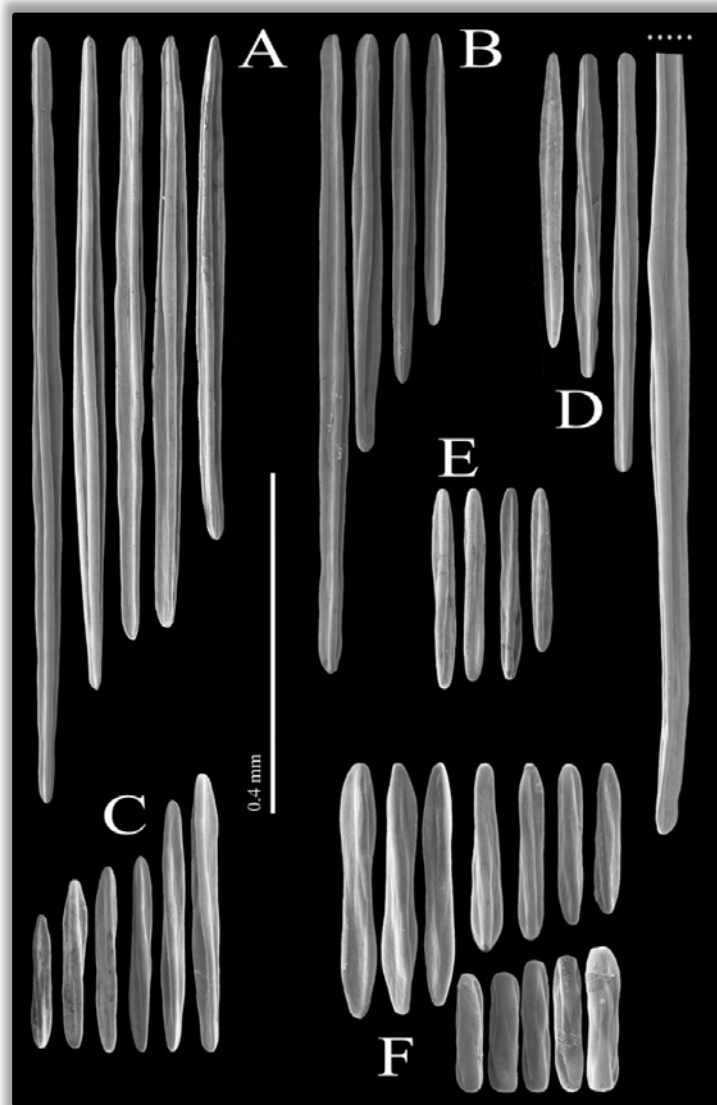


Figura 2.3. *Ptilella grayi* n. sp. Holotipo (NMS.Z.2019.2.1). Fotografías SEM de escleritos. A, cálices; B, mesozoides; C, sifonozoides; D, hojas polipíferas; E, tracto dorsal; F, límite raquis-pedúnculo, por encima del anillo rebordeado (fila superior) y por debajo del anillo rebordeado (fila inferior).

Escleritos ausentes en paredes y tentáculos de los autozoides. Escleritos de mesozoides varillas trialados, hasta 0.80 mm de longitud (Fig. 2.3B). Escleritos de

sifonozooides cortos, varillas trialadas, hasta 0.45 mm de longitud (Fig. 2.3C). Escleritos de las superficies de las hojas polipíferas varillas trialadas, hasta 1.45 mm de longitud (Fig. 2.3D). Escleritos en el tracto dorsal escasos, varillas trialadas cortas, hasta 0.40 mm de longitud (Fig. 2.3E). Escleritos por encima del anillo rebordeado en conspicuas varillas trialadas, hasta 0.30 mm de longitud (Fig. 2.3F, fila superior). Escleritos por debajo del anillo rebordeado varillas cortas, hasta 0.18 mm de longitud (Fig. 2.3F, fila inferior).

Variaciones. Las colonias crecen hasta un tamaño considerable, como lo evidenciaron los especímenes vivos encontrados hasta 581 mm de longitud y hasta 312 g de peso (pesados en húmedo con exceso de agua eliminado).

La estructura colonial general de las colonias paratipos y del material adicional examinado es similar a ese del holotipo (ver Figs. S2.1 y S2.2). Todas las colonias conservadas examinadas oscilaron entre 254 y 575 mm de longitud. Raquis bilateralmente simétrico con 64-98 hojas polipíferas. Autozooides numerosos, distribuidos en grupos oblicuos de 2-4 a lo largo del borde ventral de las hojas polipíferas, 4.0-6.5 mm de largo y 1.5-2.0 mm de anchura. Sifonozooides 0.35-0.50 mm de diámetro, en áreas axilares proximales de las hojas polipíferas. Mesozooides 0.45-0.75 mm de diámetro, numerosos, en dos bandas laterales que flanquean un tracto dorsal desnudo. Eje redondeado en sección transversal, hasta 5.4 mm de diámetro máximo. Escleritos como en el holotipo: aquellos de los cálices hasta 1.40 mm de longitud (Fig. S2.3A); aquellos de los mesozooides hasta 0.80 mm de longitud (Fig. S2.3B); aquellos de los sifonozooides hasta 0.50 mm de longitud (Fig. S2.3C); aquellos de las superficies de las hojas polipíferas hasta 1.40 mm de longitud (Fig. S2.3D); aquellos del tracto dorsal escasos, hasta 0.40 mm de longitud (Fig. S2.3E); aquellos cerca del límite raquis-pedúnculo hasta 0.35 mm de longitud por encima del anillo rebordeado (Fig. S2.3F, fila superior), y hasta 0.17 mm de longitud por debajo del anillo rebordeado (Fig. S2.3F, fila inferior).



Figura 2.4. *Ptilella grayi* n. sp. Paratipo (NMS.Z.2019.2.4). Especimen recién capturado, mostrando un límite raquis-pedúnculo más relajado, pero aún con un distintivo anillo rebordeado. A, vista dorsal; B, vista ventral. Ambas imágenes © Crown copyright

cado color rosa salmón (Figura 2.4), el último habiendo sido observado en algunos especímenes pequeños. Las colonias examinadas conservadas son de un color carnososo claro a blanco sucio en etanol. Los escleritos son incoloros.

Etimología. El nombre *grayi* es elegido en honor a Dr. John Edward Gray (1800-1875), en reconocimiento de sus contribuciones al conocimiento de las plumas de mar, y por ser el primero en reconocer y describir *Ptilella* como un género diferente a *Pennatula*.

Distribución y fauna asociada. En este momento, *Ptilella grayi* n. sp. es solamente conocida en el área superior de *Rockall Bank* (oeste de las Outer Hebrides en Escocia), en un rango de profundidad de 145-389 m (Fig. 2.1). La temperatura del fondo en estas localidades tuvo un rango de 8.40-9.73°C durante el período de campaña de abril a octubre durante los años 2005-2016.

La especie se extiende sobre el área de gradiente superior y poco profunda de *Rockall Bank*, pero esta está generalmente centrada dentro de *Rockall Haddock Box* (RHB) y se extiende algo hacia tanto el noreste como el suroeste (ver Fig. 2.1). El RHB abarca la totalidad del rectángulo estadístico ICES 42D5 y ha estado sujeto a restricciones en la pesca comercial móvil desde 2001 por acuerdo entre la Comisión de Pesquerías del Atlántico Noreste (NEAFC) y la Unión Europea para así reducir la mortalidad de las existencias del eglefino juvenil. Hacia el sur y oeste de la distribución observada de *Pt. grayi* n. sp. hay dos áreas adicionales que han sido cerradas por la NEAFC para todas las formas de pesca comercial: el *North-West Rockall Bank*, la cual ha estado cerrada desde 2007, y el *South-West Rockall Area* (*Empress of Britain Bank*) la cual ha estado cerrada desde 2013. Estas áreas cerradas están ahí para proteger los ecosistemas marinos vulnerables (VME) de la degradación antropogénica, siendo los VME en estos casos agregaciones de *Lophelia pertusa*. Si la distribución de *Pt. grayi* n. sp. se extiende dentro de estas áreas es, sin embargo, desconocido en este momento. A pesar de un extensivo esfuerzo de muestreo, las especies no han sido registradas en las proximidades del propio islote

Rockall. Del mismo modo, *Pt. grayi* n. sp. no ha sido registrada en absoluto hasta la fecha en la plataforma superior al este de *Rockall Trough*, a pesar del muestreo intensivo allí durante un largo período de tiempo (2010-2017 para la plataforma superior y 2005-2016 para la pendiente de la plataforma) y un amplio rango de profundidad (42-2147 m).

El área de distribución de *Pt. grayi* n. sp., a lo largo de las otras partes más arriba de *Rockall Bank*, es un área productiva para gadoides demersales, en particular el eglefino, pero también son prominentes la bacaladilla (*Micromesistius poutassou*), el bacalao pobre (*Trisopterus minutus*), el eglefino de Noruega (*Sebastes viviparus*), el boca azul (*Helicolenus dactylopterus*), el argentino menor (*Argentina sphyraena*) y el bacalao plateado (*Gadiculus argenteus thori*). Además, el gallo (*Lepidorhombus whiffiagonis*), el perlón gris (*Eutrigla gurnardus*), el rape (*Lophius* spp.) y la raya azul (*Dipturus flossada*) son frecuentes (todos estos datos están disponibles en la web pública <http://www.ices.dk/marine-data/data-portals/Pages/DATRAS.aspx>). Invertebrados frecuentemente registrados en los mismos lances que *Pt. grayi* n. sp. incluyen otro pennatuláceo comúnmente encontrado en el extremo de *Rockall Bank*, *Funiculina quadrangularis*, y la estrella británica asociada *Asteronyx lovenii*. Otros incluyen la escleractinia *Caryophyllia smithii*, la holoturia *Parastichopus tremulus*, el crustáceo *Pagurus forbesii*, las estrellas *Hippasteria phrygiana*, *Stichastrella rosea*, *Astropecten irregularis* y *Luidia ciliaris*, los equinoideos *Gracilechinus* spp., y varios actinarios spp. Por el contrario, *Pt. grandis* fue observada en la ladera continental de Donegal, *Rockall Plateau* y *Rosemary Seamounts* en un rango de profundidad de 682-1605 m, con los conjuntos de peces e invertebrados asociados variando enormemente con la profundidad. Este estudio también registra esta especie en el sur del Mar Noruego a una profundidad de 380-404 m, y al sur de Islandia a una profundidad de 1595 m.

Análisis filogenéticos

En nuestra hipótesis *mtMutS+ Cox1+ 28S* (Fig. 2.5), las secuencias obtenidas para *Pt. grayi* n. sp. y *Pt. grandis* fueron reunidas en un distintivo y bien soportado clado (Bst >90%, PP> 0.9), lejos de aquellas relacionadas con las secuencias concatenadas disponibles de las especies de *Pennatula*, las cuales están también en un clado bien soportado (Bst >90%, PP> 0.90). En esta hipótesis filogenética, especies de diferentes géneros como *Actinoptilum*, *Acanthoptilum*, *Renilla*, *Ptilosarcus* y *Gillibelemnon* se sitúan entre las secuencias de *Ptilella* y *Pennatula* con *Ptilella* divergiendo antes que *Pennatula*.

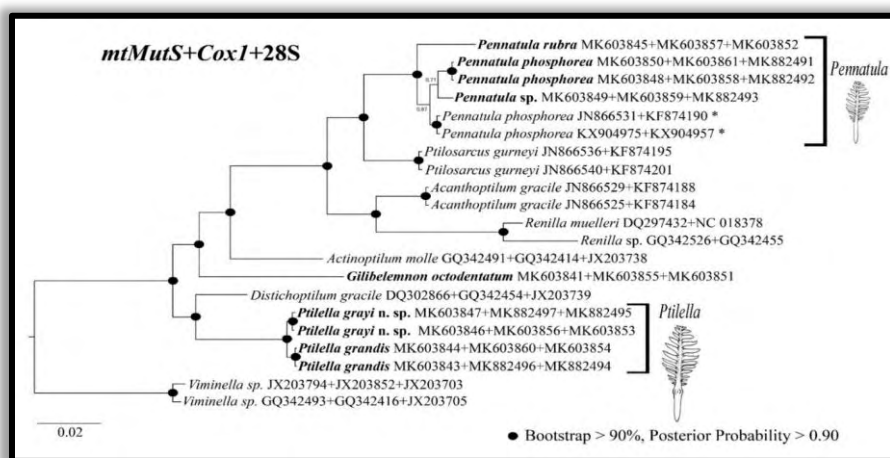


Figura 2.5. Análisis Bayesiano mostrando las relaciones filogenéticas de *Ptilella*, *Pennatula* y otros géneros y especies de plumas de (Clado II de Dolan *et al.* 2013, y Kushida & Reimer 2018) basado en las secuencias concatenadas *mtMutS+ Cox1+ 28S*. Las secuencias aportadas por este estudio están en negrita. Ver Tabla 2.2 para una completa lista de especies y números de acceso de GenBank. El asterisco indica un par de muestras secuenciadas del Pacífico noreste originalmente identificadas como *Pennatula phosphorea*. Según los resultados del presente análisis, que incluye especímenes de *Pennatula phosphorea* del Atlántico noreste [el área de distribución original indicada por Linnaeus (1758: 818) y Ellis (1764: 420), la identidad de los especímenes del Pacífico es considerada aquí como dudosa quedando a disposición de un estudio morfológico y molecular adicional.

Nuestros resultados demuestran que *Ptilella* y su género morfológico más cercano *Pennatula* son diferentes por 19 sustituciones en *mtMutS*, 27 en *Cox1*, y 110 en *28S*. Además, 13 mutaciones nucleotídicas en *mtMutS* y 20 en *Cox1* resultan en mutaciones silenciosas, mientras que un número de mutaciones nucleotídicas (6

en *mtMutS* y 7 en *Cox1*) implican un cambio de Aa (ver Tabla S2.2). Una secuencia *mtMutS* incompleta de *Pt. inflata* de Namibia se obtuvo durante los trabajos moleculares realizados para este estudio. A pesar de varias amplificaciones, no fue posible obtener una secuencia limpia que pudiera ser usada en este estudio con el fin de caracterizar a *Pt. inflata*. Sin embargo, al menos 17 de las 19 sustituciones que diferencian *Ptilella* de *Pennatula* en *mtMutS* estuvieron en concordancia con su emplazamiento en *Ptilella*.

2.4 Discusión

2.4.1 Citas históricas de *Ptilella* y su especie tipo

Pennatula grandis fue sucintamente descrita por Ehrenberg (1834: 290) basada en un viejo espécimen hallado en el Museo de Berlín. Más tarde, Sars (1846: 17) describió e ilustró a *Pennatula borealis* basada en material recolectado en Noruega. La última nomenclatura y especie fueron ampliamente aceptadas en adelante por la mayoría de los investigadores en octocorales contemporáneos de Sars, como Koren & Danielssen (1856), Milne Edwards & Haime (1857), Herklots (1858), Gray (1860), Richiardi (1869) y Kölliker (1869-1872).

Milne Edwards & Haime (1857: 211) señalaron que la descripción de Ehrenberg de *Pennatula grandis* concordaba bien con esa *Pennatula borealis* de Sars, usando esta última nomenclatura. Richiardi (1869: 31) también consideró *Pennatula grandis* un sinónimo de *Pennatula borealis*.

Gray (1870: 21) erigió el género *Ptilella* basado en *Pennatula borealis* para incluir un número de características morfológicas distintivas incluyendo "*pinnules membranaceous, broad, rounded, fringed with three close parallel series of short polype-cells on the edge*".

Kölliker (1872: 136) tuvo la oportunidad de examinar el material original de *Pennatula grandis* depositado en el Museo de Berlín. El aportó una diagnosis de la

especie como *P. borealis* y sinonimizó la especie de Ehrenberg sin darse cuenta de la descripción del género *Ptilella*. Sin embargo, este acto fue contrario al principio de prioridad. Kölliker (1872) también describió un espécimen adicional de 350 mm de longitud depositado en la colección del Museo de Copenhague.

Koren & Danielssen (1874: 422) resumieron la discusión sobre la identidad de *P. grandis* y *P. borealis* en favor de la primera nomenclatura por prioridad de la contribución de Ehrenberg. Estos autores además reconocieron las diferencias de *P. borealis* (como la especie tipo de *Ptilella*) con todas las demás especies de *Pennatula*. Su informe es el primero en usar la nomenclatura *Ptilella grandis* (Ehrenberg). Este nombre fue también adoptado en una contribución posterior por los mismos autores (Koren & Danielssen 1877: 82).

Kölliker (1880: 4), sin embargo, no reconoció el género *Ptilella*, considerando que varias filas de autozooides en el borde ventral de las hojas polipíferas y la fila de mesozooides en el borde dorsal de las hojas polipíferas podrían ser incluidas dentro de la variabilidad del género *Pennatula*. Verrill (1883, 1885) consideró a *Ptilella* un subgénero de *Pennatula*, como *Pennatula (Ptilella) borealis* Sars. Contribuciones subsecuentes por Grieg (1892: 10), Storm (1901), Jungersen (1904), Kükenthal & Broch (1910) y Broch (1913) no consideran a *Ptilella* en absoluto sino simplemente mencionan la especie como *Pennatula grandis*.

A pesar de esto, Balss (1910: 54) comenzó a formar grupos entre las especies en *Pennatula* que él consideró válidas, mientras Kükenthal & Broch (1911: 350) consideraron dentro del género *Pennatula* un "*Grandis-Gruppe*" que reunió a *P. grandis*, *P. naresi* y *P. inflata* por la presencia de hojas polipíferas colocadas en líneas oblicuas y pólipos presentes a lo largo de al menos parte del margen dorsal de las hojas polipíferas. Estos autores describieron un espécimen pobremente conservado del Atlántico norte como *Pennatula* aff. *inflata*, estableciendo así claramente la estrecha relación de *P. inflata* con *P. grandis* y *P. bellissima*. La agrupación intragenérica "*Grandis*" (sin categoría taxonómica) no fue considerada en ulteriores importantes contribuciones (por ejemplo Kükenthal 1915, Hickson 1916:

181). Sin embargo, Hickson (1937: 123) de nuevo mencionó un "*Grandis-Group*" al informar de *P. inflata* desde el Archipiélago Maldivo, considerando en ese momento el posible sinónimo de *P. borealis* y *P. bellissima* como *P. grandis*, e incluso *P. inflata* como un sinónimo del último.

Más recientemente, *Ptilella* fue tanto considerada un sinónimo de *Pennatula* (Williams 1995a: 126) como desaparecida de la escasa literatura especializada que se publicó (por ejemplo Altuna 2015). En consecuencia, *Pennatula grandis* es citada en contribuciones generales sobre comunidades bentónicas del Atlántico norte (por ejemplo Edinger *et al.* 2007, Hamoutene *et al.* 2008, Murillo *et al.* 2011, Baker *et al.* 2012, Baillon *et al.* 2012).

En la presente contribución, el género *Ptilella* es considerado diferente a *Pennatula* debido al siguiente conjunto de caracteres: 1) la ausencia de zooides a lo largo del tracto dorsal; 2) los autozooides sobre el margen de las hojas polipíferas estando dispuestos en un grupo oblicuo de 3-4 (ocasionalmente 2) pólipos, dando la impresión de varias (3-4) series a lo largo del borde de la hoja polipífera; 3) un distintivo engrosamiento en el límite entre raquis y pedúnculo, a menudo dando la apariencia de un anillo rebordeado mientras exhibe diferente morfología de escleritos en la parte superior e inferior de este engrosamiento; 4) siendo la inserción de hojas polipíferas en el raquis distintivamente oblicua y extendiéndose ventralmente hacia arriba; y 5) secuencias de ADN (*mtMutS*, *Cox1* y *28S*) siendo divergentes de aquellas de otros géneros de pennatuláceos (ver análisis filogenéticos).

En concordancia con las diferencias descritas, de ello se deduce que la diagnosis de *Pennatula* necesita ser enmendada para incluir caracteres que la separan claramente de *Ptilella*.

2.4.2 Diagnosis de *Pennatula* (modificado de Williams 1995a: 126)

Colonias pinnadas. Simetría a lo largo del raquis bilateral. *Límite raquis-pedúnculo justo debajo de las hojas polipíferas inferiores, como un estrechamiento, sin un distintivo engrosamiento ni hinchazón con un prominente anillo rebordeado en el límite raquis-pedúnculo.* Eje circular en sección, presente a lo largo de la longitud de la colonia. Hojas polipíferas presentes, generalmente grandes y conspicuas, deltoides, en forma de hoz o en forma de abanico. Autozooides en *una única fila a lo largo del borde ventral* de las hojas polipíferas. Antocodio retráctil en cálices espiculíferos permanentes. Cálices tubulares, con ocho dientes terminales. Sifonozoides en el raquis y entre las hojas del polipíferas. Mesozooides en el raquis, o en el margen dorsal basal de las hojas polipíferas. Escleritos agujas trialadas en los cálices, mesozooides, sifonozoides, inconspicuas varillas trialadas en la superficie del pedúnculo, y pequeños óvalos en el interior del pedúnculo (en su mayoría >0.1 mm de largo).

Aunque sea necesaria una revisión de las especies en el género, de acuerdo con Williams (1995a) la siguiente lista de especies puede ser tentativamente considerada válida en el género *Pennatula*: *P. aculeata* Danielssen, 1860 (Atlántico norte); *P. delicata* Tixier-Durivault, 1966 (Madagascar); *P. fimbriata* Herklots, 1858 (Japón, Filipinas); *P. indica* Thomson & Henderson, 1906 (Océano Índico); *P. phosphorea* Linneaus, 1758 (Atlántico noreste y Mediterráneo, cosmopolita?); *P. rubra* (Ellis, 1761) (mar Mediterráneo); y *P. prolifera* Jungersen, 1904 (Atlántico norte).

Como declaramos arriba, nuestra hipótesis filogenética basada en marcadores mitocondriales y nuclear sitúa la especie tipo de *Ptilella*, (*Pennatula grandis*), lejos de aquellas secuencias procedentes de la especie tipo del género *Pennatula*, (*Pennatula phosphorea*), o al menos, teniendo en cuenta que el género *Pennatula* está en necesidad de revisión de las especies secuenciadas y de los especímenes que comparten los caracteres morfológicos definidos para *Pennatula phosphorea* en este papel y las más relevantes referencias (por ejemplo Kükenthal & Broch 1911, Kükenthal 1915) (ver Figs. 2.5 y 2.6).

2.4.3 Comparación de las especies de *Ptilella*

En este estudio, cuatro especies del Atlántico se consideran estar dentro del género *Ptilella* (*Pt. grandis*, *Pt. grayi* n. sp., *Pt. inflata*, y *Pt. bellissima*) sobre la base de un número de características morfológicas. La información molecular corroborativa está actualmente disponible para dos de ellas (*Pt. grandis*, *Pt. grayi* n. sp.), y parcialmente así para *Pt. inflata* (ver arriba). El grado molecular del tejido es, sin embargo, ausente en el antiguo singular espécimen de *Pt. bellissima* debido al método de conservación usado.

En el pasado siglo XIX, el profesor Albert R. von Kölliker describió cuatro especies de plumas de mar del Pacífico y las adscribió al género *Pennatula*: *P. naresi* Kölliker (1880: 2), *P. pearceyi* Kölliker (1880: 4), *P. murrayi* (1880: 5), y *P. moseleyi* Kölliker (1880: 6). Las descripciones originales de estas especies concuerdan con algunos de los caracteres considerados aquí para *Ptilella*: 1) las hojas polipíferas insertadas oblicuamente en el raquis; 2) al menos dos series de autozooides en el borde ventral de las hojas polipíferas; 3) el tracto dorsal libre de zooides; y 4) mesozooides en la parte dorsal proximal de las hojas polipíferas. Si bien teniendo en cuenta el estado actual de conocimiento de estas especies, sus caracteres morfológicos respaldan así su tentativa inclusión aquí en *Ptilella*. Sin embargo, es importante que su posición sea reevaluada siguiendo una comprensión morfológica y molecular mejorada de estas especies en el futuro.

Ptilella grandis y *Pt. grayi* n. sp. son claramente diferenciadas de *Pt. bellissima* y *Pt. inflata* por sus colonias más rígidas y espiculosas (especialmente visible en las superficies superiores e inferiores de las hojas polipíferas), un mayor número total de hojas polipíferas y un mayor número de autozooides por hoja polipífera. Además, las dos primeras especies tienen una separación más fuerte entre el raquis y el pedúnculo con un anillo rebordeado (véanse Figs. 2.2A, S2.1A, y S2.2E para *Pt. grayi* n. sp.; Figs. 2.7A y 2.8C para *Pt. grandis*). Esta estructura está mucho más marcada en *Pt. grandis* y *Pt. grayi* n. sp. que en *Pt. bellissima* (ver Figs. 2.7C y 2.8I)

y *Pt. inflata* (ver Figs. 2.7B y 2.8F), donde las superficies superior e inferior son más continuas en estructura.

Ptilella bellissima fue descrita por Fowler (1888) en base a un único espécimen procedente de Las Bahamas (Atlántico noroeste) como *Pennatula bellissima*, ahora depositado en el Museo de Historia Natural de Londres (BMNH 1880.6.28.1). Más de un siglo después, Castro & Medeiros (2001: 154) describieron una nueva especie de una gran *Pennatula* (hasta 350 mm de longitud total) procedente de la costa brasileña como *Pennatula bayeri*. Tras la comparación de ambas descripciones originales y el holotipo de *Pt. bellissima*, nosotros creemos que *P. bayeri* sea un sinónimo menor de *Pt. bellissima*. Como mencionó Fowler (1888), Castro & Medeiros (2001), y como se ilustró en el presente manuscrito, *Pt. bellissima* difiere de *Pt. inflata* por sus esbeltas, triangulares y menos carnosas hojas polipíferas, y sus bien separados (a veces difíciles de seguir) grupos de 2-3 autozooides a lo largo del borde ventral de las hojas polipíferas. Castro & Medeiros (2001: 157) discutieron la posibilidad de sinonimia entre *Pennatula bayeri* (= *Pt. bellissima*) y *Pt. inflata*, pero nosotros las consideramos como dos taxones claramente distintos morfológicamente. Es importante que estudios moleculares futuros (basados en material adecuadamente fijado) debieran explorar más a fondo las relaciones internas de las especies de *Ptilella*. Se debería prestar una particular atención a adicionales especímenes de *Pt. bellissima*, con el objetivo de evaluar correctamente la variabilidad en la distribución de mesozooides alrededor del punto de inserción de las hojas polipíferas y los autozooides.

El rasgo más inmediatamente evidente que distingue *Ptilella grandis* de *Pt. grayi* n. sp. es el color: color rojo oscuro a marrón rojizo tanto en especímenes vivos como conservados en la primera, pero carnoso claro a blanco sucio en la segunda en el estado conservado y amarillo claro a rosa claro en especímenes vivos. En el material examinado las máximas longitudes de escleritos observadas en *Pt. grandis*

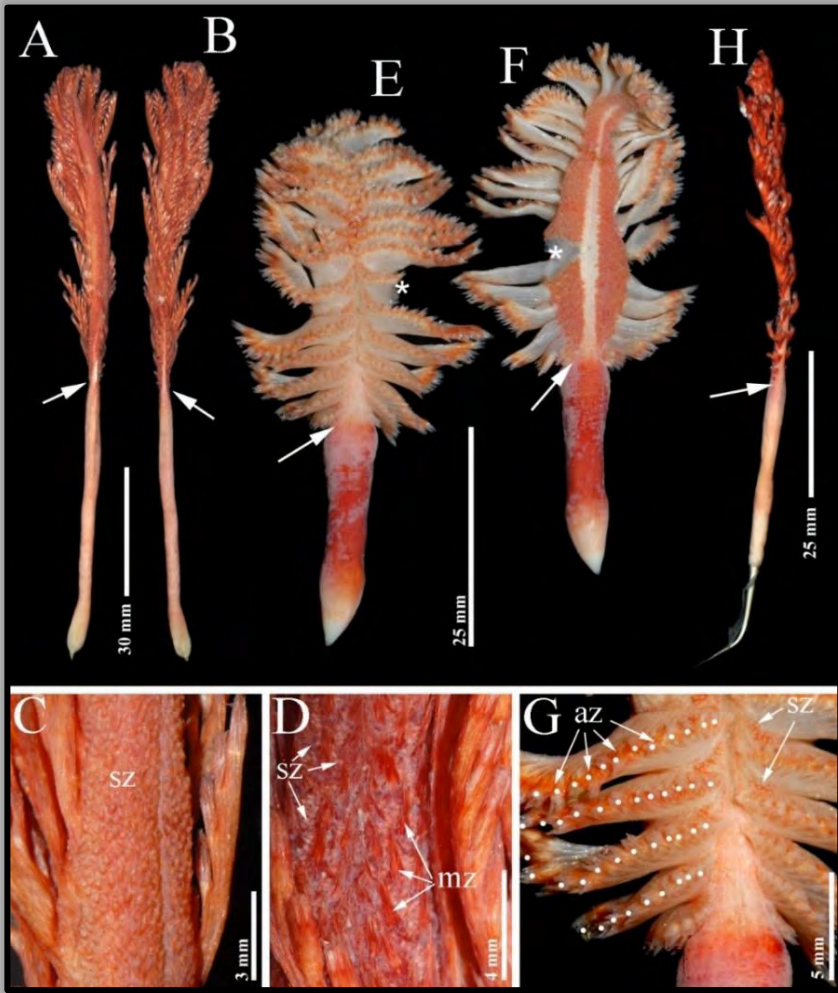


Figura 2.6. Especies del género *Pennatula* utilizadas en este manuscrito para el estudio comparativo morfológico y/o molecular. A-C, *Pennatula phosphorea* (BECA OPEN-139); A, vista dorsal; B, vista ventral; C, detalle de la parte distal del raquis en vista dorsal mostrando la presencia de sifonozooides (sz) solo cubriendo el área dorsal. Se observa el estrecho tracto dorsal. D, *Pennatula aculeata* (BECA OPEN-206); detalle de la parte distal del raquis en vista dorsal mostrando la presencia de pequeños sifonozooides (sz) entre los grandes mesozooides (mz) cubriendo el área dorsal. E-G, *Pennatula rubra* (BECA OPEN-453); E, vista ventral; F, vista dorsal; G, detalle del raquis en vista ventral mostrando la orientación casi perpendicular de las hojas polípiferas en sus puntos de inserción. Nótese que la posición de los autozooides (indicado por puntos blancos) no se confunde con la de los sifonozooides (sz), los cuales están presente en los límites del raquis entre dos hojas polípiferas consecutivas. H, *Pennatula* sp. (BECA OPEN-152); G, vista ventro-lateral, las hojas polípiferas se muestran orientadas distalmente debido al proceso de fijación. Se observa el límite entre raquis y pedúnculo (flecha) en todas las colonias secuenciadas. Los asteriscos indican el daño incurrido durante el estudio como parte de la examinación del escleroma o proceso de muestreo tisular.



Figura 2.7. Especies del género *Ptilella* utilizadas en este manuscrito para el estudio comparativo; A, *Ptilella grandis* (NMS.Z.2019.2.6); B, *Ptilella inflata* (NMS.Z.2019.2.7); C, *Ptilella bellissima* (BMNH 1888.6.28.1) holotipo.

(cálices 1.70 vs. 1.40 mm; mesozoooides 1.00 vs. 0.80 mm; sifonozoooides 0.80 vs. 0.50 mm; hojas polipíferas 1.11 vs. 1.40 mm; tracto dorsal 0.50 vs. 0.40; límite raquis-pedúnculo 0.50 vs. 0.35 encima de anillo rebordeado y 0.16 vs. 0.17 mm debajo del anillo rebordeado).

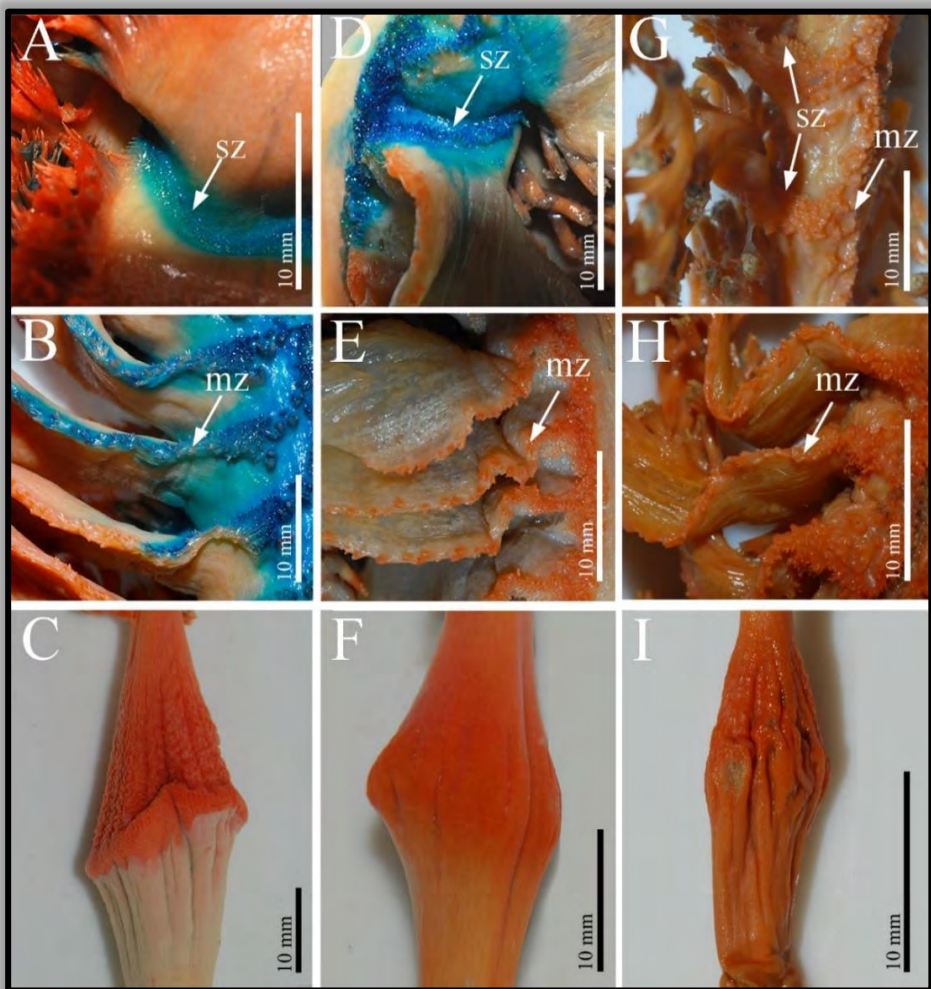


Figura 2.8. Detalles de diferentes partes de las colonias de las especies de *Ptillella* usadas para la comparación en este estudio. Filas verticales de imágenes: A-C, *Ptillella grandis*; D-F, *Ptillella inflata*; G-I, *Ptillella bellissima*. Filas horizontales de imágenes: A, D y G, vista dorsolateral mostrando la disposición de sifonozooides (sz) en almohadillas en la base de las hojas polipíferas; B, E y H, vista dorsal de las hojas polipíferas mostrando los mesozooides (mz) en sus bordes dorsales; C, F e I, engrosamiento en el límite entre raquis y pedúnculo.

La comparación molecular de *Pt. grayi* n. sp. vs *Pt. grandis* reveló las siguientes sustituciones: en las posiciones 249 (A/C) y 672 (C/A) en *mtMutS*; en las posiciones 372 (A/G) y 624 (C/A) en *Cox1*; y en las posiciones 166 (C/A), 210 (A/G) y 519 (G/C) en *28S* (ver Tabla S2.3). En *mtMutS*, ambas sustituciones implican el cambio de Aa (Me por Ile, y Phe por Leu, respectivamente), aunque en ambos casos todos los Aa son no polares. En *Cox1*, ambas son sustituciones silenciosas. Aunque la distancia genética obtenida en *mtMutS* no excedió 0.30 %, el marcador mitocondrial más conservado *Cox1* también mostró diferencias entre estas especies, las cuales fueron adicionalmente soportadas por las diferencias en el nuclear *28S*.

De acuerdo con nuestro conocimiento actual, *Pt. grayi* n. sp. parece tener un solapamiento aunque geográficamente algo más restringida y distribución batimétrica más somera que *Pt. grandis* (145-389 m y 90-2700 m de profundidad, respectivamente). Además, la nueva especie solo se conoce, por el momento, en el Atlántico noreste, mientras que *Pt. grandis* ha sido citada a ambos lados del océano Atlántico norte. Las densidades de *Pt. grayi* n. sp. en *Rockall Bank* se desconocen actualmente y no se pueden deducir de las estimaciones del área barrida utilizando números de capturas por lance, ya que es probable que la red de arrastre demersal sea un método ineficiente para capturar grandes plumas de mar ancladas en el sedimento. Además, el diseño exacto de redes de arrastre utilizadas varió con la campaña en la que estos especímenes fueron recolectados.

2.4.4 Sobre la polifilética familia Pennatulidae y las relaciones familiares en el Clado II

La tradicional familia Pennatulidae comprende 6 géneros: *Gyrophyllum*, *Pennatula*, *Ptilosarcus*, *Sarcoptilus*, *Crassophyllum* y *Pteroeides* (Williams 1995a, 1995b). Dolan *et al.* (2013) mostraron un árbol filogenético concenso sugiriendo una Pennatulidae no monofilética. Aunque la monofilia de Pennatulidae no fue formalmente descartada por un SH test, en ese estudio esta familia formó una agrupación no natural, situando al género *Pteroeides*, *Pennatula* y *Gyrophyllum* en tres dife-

rentes clados (Clados I, II y III, respectivamente). El Clado II basado en dos marcadores mitocondriales (*mtMutS+ND2*) incluyó los géneros *Pennatula*, *Renilla*, *Distichoptilum* y *Protoptilum*, siendo los dos primeros géneros grupos hermanos. Posteriormente, resultados ofrecidos por Kushida & Reimer (2018) basados en aquellos mismos mitocondriales (*mtMutS+ND2*) de nuevo confirmaron la naturaleza polifilética de la actual Pennatulidae, mostrando la misma distribución de los géneros *Pteroeides*, *Pennatula* y *Gyrophyllum*. En ese estudio, el Clado II de nuevo incluyó al género *Pennatula* como el grupo hermano de *Renilla*, y ambos relacionados con géneros de diferentes familias: *Echinoptilum* (Echinoptilidae), *Stachyptilum* (Stachyptilidae), *Distichoptilum* y *Protoptilum* (ambos en Protoptilidae), y *Scytalium* y *Stylatula* (ambos en Virgulariidae).

En el análisis filogenético para el Clado II presentamos una cobertura molecular más completa, incluyendo dos marcadores mitocondriales (*mtMutS*, *Cox1*) y un marcador nuclear (*28S*), mostrando un género *Pennatula* bien soportado con *Ptilosarcus* como grupo hermano, con *Renilla* siendo el grupo hermano de *Acanthoptilum* (ver Fig. 2.5). Las especies de *Pennatula* estuvieron bien separadas del resuscitado género *Ptilella*, el cual diverge temprano. Futuros estudios en plumas de mar utilizando un conjunto de unidades taxonómicas (familias, géneros y especies) y marcadores moleculares más completo podrían cambiar completamente nuestra comprensión previa sobre la distribución de los géneros entre todas las posibles unidades familiares en este grupo especializado de octocorales.

Nosotros reconocemos el incompleto e inestable estado actual de conocimiento taxonómico de Pennatulidae y nuestra ubicación de *Ptilella* dentro de esta familia debe ser considerada como tentativa. Nosotros consideramos esto pendiente de una revisión exhaustiva que además logrará la segregación de caracteres morfológicos diagnósticos a través de aquellas bien soportadas unidades familiares.

2.5 Agradecimientos

Los autores desearían expresar su agradecimiento a Miranda Lowe (Museo Británico de Historia Natural) por el préstamo del holotipo de *Pennatula bellissima*. Muchas gracias a los colegas y tripulación del MRV *Scotia* por los muchos cruceros implicados y particularmente a varios quienes examinaron con dedicación la red un gran número de veces por los especímenes: Matthew Kinghorn, Hubert Wozniak, Peter Brown y Christopher Boagey. Nuestros agradecimientos también van dirigidos a los oficiales y la tripulación y a muchos colegas por facilitar el acceso a las colecciones o por su ayuda a bordo durante los cruceros Polarstern ANT XXIII/8 (Península Antártica y este del mar de Weddell), BIOROSS Tangaroa 0402 (mar de Ross, Antártida), BENGUELA VIII (Namibia, Atlántico sureste), INDEMARES Chica (Golfo de Cádiz, Atlántico noreste), e INDEMARES Alborán (mar Mediterráneo), donde parte de los materiales comparativos utilizados en las comparaciones morfológicas y moleculares fueron recolectados. Parte del material de *Pt. grandis* consultado en este documento fue proporcionado por el proyecto BIOICE. Nosotros expresamos nuestra gratitud a los Dres. Gudmundur Vidir, Gudmundur Gudmundsson y Jörundur Svavarsson, y al personal del proyecto BIOICE por permitirnos estudiar el material de octocoral de BIOICE en el Sandgerdi Marine Centre en Islandia. PJL-G agradece el apoyo financiado para una visita al Sandgerdi Marine Center (Islandia) bajo el programa financiado por la CE TMR BIOICE Large-Scale Facility. Los especímenes antárticos de *Pennatula* fueron consultados dentro del proyecto CTM2017-83920-P (DIVERSICORAL) financiado por el Ministerio Español de Economía, Industria y Competitividad. Los autores también estamos agradecidos por las críticas y sugerencias proporcionadas por tres referis anónimos y el editor de SM. El uso de las instalaciones de Microscopía Electrónica de Barrido de la Universidad de Sevilla fue posible gracias a una subvención a PJL-G de VIPPIT-2017-1.5 (VI Plan Propio de Investigación de la Universidad de Sevilla, Vicerrectorado de Investigación).

2.6 Referencias

- Altuna A. 2015. Identificación de las especies ibéricas del género *Pennatula* L., 1758 (Octocorallia: Pennatulacea). Campañas Demersales, Ecomarg, Indemares y Medits. Insub, 11 pp.
- Baillon S., Hamel J.F., Wareham V.E., et al. 2012. Deep cold-water corals as nurseries for fish larvae. *Front. Ecol. Environ.* 10: 351-356. <https://doi.org/10.1890/120022>
- Baker K.D., Wareham V.E., Snelgrove P.V.R, et al. 2012. Distributional patterns of deep-sea coral assemblages in three submarine canyons off Newfoundland, Canada. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 445: 235-249. <https://doi.org/10.3354/meps09448>
- Balss H. 1910. Japanische Pennatuliden. In: Doflein F. (eds), Beiträge zur Naturgeschichte Ostasiens: Abhandlungen der Mathematisch-Physischen Classe der Königlich Sächsischen Gesellschaft der Wissenschaften 10 suppl.: 1-106.
- Bayer F.M. 1956. Octocorallia. In: Moore R.C. (eds), Treatise on invertebrate paleontology. Part F. Coelenterata. Geol. Soc. America Univ. Kansas Press. New York and Lawrence Kansas, pp. 166-231.
- Bayer F.M., Stefani J. 1988. Primnoidae (Gorgonacea) de Nouvelle- Caledonie. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat. Paris* 10(A)3: 449-476.
- Bayer F.M., Grasshoff M., Verseveldt J. 1983. Illustrated trilingual glossary of morphological and anatomical terms applied to Octocorallia. E. J. Brill/ Dr. Backhuys, Leiden. 75 pp.
- Broch H. 1913. Die Alcyonarien des Trondhjemsfjordes, III: Pennatulacea; IV. Biogeographische Übersicht. *Norske Videnskabers Selskab, Trondheim. Skrifter* 1912(10): 1-59.
- Brockman S.A., McFadden C.S. 2012. The mitochondrial genome of *Paraminabea aldersladei* (Cnidaria: Anthozoa: Octocorallia) supports intramolecular recombination as the primary mechanism of gene rearrangement in octocoral mitochondrial genomes. *Genome Biol. Evol.* 4(9): 882-894. <https://doi.org/10.1093/gbe/evs074>
- Brummitt R.K. 2002. How to chop up a tree. *Taxon* 51: 31-41. <https://doi.org/10.2307/1554961>
- Castro C.B., Medeiros M.S. 2001. Brazilian Pennatulacea (Cnidaria: Octocorallia). *Bull. Biol. Soc. Wash.* 10: 140-159.
- Crisp M.D., Chandler G.T. 1996. Paraphyletic species. *Teloepa* 6: 813-844. <https://doi.org/10.7751/teloepa19963037>
- Dolan E., Tyler P.A., Yesson C., et al. 2013. Phylogeny and systematics of deep-sea sea pens (Anthozoa: Octocorallia: Pennatulacea). *Mol. Phylogenet. Evol.* 69: 610-618.
- Done T.J. 1999. Coral Community Adaptability to Environmental Change at the Scales of Regions, Reefs and Reef Zones. *Am. Zool.* 39: 66-79. <https://doi.org/10.1093/icb/39.1.66>
- Ellis J. 1764. An account of the sea pen, or *Pennatula phosphorea* of Linnaeus; likewise a description of a new species of sea pen, found on the coast of South-Carolina, with observations on sea-pens in general. In a letter to the honourable Coote Molesworth, Esq; M.D. and F.R.S. from John Ellis, esq; F.R.S. and member of the Royal Academy of Upsal. *Phil. Trans. R. Soc. Lond.* 53: 419-435. <https://doi.org/10.1098/rstl.1763.0054>
- Edinger E.N., Wareham V.E., Haedrich R.L. 2007. Patterns of groundfish diversity and abundance in relation to deep-sea coral distributions in Newfoundland and Labrador waters. *Bull. Mar. Sci.* 81: 101-122.

- Ehrenberg C.G. 1834. Beitrage zur physiologischcn Kenntniss der Corallenthiere im allgemeinen, und besonders des rothen Meeres, nebst einem Versuche zur physiologischen Systematik derselben. Abh. Königl. Akad Wiss Berlin. Aus dem Jahre. Erster Theil 1832: 225-380.
- Everett M.V., Park L.K., Berntson E.A., et al. 2016. Large-scale genotyping-by-sequencing indicates high levels of gene flow in the deep-sea octocoral *Swiftia simplex* (Nutting 1909) on the west coast of the United States. PloS ONE 11: e0165279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165279>
- Fleck G., Brenk M., Misof B. 2008. Larval and molecular characters help to solve phylogenetic puzzles in the highly diverse dragonfly family Libellulidae (Insecta: Odonata: Anisoptera): The Tetrathemistinae are a polyphyletic group. Org. Divers. Evol. 8: 1-6. <https://doi.org/10.1016/j.ode.2006.08.003>
- Fowler G.H. 1888. On a new *Pennatula* from the Bahamas. Proc. Zool. Soc. Lond. 1888: 135-140.
- France S.C., Hoover L.L. 2002. DNA sequences of the mitochondrial COI gene have low levels of divergence among deep-sea octocorals (Cnidaria: Anthozoa). Hydrobiologia 471: 149-155. <https://doi.org/10.1023/A:1016517724749>
- Gray J.E. 1860. Revision of the family Pennatulidæ, with descriptions of some new species in the British Museum. J. Nat. Hist. 5: 20-25. <https://doi.org/10.1080/00222936008697169>
- Gray J.E. 1870. Catalogue of sea-pens or Pennatulariidae in the collection of the British Museum. British Museum. London, 40 pp. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.11307>
- Grieg J. 1892. Oversigt over Norges pennatulider. In: Bergens Museums Aarsberetning for 1891, pp. 1-22. <https://archive.org/details/bergensmuseum18911893berg/page/n5>
- Hamoutene D., Puestow T., Miller-Banoub J., et al. 2008. Main lipid classes in some species of deep-sea corals in the Newfoundland and Labrador region (Northwest Atlantic Ocean). Coral Reefs 27: 237-246. <https://doi.org/10.1007/s00338-007-0318-7>
- Herklots J.A. 1858. Notices pour servir à l'étude des polypiers nageurs ou pennatulidés.** Bijdragen tot de Dierkunde. 7: 1-31. <https://doi.org/10.1163/26660644-00701001>
- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. Siboga Expeditie Monographs 14, Livr. 77: 1-265.
- Hickson S.J. 1937. The Pennatulacea. Scientific Rep. John Murray Expedition, 1933-v1934. 4(5): 109-130.
- Huelsenbeck J.P., Ronquist F. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics 17: 754-755. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/17.8.754>
- Jungersen H.F.E. 1904. Pennatulida. Danish Ingolf-Expedition. 5: 1-95.
- Kölliker R.A. 1869-72. Anatomisch-Systematische Beschreibung der Alcyonararien. I. Die Pennatuliden. Abh. Senckenb. Naturforsch. Ges. 7-8: 1-458.
- Kölliker R.A. 1872. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Pennatulidenstammes nebst allgemeinen Betrachtungen zu Descendenzlehre. Christian Winter, Frankfurt am Main, 87 pp.
- Kölliker R.A. 1880. Report on the Pennatulida dredged by H. M. S. Challenger during the years 1873-1876. Report of the Scientific Results of the Voyage of H. M. S. Challenger during the years 1873-76. Zoology 1: 1-41.
- Koren J., Danielssen D.C. 1856. *Virgularia Christii* K. and D. In: Sars M., Koren J., Danielssen D.C. (eds), Fauna Littoralis Norvegiae 2: 91-93.

- Koren J., Danielssen D.C. 1874. Bidrag til de ved den norske Kyst levende Pennatuliders Naturhistorie. *Nyt Mag. Naturvid.* 12: 422-427.
- Koren J., Danielssen D.C. 1877. Contribution to the natural history of the Pennatulidae living on the Norwegian coast. In: Sars M., Koren J., et al. (eds), *Fauna Littoralis Norvegiae* 3: 82-102.
- Kükenthal W. 1910. Pennatuliden der Deutschen Tiefsee-Expedition. *Zool. Anz.* 36: 51-58.
- Kükenthal W. 1915. Pennatularia. *Das Tierreich.* 43: 1-132. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin.
- Kükenthal W., Broch H. 1910. System und Stammesgeschichte der Seefedem. *Zool. Anz.* 36: 222-230.
- Kükenthal W., Broch H. 1911. Pennatulacea. *Wissenschaftliche Ergebnisse der deutschen Tiefsee-Expedition "Valdivia"* 13: 113-576.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the northwestern Pacific Ocean. *Mol. Phylogenet. Evol.* 131: 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.032>
- Linnaeus C. 1758. *Systema naturae. Editio decima, reformata.* Holmiae (Salvii). 824 pp.
- López-González P.J., Williams G.C. 2002. A new genus and species of sea pen (Octocorallia: Pennatulacea: Stachyptilidae) from the Antarctic Peninsula. *Invertebr. Syst.* 16: 919-929. <https://doi.org/10.1071/IT01027>
- López-González P.J., Gili J.M., Williams G.C. 2001. New records of Pennatulacea (Anthozoa: Octocorallia) from the African Atlantic coast, with description of a new species and a zoogeographic analysis. *Sci. Mar.* 65: 59-74. <https://doi.org/10.3989/scimar.2001.65n159>
- Lowther P.E., Fraga R., Schulenberg T.S., et al. 2004. Nomenclatural solution for a polyphyletic *Agelaius*. *Bull. Br. Ornithol. Club.* 124: 171-175.
- McFadden C.S., van Ofwegen L.P. 2012. Stoloniferous octocorals (Anthozoa, Octocorallia) from South Africa, with descriptions of a new family of Alcyonacea, a new genus of Clavulariidae, and a new species of *Cornularia* (Cornulariidae). *Invertebr. Syst.* 26: 331-356. <https://doi.org/10.1071/IS12035>
- McFadden C.S., van Ofwegen L.P. 2013. A second, cryptic species of the soft coral genus *Incrustatus* (Anthozoa: Octocorallia: Clavulariidae) from Tierra del Fuego, Argentina revealed by DNA barcoding. *Helgol. Mar. Res.* 67: 137-147. <https://doi.org/10.1007/s10152-012-0310-7>
- McFadden C.S., Tullis I.D., Hutchinson M.B., et al. 2004. Variation in coding (NADH dehydrogenase subunits 2, 3, and 6) and noncoding intergenic spacer regions of the mitochondrial genome in Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa). *Mar. Biotechnol.* 6: 516-526. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0102-1>
- McFadden C.S., France S.C., Sánchez J.A., et al. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41: 513-527. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2006.06.010>
- McFadden C.S., Brown A.S., Brayton C., et al. 2014. Application of DNA barcoding in biodiversity studies of shallow-water octocorals: molecular proxies agree with morphological estimates of species richness in Palau. *Coral Reefs* 33: 275-286. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1123-0>
- Milne Edwards H., Haime J. 1857. *Histoire naturelle des coralliaires ou polypes proprement dits.* Librairie Encyclopédique de Roret, Paris. 326 pp. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.11574>

- Murillo F.J., Durán M.P., Altuna A., et al. 2011. Distribution of deep-water corals of the Flemish Cap, Flemish Pass, and the Grand Banks of Newfoundland (Northwest Atlantic Ocean): interaction with fishing activities. *ICES J. Mar. Sci.* 68: 319-332.
<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsq071>
- OSPAR Commission. 2010. Background Document for Sea pen and Burrowing megafauna communities. Biodiversity Series. Oskar Convention for the Protection of the Marine Environment of the Northeast Atlantic.
- Richiardi S. 1869. Monografía della famiglia dei Pennatularii. Ser. 2, Archivio per la zoología, **l'anatomia e la fisiología. Vol. 1, Fava e Garagnani, Bologna, 150 pp.**
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.9116>
- Ronquist F., Huelsenbeck J.P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19: 1572-1574. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btg180>
- Sale P.F. 1977. Maintenance of high diversity in coral reef fish communities. *Am. Nat.* 111: 337-359.
<https://doi.org/10.1086/283164>
- Sammarco P.W., Coll J.C. 1992. Chemical adaptations in the Octocorallia: evolutionary considerations. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 88: 93-104. <https://doi.org/10.3354/meps088093>
- Sánchez J.A., McFadden C.S., France S.C., et al. 2003. Molecular phylogenetic analyses of shallow-water Caribbean octocorals. *Mar. Biol.* 142: 975-987. <https://doi.org/10.1007/s00227-003-1018-7>
- Sars M. 1846. Beschreibung der *Pennatula borealis*, einer neuen Seefeder. In: Fauna littoralis Norvegiae: oder Beschreibung und Abbildungen neuer oder wenig bekannten Seethiere, nebst Beobachtungen über die Organisation, Lebensweise u. Entwicklung derselben. Johann Dahl, Christiana. 1: 17-19. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.57954>
- Storm V. 1901. Oversigt over Thronheimsfjordens fauna (med et kort). Trondhjems Biologiske **Station, Meddelelser fra stationsanleggets arbeidskomite. H. Moe's Bog and Accidentstrykkeri, Trondhjem, 20 pp.**
- Tamura K., Peterson D., Peterson N., et al. 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731-2739. <https://doi.org/10.1093/molbev/msr121>
- Verrill A.E. 1883. Report on the Anthozoa, and on some additional species dredged by the "Blake" in 1877-1879, and by the U. S. Fish Commission steamer "Fish Hawk" in 1880-82. Bull. Mus. Comp. Zool. 11: 1-72.**
- Verrill A.E. 1885. Results of the explorations made by the steamer Albatross off the northern coast of the United States in 1883. *Ann. Rep. US Comm. Fish.* 1883: 503-699.
<https://doi.org/10.5962/bhl.title.12059>
- Wheeler Q.D., Nixon K.C. 1990. Another way of looking at the species problem: a reply to de Queiroz and Donoghue. *Cladistics.* 6: 77-81. <https://doi.org/10.1111/j.1096-0031.1990.tb00526.x>
- Williams G.C. 1995a. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zool. J. Linn. Soc.* 113: 93-140.
<https://doi.org/10.1006/zjls.1995.0004>
- Williams G.C. 1995b. The enigmatic sea pen genus *Gyrophyllum* - A phylogenetic reassessment and description of *G. sibogae* from Tasmanian waters (Coelenterata: Octocorallia). *Proc. Cal. Acad. Sci.* 48: 315-328.
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE* 6: e22747. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022747>

- Williams G.C. 2015. A new genus and species of pennatulacean octocoral from equatorial West Africa (Cnidaria, Anthozoa, Virgulariidae). Zookeys 546: 39-50. <https://doi.org/10.3897/zookeys.546.6344>
- Williams G.C., Alderslade P. 2011. Three new species of pennatulacean octocorals with the ability to attach to rocky substrata (Cnidaria: Anthozoa: Pennatulacea). Zootaxa 3001: 33-48. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3001.1.2>

2.7 Material suplementario

El siguiente material suplementario está disponible a través de la versión en línea de este artículo y en el siguiente enlace:

<http://scimar.icm.csic.es/scimar/supplm/sm04845esm.pdf>

Tabla S4.1. Datos asociados con todos los lances donde *Ptilella grayi* n. sp. y *Ptilella grandis* fueron observados, incluyendo el número de colonias registradas en cada uno.

Specimens	Crusery	Crusery no. (band)	Arms	Coordinates Start - Stop	Profoundal range (m)	Date	Nº colonies
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2005	1206S (S016457)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°53.80N 14°53.37W - 56°56.20N 14°58.72W	197-198	08-Sep-05	3
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2007	1207S (S017371)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	57°05.80N 14°52.16W - 57°09.20N 14°56.94W	166-170	13-Sep-07	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2007	1207S (S017365)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°53.78N 14°52.26W - 56°51.32N 14°54.00W	196-200	13-Sep-07	9
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2008	1108S (S082368)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°58.03N 14°41.01W - 56°57.82N 14°48.40W	193-202	06-Sep-08	6
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2008	1108S (S080690)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°53.67N 14°52.20W - 56°56.87N 14°59.54W	197-199	06-Sep-08	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Amphitrah Survey 2009	0409S (S09168)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°43.54N 14°54.03W - 56°46.84N 14°53.03W	197-199	5-May-09	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Amphitrah Survey 2009	0409S (S09169)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°57.86N 14°56.30W - 56°56.63N 14°51.29W	191-200	5-May-09	3
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Amphitrah Survey 2009	0409S (S09170)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	57°17.82N 14°41.46W - 57°14.44N 14°44.93W	176-178	6-May-09	3
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Amphitrah Survey 2009	0409S (S09172)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	57°23.21N 14°52.69W - 57°21.17N 14°58.33W	145-153	6-May-09	3
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2009	1206S (S095390)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	57°03.60N 14°58.69W - 57°02.74N 14°51.61W	167-191	07-Sep-09	3
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2009	1209S (S09847)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°56.11N 14°59.97W - 56°55.20N 14°52.73W	194-201	08-Sep-09	4
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2009	1209S (S09848)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°43.68N 14°50.15W - 56°44.11N 14°59.62W	192-198	08-Sep-09	9
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2009	1209S (S09850)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°47.80N 14°56.97W - 56°46.20N 14°58.07W	195-198	10-Sep-09	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Amphitrah Survey 2010	0410S (S10150)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°56.22N 14°51.67W - 56°52.91N 14°51.75W	238-262	08-Apr-10	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2011	0911S (S11036)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°53.63N 14°50.02W - 56°53.97N 14°58.79W	198-202	30-Aug-11	12
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2011	0911S (S11037)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°56.11N 14°51.27W - 56°56.88N 14°52.06W	204-209	30-Aug-11	0
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2011	0911S (S11038)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	56°49.54N 14°53.67W - 56°49.21N 14°51.20W	201-203	08-Aug-11	1
<i>Ptilella grayi</i> n. sp.	Rockall Trawldeck Survey 2011	0911S (S11043)	Rockall Bank, NE, Aldenisi	57°03.88N 14°52.04W - 57°03.75N 14°49.62W	192-198	08-Aug-11	3

<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2012	H4125 (S12141)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°01.10N 147°15.03W 05°57.24N 147°13.35W	360-370	14-Apr-12	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2012	H4125 (S12143)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°02.34N 147°03.41W 05°55.47N 147°00.02W	180-225	15-Apr-12	3
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2012	H4125 (S12146)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°03.10N 147°04.00W 05°53.21N 147°01.20W	170-192	15-Apr-12	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	OH-FCON 2012	H7125 (S10587)	Rochali Bank NE, Aldabren	05°22.33N 147°04.87W 05°21.20N 147°07.73W	146-152	15-Apr-12	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Trench Survey 2013	H1325 (S12004)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°43.62N 147°14.44W 06°41.33N 147°14.62W	192-203	14-Sep-13	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Trench Survey 2013	H1325 (S12006)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°36.12N 147°22.40W 06°34.72N 147°21.40W	306-209	14-Sep-13	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Trench Survey 2013	H1325 (S12009)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°36.02N 147°20.02W 06°32.27N 147°19.43W	106-102	14-Sep-13	4
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Trench Survey 2013	H1325 (S12007)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°40.01N 147°20.20W 06°39.28N 147°40.40W	106-108	14-Sep-13	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2013	H4125 (S12071)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°26.20N 147°26.60W 06°25.81N 147°25.80W	107-109	24-Oct-13	82
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2013	H4125 (S12072)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°25.42N 147°25.33W 06°24.62N 147°25.61W	170-106	24-Oct-13	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2013	H4125 (S12073)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°10.17N 147°11.27W 05°12.81N 147°05.83W	165-171	24-Oct-13	4
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2014	H4125 (S14141)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°25.40N 147°07.87W 06°26.26N 147°04.70W	306-212	14-Apr-14	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2014	H4125 (S14140)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°41.94N 147°02.66W 06°41.52N 147°02.42W	180-192	15-Apr-14	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2015	H4125 (S15143)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°26.04N 147°14.27W 06°22.91N 147°16.67W	280-289	11-Apr-15	8
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2015	H4125 (S15143)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°26.27N 147°06.98W 06°23.43N 147°02.00W	104-205	12-Apr-15	12
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2015	H4125 (S15144)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°29.97N 147°01.24W 06°27.17N 147°04.64W	281-287	12-Apr-15	2
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2015	H4125 (S15107)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°25.20N 147°06.29W 06°27.20N 147°04.81W	304-214	14-Apr-15	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Amphitrah Survey 2015	H4125 (S15109)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°24.02N 147°13.28W 06°20.60N 147°15.74W	306-289	14-Apr-15	1
<i>Pythoia groupi</i> n. sp.	Rochali Trench Survey 2015	H4125 (S15031)	Rochali Bank NE, Aldabren	06°26.30N 147°01.85W 06°26.48N 147°28.27W	106-198	31-Aug-15	1

<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1115S (S16162)	Rockfall Bank, NE Alutian	56°06.36N 14°16.26W-56°08.10N 14°13.72W	298-291	31-Aug-16	1
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1115S (S16165)	Rockfall Bank, NE Alutian	57°02.91N 13°26.70W-57°01.49N 13°27.53W	270-276	01-Sep-16	1
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Aeplertub Survey 2016	0916S (S16137)	Rockfall Bank, NE Alutian	57°06.48N 12°57.47W-57°04.80N 12°57.59W	260-290	09-Aug-16	1
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Aeplertub Survey 2016	0916S (S16164)	Rockfall Bank, NE Alutian	56°15.82N 16°14.36W-56°12.51N 16°15.40W	348-389	13-Aug-16	2
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1216S (S16165)	Rockfall Bank, NE Alutian	56°03.53N 14°29.83W-56°02.22N 14°31.75W	199-201	06-Sep-16	3
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1216S (S16166)	Rockfall Bank, NE Alutian	56°46.45N 14°29.75W-56°44.81N 14°29.10W	186-193	06-Sep-16	3
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1216S (S16168)	Rockfall Bank, NE Alutian	56°47.22N 14°05.67W-56°45.83N 14°07.23W	193-200	06-Sep-16	4
<i>Ptilodía grayi</i> n. sp.	Rockfall Haddock Survey 2016	1216S (S16172)	Rockfall Bank, NE Alutian	57°07.74N 13°23.21W-57°06.31N 13°25.09W	210-223	06-Sep-16	1
<i>Ptilodía grande</i>	Deepwater Tuna Series 2008	1108S (S08085)	Deepsea Shelf, NE Alutian	55°13.79N 10°08.87W-55°08.49N 10°10.68W	1014-1046	14-Sep-08	1
<i>Ptilodía grande</i>	DEPFCON 2011	0711S (S11264)	Rockfall Bank, NE Alutian	57°06.37N 12°36.88W-57°05.94N 12°36.98W	1001-1006	30-Jun-11	1
<i>Ptilodía grande</i>	North Sea Anglerfish Survey 2016	0412S (S12228)	S Naresqutan Sea, NE Alutian	61°55.03N 02°26.94E-61°52.86N 02°34.22E	380-406	29-Aug-10	1
<i>Ptilodía grande</i>	Macdon , 2014	1318S (S14370)	Rossmore Seaport, NE Alutian	50°26.16N 10°05.34W-50°26.80N 10°02.14W	850-869	15-Sep-14	1
<i>Ptilodía grande</i>	Macdon , 2014	1318S (S14382)	Rossmore Seaport, NE Alutian	50°05.37N 10°04.16W-50°06.40N 09°54.58W	1062-1075	16-Sep-14	1
<i>Ptilodía grande</i>	Rockfall Aeplertub Survey 2016	0916S (S16161)	West Rockfall Bank, NE Alutian	56°07.12N 14°15.98W-56°06.60N 14°21.79W	729-761	11-Aug-16	1
<i>Ptilodía grande</i>	Rockfall Aeplertub Survey 2016	0916S (S16163)	West Rockfall Bank, NE Alutian	56°06.27N 14°26.94W-56°05.43N 14°32.96W	682-727	11-Aug-16	1
<i>Ptilodía grande</i>	Macdon , 2016	1318S (S16179)	Rossmore Seaport, NE Alutian	59°06.16N 10°02.17W-59°05.16N 09°54.75W	1001-1100	19-Sep-16	2

Tabla S4.2. Sustitución de nucleótido que implica cambios de amino ácidos en las regiones mitocondriales *mtMutS* y *Cox1*, entre las secuencias de *Ptilella* y *Pennatula* usadas en los análisis moleculares, una vez que los sitios homólogos de una matriz que incluye secuencias de *Ptilella* y *Pennatula* son alineados (ver Tabla 4.2 y Fig. 4.5).

Loci	Nucleótido posiciones	Nucleótido triplete <i>Ptilella</i> / <i>Pennatula</i>	Aa posición	Aa sustitución <i>Ptilella</i> / <i>Pennatula</i>
<i>mtMutS</i>	34, 36	ATG / GTA(GTG) ¹	12	Met (M) / Val (V)
	74	CCG / CAG	25	Pro (P) / Gln (Q)
	164	GCT / GTT	55	Ala (A) / Val (V)
	197	GGA / GAA	66	Gly (G) / Glu (E)
	199	GTA / ATA	67	Val (V) / Ile (I)
	533	GCC / GTC	181	Ala (A) / Val (V)
<i>Cox1</i>	226	TTG / ATG	76	Leu (L) / Met (M)
	271	TCA / GCA	91	Ser (S) / Ala (A)
	371, 372	GCG(GCG) / GTA	124	Ala (A) / Val (V)
	388	ATT / CTT	130	Ile (I) / Leu (L)
	439	AGT / CTA(TTA)	147	Met (M) / Leu (L)
	568	GTA / ATA	190	Val (V) / Ile (I)
	574	GTT / ATT	192	Val (V) / Ile (I)

Tabla S4.3. Diferencias en nucleótidos y Aas en los loci mitocondriales *mtMutS* y *Cox1*, y diferencias nucleotídicas en el nuclear *28S* entre *Ptilella grayi* n. sp. y *Pt. grandis*. Basada en una matriz incluyendo solo especies de *Ptilella* y *Pennatula* (ver Tabla 4.2 y Fig. 4.5)

Loci	Nucleótido (posición) <i>Pt. grayi</i> / <i>Pt. grandis</i>	Amino ácido (posición) <i>Pt. grayi</i> / <i>Pt. grandis</i>
<i>mtMutS</i>	(249) A / C	(83) Met / Ile
	(672) C / A	(225) Phe / Leu
<i>Cox1</i>	(372) A / G	(124) Ala / Ala
	(624) C / A	(208) Ile / Ile
<i>28S</i>	(166) C / A	
	(210) A / G	
	(519) G / C	

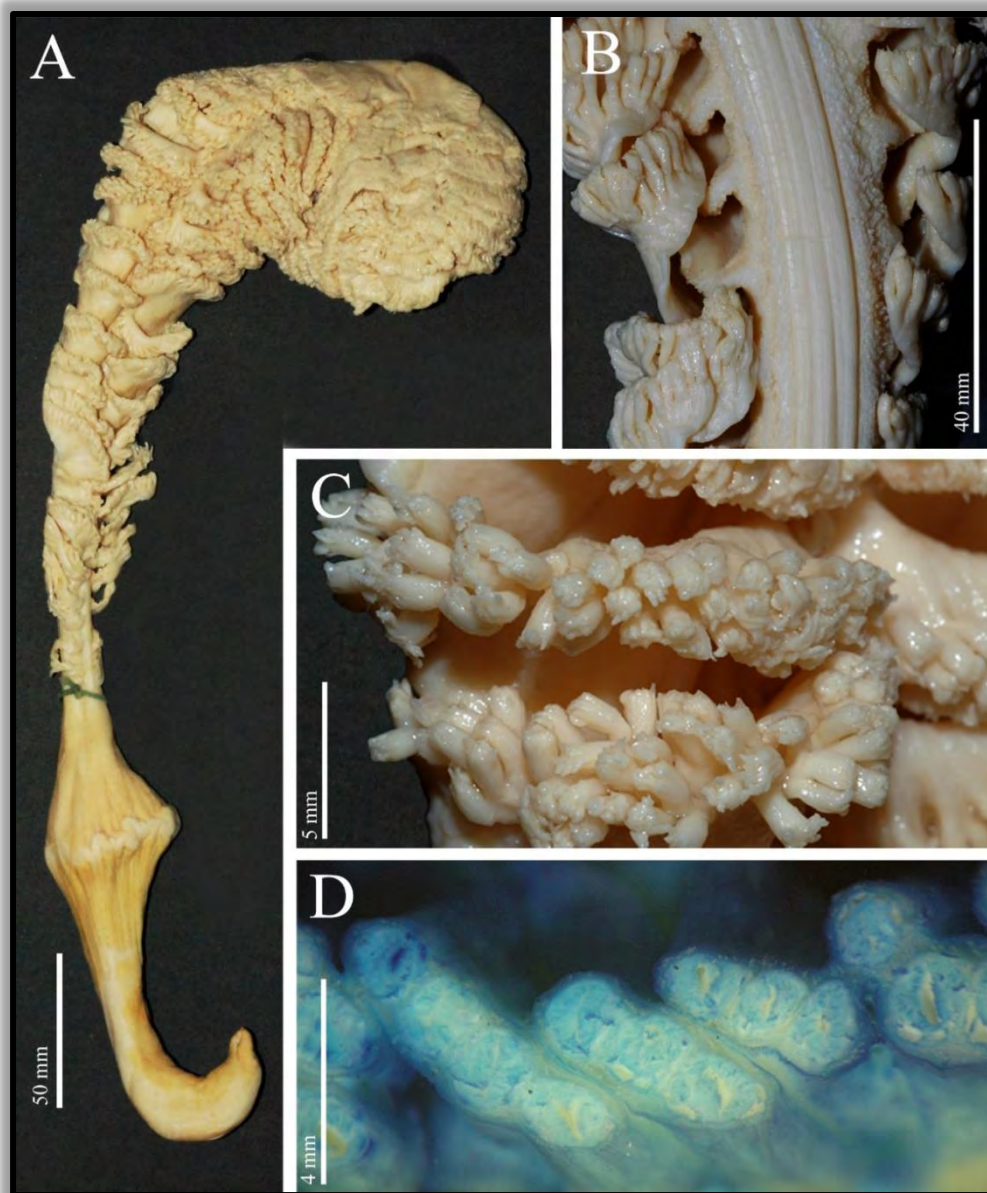


Figura S4.1. *Ptilella grayi* n. sp. Paratipo (NMS.Z.2019.2.3). A, colonia completa; B, vista dorsal de las hojas polípiferas y tracto dorsal desnudo mostrando la localización de mesozoooides; C, detalle de autozooides en el borde ventral de las hojas polípiferas; D, detalle de filas oblicuas de autozooides, seccionados basalmente, teñidos con azul de metileno para aumentar el contraste.

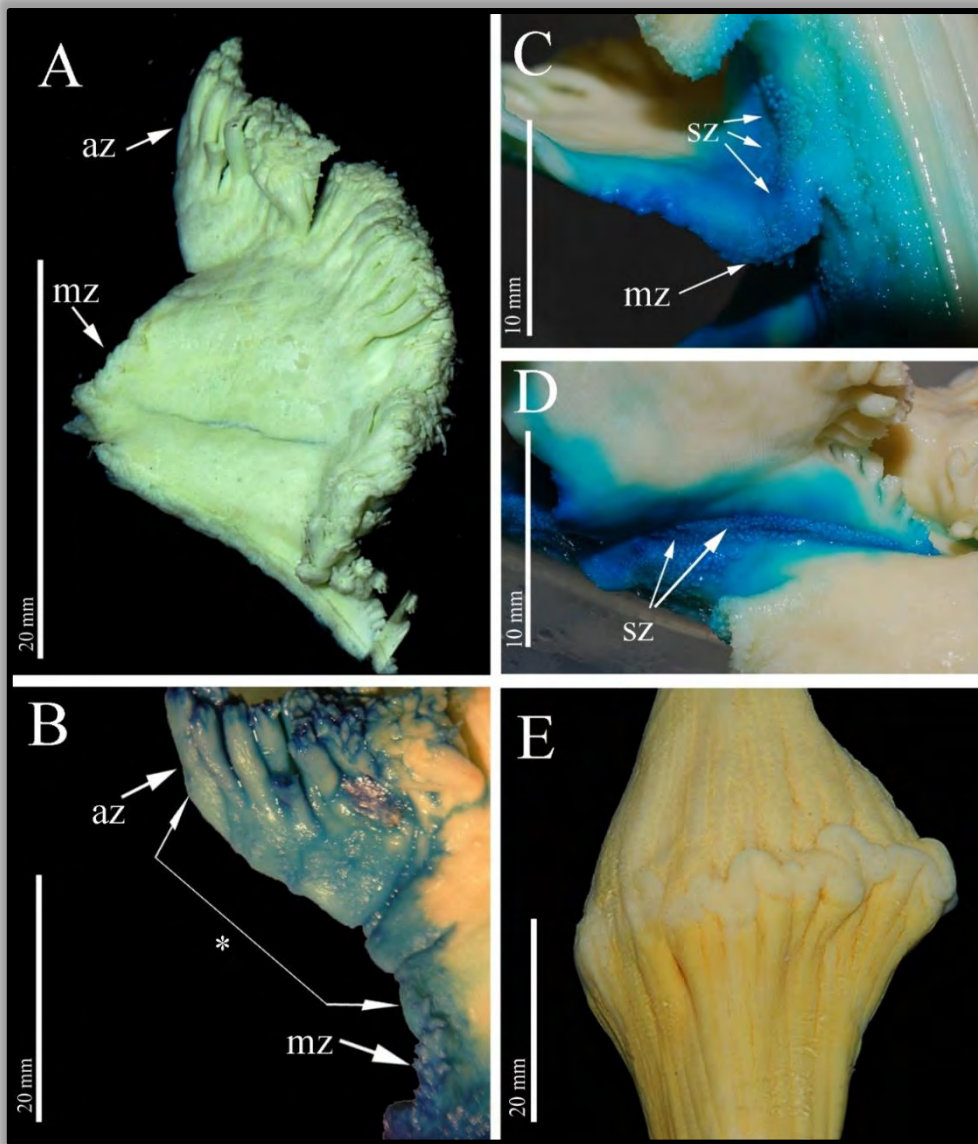


Figura S4.2. *Ptilella grayi* n. sp. Paratipo (NMS.Z.2019.2.3). A, hojas polipífera seccionada desde la base, vista lateral; B, detalle del área dorsal de una hoja polipífera mostrando autozooides (az) y mesozooides (mz), y área distal libre de zooides (*); C, detalle de la parte basal dorsal de las hojas polipíferas mostrando sifonozooides (sz) y mesozooides (mz); D, detalle de la distribución de sifonozooides (sz) en parches en la base de una hoja polipífera; E, distintivo engrosamiento en el límite raquis-pedúnculo.

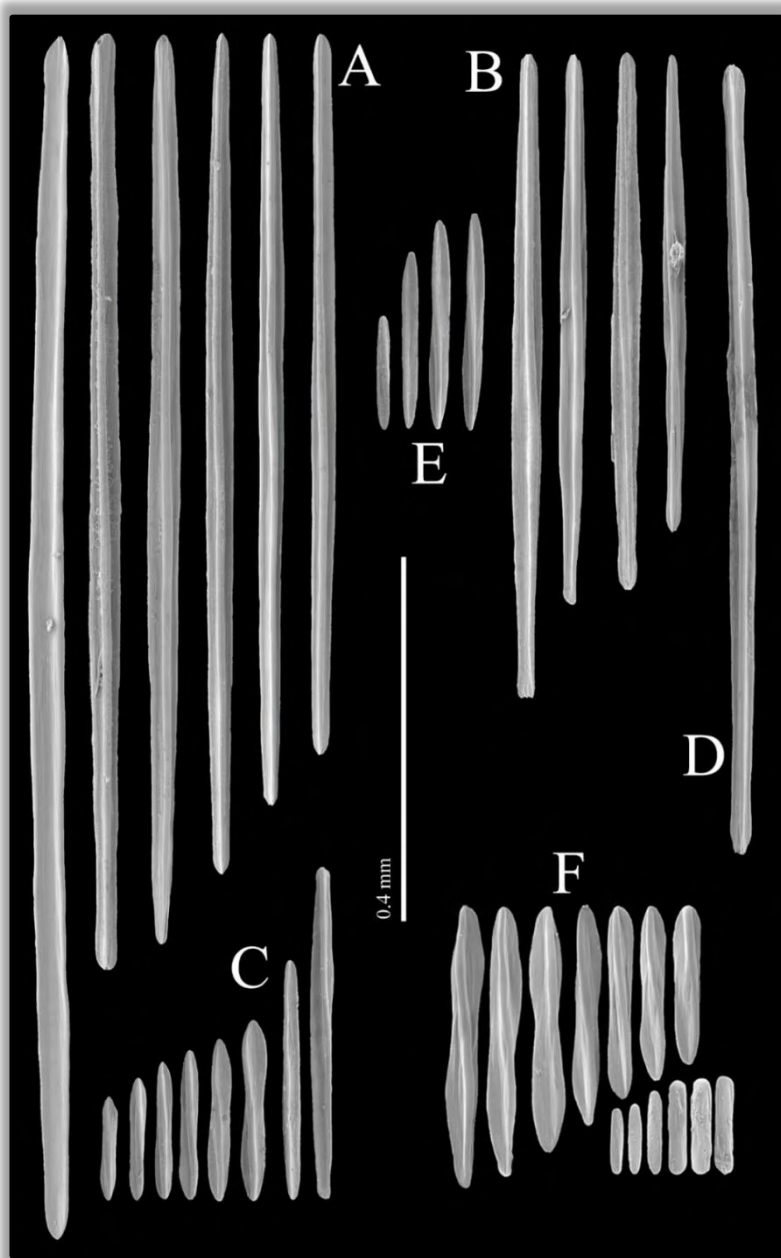


Figura S4.3. *Ptilella grayi* n. sp. Paratipo (NMS.Z.2019.2.3). Fotografías SEM de escleritos. A, cálices; B, mesozoooides; C, sifonozoooides; D, hojas polipíferas; E, tracto dorsal; F, límite raquis-pedúnculo, por encima del anillo rebordeado (fila superior), por debajo del anillo rebordeado (fila inferior).

CAPÍTULO TERCERO

3 ESTUDIO DE VARIABILIDAD

Subindividual Variability in Sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea)

Francisco J. García-Cárdenas¹, Carlos M. Herrera²
and Pablo J. López-González¹

¹Biodiversidad y Ecología Acuática. Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 Sevilla, Spain.
²Estación Biológica de Doñana, Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Américo Vespucio 26, 41092 Sevilla, Spain

(FJG-C) (corresponding author) E-mail: frangarca@us.es ORCID-iD: 0000-0002-1503-9552

(CMH) E-mail: herrera@ebd.csic.es . ORCID-id: 0000-0003-2452-3888

(PJL-G) E-mail: pjlopez@us.es ORCID-iD: 0000-0002-7348-6270

Enviado a Scientia Marina

Natura non facit saltum

Tissot 1613

*“Si, sale lo que se esperaba una vez que uno plantea la pregunta, y hay algo que esperar...
Antes de formular la pregunta ni siquiera se esperaba nada.
Ya estoy acostumbrado a eso, pero sigue haciéndome gracia.”*

Herrera, c. p.

“[...] Las especies son algo más que poblaciones y genes. Son entidades reales que parecen tener alguna clase de mecanismo estabilizador interno que restringe mucho el cambio fenotípico, aún en contra de la selección”

(Dott & Prothero 1994:61)

3.1 Introducción

Después de eones de evolución divergente, es difícil identificar paralelismos entre los reinos vegetal y animal (Darwin 1857, Haeckel 1869). Los paralelismos entre los planes corporales de plantas y animales, sin embargo, podrían ser más probables que surjan en las comparaciones entre plantas e invertebrados coloniales fotosintéticos sésiles (Borges 2005). La búsqueda de estos paralelismos entre plantas y animales se ha centrado principalmente en encontrar procesos o estructuras relacionadas entre ambos reinos que hayan ofrecido soluciones similares a problemas comunes desde perspectivas tan diferentes (Hallé 1999:268). El interés de encontrar paralelismos entre plantas y animales radica en ser capaz de conocer las consecuencias de ciertos procesos naturales que se sabe ocurren en el primero de los dos reinos e inferirlos en el otro (Herrera *et al.* 2015, 2021, Alonso *et al.* 2018). Esto podría además generar una multitud de aplicaciones, tales como aumentar el conocimiento y la capacidad predictiva de ciertos procesos, transferencias de técnicas y análisis, así como el desarrollo de nuevas e interesantes hipótesis científicas.

Invertebrados coloniales marinos, como los briozoos (Filo Bryozoa) y los cnidarios (Filo Cnidaria) (Hickson 1916, Harvell 1984, Key 1990), son animales modulares susceptibles de estudios de variabilidad intra- o intercolonial (O'Dea & Okamura 2000, O'Dea 2003, Wejnert & Smith 2008, Schweinsberg *et al.* 2017, entre otros). Entre ellos, los antozoos coloniales (Hexacorallia y Octocorallia) comparten con las plantas superiores una construcción modular por reiteración de subunidades genéticamente idénticas y una vida adulta sésil (Hallé 1999, Hughes 2005), aunque esta perspectiva fenotípica comparativa rara vez ha sido abordada (Borges 2005).

Un candidato ideal para investigar posibles paralelismos plantas-animales son las plumas de mar (Octocorallia: Pennatulacea), que son organismos colonia-

les formados desde un pólipo inicial (el oozooide) y subsecuentemente constituido por múltiples individuos o módulos (Kükenthal 1915, Bayer 1956, Tixier-Durivault 1965). El origen clonal y la similaridad funcional de los pólipos (autozoooides) de las plumas de mar sugieren una atractiva analogía con las hojas de las plantas (Hallé 1999). Al igual que los pólipos, las hojas de las plantas son órganos reiterados que capturan recursos (por ejemplo luz o dióxido de carbono) y su variación fenotípica dentro de individuos solitarios (forma, tamaño, contenido de nitrógeno, tasas fotosintéticas) generalmente contribuyen a la explotación de diferentes segmentos de un gradiente de recursos a una escala espacial más pequeña que el tamaño del individuo (por ejemplo, el gradiente de luz vertical; Herrera 2009). Así, dependiendo de la direccionalidad o acceso a los recursos, tales como la luz o las partículas de alimentos, se podría esperar una diferenciación en las características fisicoquímicas de los pólipos dentro de las colonias de pennatuláceos como se mostró por las hojas de las plantas. En este escenario hipotetizado, una cierta cantidad de variación intracoloniales en los rasgos de los pólipos podría ser ventajosa al optimizar la explotación de recursos basada en una "división del trabajo" entre los diferentes módulos de la colonia, de una manera similar a lo que comúnmente se halló en plantas (Herrera 2009).

Las consecuencias ecológicas de la modularidad en las plantas han sido ampliamente documentadas y examinadas desde diferentes perspectivas, una de las cuales enfatiza las consecuencias de una fuente distintiva de variación fenotípica inherente en esta modularidad ("componente subindividual"; Herrera 2009, 2017). Una consecuencia inevitable de la modularidad, o multiplicidad de módulos dentro de plantas individuales, es una cierta variabilidad en las características de las copias del mismo órgano (por ejemplo, hojas, flores, frutos y semillas) producida en los diferentes módulos dentro del mismo individuo (Herrera 2009). Muchos de los rasgos que varían en las plantas individuales son conocidos por su naturaleza funcional (por ejemplo, la longitud de la hoja o el tamaño de fruto) y sus potenciales efectos sobre el fitness de los individuos (Pérez-Harguindeguy *et al.* 2013). Esto implica que la variación subindividual en los rasgos funcionales

ofrece la posibilidad a animales consumidores y las condiciones ambientales abióticas de realizar cierta selección a nivel intra-planta (ver Herrera 2009 para más detalles). A pesar de su importancia ecológica y evolutiva, sin embargo, el estudio de la variación continua en las características cuantitativas de órganos homólogos dentro de la misma planta permanece comparativamente inexplorado desde una perspectiva ecológica a pesar de ser una característica de la planta por excelencia (Herrera 2009). La variabilidad subindividual ha sido aún menos estudiada en animales marinos coloniales o modulares. ¿Podría ocurrir un proceso similar de variabilidad subindividual en animales como las plumas de mar, que tienen una arquitectura modular similar a esa de las plantas?

La mayoría de estudios morfológicamente orientados en corales se han centrado en comparar las características fenotípicas entre poblaciones o especies, con revisiones exhaustivas del fenómeno de la plasticidad fenotípica generalmente ignorando tanto la existencia como la importancia cuantitativa de la variabilidad subindividual (Kim *et al.* 2004, Borges 2005, Prada *et al.* 2008). Como enfatizaron Menezes *et al.* (2013), el estudio de la variabilidad intra-colonia en corales merece más atención como una posible fuente de criterios para evaluar los límites morfológicos interespecíficos. Recientes investigaciones han demostrado la existencia de variabilidad genética intracolonia (IGV) en corales escleractinias, analizando un reducido número de loci micosatélites por taxón, y sugiriendo que la presencia de más de un genotipo en una única colonia acarrea tanto desventajas como ventajas para la colonia (Oury *et al.* 2020). Entre las ventajas, estos autores sugieren beneficios para el crecimiento de la colonia, su capacidad competitiva, su supervivencia y su fitness, todo lo cual podría ser una forma natural de producir **“super-corales” (2020: 5214)**.

La presente contribución proporciona por primera vez una evaluación cuantitativa de la variabilidad subindividual en plumas de mar, analizando ciertas características biométricas de estructuras reiteradas que presumiblemente tienen

alguna función ecológica. El conocimiento sobre la variación intracolonia en pennatuláceos es incluso más escaso que en otros octocorales. Sus sinapomorfías, tales como un origen desde el oozooide, la naturaleza clonal de los diferentes pólipos junto con su crecimiento vertical no ramificado, les hace modelos ideales para un estudio de variabilidad subindividual en rasgos funcionales o morfológicos (Sánchez *et al.* 2007). Nosotros seleccionamos seis especies de pennatuláceos, incluyendo el género-tipo *Pennatula* y el recientemente resucitado género *Ptilella* (García-Cárdenas *et al.* 2019). Las siguientes cuestiones específicas serán abordadas: (1) ¿Especies congénicas de plumas de mar difieren con respecto a la distribución cuantitativa de la varianza poblacional intra- y entre colonias en rasgos cuantitativos de pólipos? (2) Si lo hacen, ¿pueden tales diferencias estar relacionadas con condiciones ecológicas contrastantes? (3) ¿Diferentes géneros, como *Ptilella* y *Pennatula*, similares morfológicamente aunque filogenéticamente diferenciados, difieren en la distribución intra- y entre las colonias de la varianza poblacional en los rasgos seleccionados? Y (4) ¿en qué medida las plumas de mar y las plantas terrestres difieren con respecto a los niveles cuantitativos de variación subindividual?

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Muestreo

La mayoría del material usado en este estudio formó parte de una investigación taxonómica previa donde se compararon *Ptilella* y *Pennatula* (ver García-Cárdenas *et al.* 2019), la información completa sobre los cruceros, área de distribución de los taxones considerados y datos de recolección son detallados allí. Un análisis preliminar para garantizar la existencia de variabilidad dentro- y entre colonias a niveles de medida de pólipo y esclerito se llevó a cabo usando ocho colonias de *Ptilella grayi*. Estas colonias fueron recolectadas en varias expediciones en el no-

reste Atlántico durante el período 2010-2014 (ver Tabla 3.1), con un rango de batimétrico de 179 a 261 m de profundidad. Todas las colonias de *Pt. grayi* se recolectaron utilizando una red de arrastre de peces demersales, siendo el extremo y el cuerpo completo de la red examinados a fondo para detectar especímenes después de cada despliegue. La longitud total de las colonias preservadas varió de 254 a 572 cm de longitud (ver García-Cárdenas *et al.* 2019 para más detalles).

Para los análisis de variabilidad subindividual de *Ptilella* y *Pennatula*, nosotros seleccionamos tres colonias de cada una de las siguientes especies: *Ptilella grayi*, *Ptilella grandis*, *Ptilella inflata*, *Pennatula phosphorea*, *Pennatula rubra* y *Pennatula* sp. (Tabla 3.1). Parte de este material fue recolectado en diferentes áreas geográficas durante varios estudios bentónicos: Antártida (ANT XVII/3, BIOROSS), el noreste Atlántico (Cruceiros *Scotia*, INDEMARES Chica), el sureste Atlántico (BENGUELA VIII) y el mar Mediterráneo (Proyecto Bahía de Algeciras).

Tabla 3.1. Colonias usadas para el estudio de variabilidad subindividual en plumas de mar (ver García-Cárdenas *et al.* 2019). Abreviaturas: NMS, Museo Nacional de Escocia; MZB, Museo de Zoología de Barcelona; NHM, Museo de Historia Natural de Londres; BECA, Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla. *, colonias de *Ptilella grayi* usadas en las comparaciones entre *Ptilella* y *Pennatula*.

Especie/ colonia	Código de registro	Área geografica
<i>Ptilella grayi</i>		
Pt.gy-1*	NMS.Z.2019.2.1	NE Atlántico
Pt.gy-2*	MZB 2018-0761	NE Atlántico
Pt.gy-3*	NMS.Z.2019.2.3	NE Atlántico
Pt.gy-4	NMS.Z.2019.2.2	NE Atlántico
Pt.gy-5	MZB 2018-0763	NE Atlántico
Pt.gy-6	BECA OPEN-338	NE Atlántico
Pt.gy-7	NHMUK 2019.1	NE Atlántico
Pt.gy-8	MZB 2018-0762	NE Atlántico
<i>Ptilella grandis</i>		
Pt.gd-1	MZB 2018-0759	NE Atlántico
Pt.gd-2	NMS.Z.2019.2.6	NE Atlántico
Pt.gd-3	BECA OPEN-334	NE Atlántico

<i>Ptillella inflata</i>		
Pt.in-1	NMS.Z.2019.2.7	SE Atlántico
Pt.in-2	NHMuK 2019.3	SE Atlántico
Pt.in-3	MZB 2018-0760	SE Atlántico
<i>Pennatula rubra</i>		
P.rb-1	BECA OPEN-61	Mar de Alborán, Mediterráneo
P.rb-2	BECA OPEN-189	Bahía de Algeciras, Mediterráneo
P.rb-3	BECA OPEN-57	Golfo de Cádiz, NE Atlántico
<i>Pennatula phosphorea</i>		
P.ph-1	BECA OPEN-454 (G199)	NE Atlántico
P.ph-2	BECA OPEN-453 (G88)	NE Atlántico
P.ph-3	BECA OPEN-206 (G2776)	NE Atlántico
<i>Pennatula sp.</i>		
P.sp-1	BECA OPEN-152 (G122)	Antártida
P.sp-2	BECA OPEN-199	Antártida
P.sp-3	BECA OPEN-198(G84)	Antártida

3.2.2 Procesamiento del material

Durante las diferentes expediciones, los especímenes fueron clasificados, etiquetados y fijados en formalina tamponada (5% en agua de mar). Tras el período de fijación, las colonias se conservaron en etanol 70%. La terminología utilizada aquí sigue principalmente a Bayer *et al.* (1983). La longitud total de las colonias se consideró desde la base del pedúnculo hasta la parte superior distal del raquis. El raquis se dividió en tres zonas de longitud aproximadamente similar, llamadas basal, media y distal, siguiendo la metodología utilizada en estudios previos en octocorales (véase, por ejemplo, Orejas *et al.* 2002, Soong 2005, Edwards & Moore 2008, Baillon *et al.* 2014b). Los dos rasgos morfológicos cuantitativos analizados fueron las longitudes de escleritos y pólipos. Veinte escleritos del área superior e inferior del límite raquis-pedúnculo (10 por cada zona) se extrajeron, midieron y compararon. De cada zona del raquis, se seleccionaron al azar cinco autozooides, evitando los ubicados en la base de la hoja. Las comparaciones entre

pólipos se llevaron a cabo dentro de cada zona y entre las zonas de diferentes colonias. Para estimar el error de medida (ME en adelante), se realizaron tres observaciones independientes en diferentes días. Todas las medidas se obtuvieron utilizando el programa ImageJ 1.38x (Wayne Rasband, National Institutes of Health, USA).

3.2.3 Análisis de los datos

Los análisis estadísticos se realizaron usando el entorno computacional R v3.5.0. (R Core Team 2018). Las librerías y funciones utilizadas en cada caso se especifican abajo. La variabilidad subindividual en los dos rasgos examinados se estimó usando dos métodos comúnmente utilizados en estudios de plantas: el coeficiente de variación intra-colonia (CV en adelante) y la partición de la varianza (para más detalles ver Herrera 2009). En el primer método, el CV (calculado como la desviación estándar intra-colonia/media individual) es una medida de dispersión relativa que evalúa la proporción de la desviación estándar (sd) con respecto a la media (\bar{X}) y permite una comparación de la dispersión entre diferentes grupos o variables (las cuales podrían tener diferentes unidades de medida) (Herrera 2009, 2017). Con el fin de testar diferencias entre especies y la interacción "especies por zona de la colonia", se aplicó un test Anova al modelo. El paquete *emmeans* 1.4 se usó para calcular los promedios marginales (Lenth 2019). La prueba de Levene (Levene 1960) se utilizó para comparar los niveles de variabilidad entre diferentes especies, siendo el tipo seleccionado *Levene median-log test* (Schultz 1985). La función usada fue *leveneTest* incluida en el paquete *car* (Fox & Weisberg 2019), con la opción *center = "median"*. Las variabilidades entre especies se compararon **utilizando las “medias marginales”, es decir, los promedios de la** variable dependiente (tamaño de pólipo) para los diferentes niveles de una o más variables predictoras categóricas (see Herrera 2009).

El segundo método para evaluar cuantitativamente la variación intra-colonia en rasgos cuantitativos consistió en particionar la varianza total de cada rasgo (VAR_{total}) en sus componentes aditivos entre- (VAR_{among}) e intra-colonia (VAR_{within}) (Herrera 2009). Esto se llevó a cabo utilizando un modelo mixto jerárquico aleatorio completo (ver más abajo). Un inconveniente de particionar la varianza es que la componente de la varianza intra-individual podría ser inflada por el error de medida (ME) a menos que las estructuras reiteradas individuales sean medidas repetidamente, permitiendo así una estimación adecuada (ver Herrera 2009). En este enfoque se realizó una estimación precisa del ME usando medidas repetidas en cada espécimen con el fin de discernir la verdadera varianza intra-individual y el error de medida. Gracias al análisis de repetibilidad de las medidas a través de un diseño aleatorio completamente anidado, el componente ME se reveló diferente para ambos rasgos, siendo significativamente bajo en los análisis de *Ptillella Pennatula* (0.071%). Esto significa que la mayoría de la varianza "residual" en los modelos es realmente atribuible a diferencias entre las longitudes de los pólipos, es decir, al componente intra-individual (ver Discusión). Como ambos métodos (CV y VAR_{within}) están centrados en aspectos diferentes de la variabilidad intra-colonia los cuales podrían o no estar relacionados (Pearson 1901), ellos idealmente deberían ser usados en combinación (Herrera 2009), y éste es el enfoque seguido en los análisis llevados a cabo en el siguiente estudio.

El análisis preliminar realizado en *Pt. grayi* para obtener información inicial sobre la existencia y el grado de variabilidad intracolonia se basó en un modelo mixto jerárquico aleatorio completo. Los paquetes requeridos fueron: *readxl* (Wickham & Bryan 2019), *dplyr* (Wickham *et al.* 2019), *nlme* (Pinheiro *et al.* 2018) y *ape* 5.0 (Paradis & Schliep 2018). El siguiente análisis más completo usando colonias de *Ptillella* y *Pennatula* se basó en modelos mixtos jerárquicos aleatorios completos y modelos lineales (Herrera 2009). Los paquetes requeridos fueron: *readxl* 1.3.1 (Wickham & Bryan 2019), *dplyr* 0.8.3 (Wickham *et al.* 2019), *nlme* 3.1-137 (Pinheiro *et al.* 2018), *ape* 5.0 (Paradis & Schliep 2018), *ggplot2* (Wickham 2016), *car* (Fox & Weisberg 2019) y *emmeans* 1.4 (Lenth 2019).

3.3 Resultados

3.3.1 Variación en *Ptilella grayi*

La distribución de los valores promedios reveló que la zona superior del límite raquis-pedúnculo contenía escleritos más grandes (200-300 μm) que la zona inferior (100-150 μm). En la mayoría de las colonias el promedio de la longitud de pólipo aumentó desde la base (4-6 mm) a las zonas medial-distal del raquis (aproximadamente 6-8 mm). Para ambos rasgos las varianzas difirieron dentro- y entre colonias, como mostraron las diferencias en los rangos intercuartiles (IQR) (ver Figura S3.1). El coeficiente de variación (CV) del tamaño de esclerito varió entre 0-0.02, mientras que el CV para el tamaño de pólipo varió entre 0-0.25 (Figura 3.1). Esto indica que el rango de variabilidad del tamaño de pólipo es mayor que para el tamaño de esclerito. Sin embargo, el modelo confirmó diferencias significativas para ambos rasgos dentro de las colonias ($p\text{-value} < 0.001$; Anova test), y solo en el caso de tamaño de pólipo, diferencias significativas entre colonias ($p\text{-value} = 0.184$ para escleritos, $p\text{-value} < 0.001$ para pólipos; Anova test) (ver Tabla S3.1). La media, la desviación estándar y el CV de cada colonia son resumidos en la Tabla S3.2.

El otro enfoque para evaluar cuantitativamente la variación intracolonia consistió en particionar la varianza total a nivel poblacional del rasgo ($\text{VAR}_{\text{total}}$) en sus componentes aditivos entre-colonia ($\text{VAR}_{\text{among}}$) e intra-colonia ($\text{VAR}_{\text{within}}$). Para ambos rasgos considerados la varianza entre colonias fue insignificante ($\text{VAR}_{\text{among}} = 2.56\text{e-}04$ para tamaño de esclerito; $6.20\text{e-}08$ para tamaño de pólipo). En contraste, la variación de los valores residuales fue una fuente de variación sustancial ($\text{VAR}_{\text{within}} = 1.16\text{e}03$ para escleritos; $\text{VAR}_{\text{within}} = 0.92$ para pólipos; ver Tabla S3.3). Expresar las varianzas como porcentajes del total ($\%\text{VAR}_{\text{total}}$) confirmó la insignificante variación entre colonias para ambos rasgos ($\text{VAR}_{\text{among}} < 1\%$) y la

extensiva varianza intracolonia (VAR_{within} 28% y 49% para escleritos y pólipos, respectivamente) (Tabla S3.3).

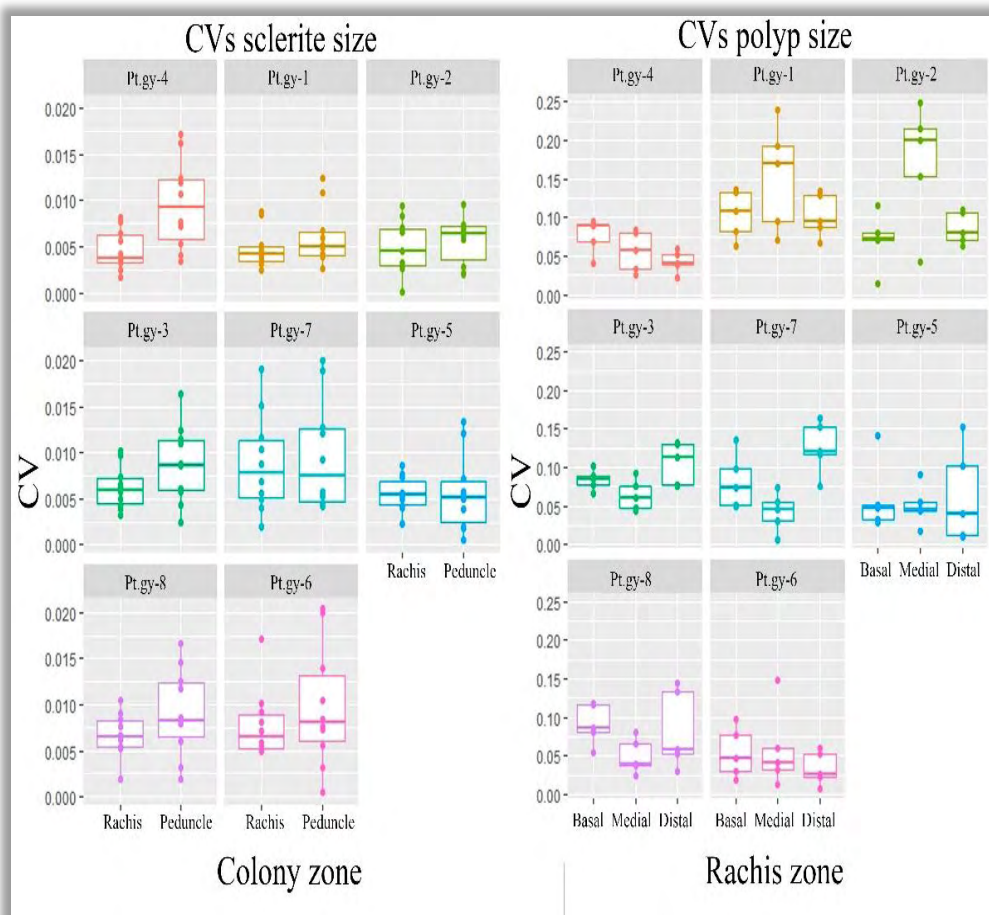


Figura 3.1. Distribución del coeficiente de variación (CV) de los tamaños de escleritos y pólipos dentro- y entre las colonias de *Ptilella grayi*. $CV = \bar{X}/sd$ [\bar{X} = media, sd = desviación estándar].

3.3.2 Variación en especies de *Ptilella* y *Pennatula*

Coeficiente de variación (CV)

La comparación de las variabilidades entre las colonias de las seis especies basada en los valores de CV mostró diferencias intra- y entre colonias (Figura 3.2).

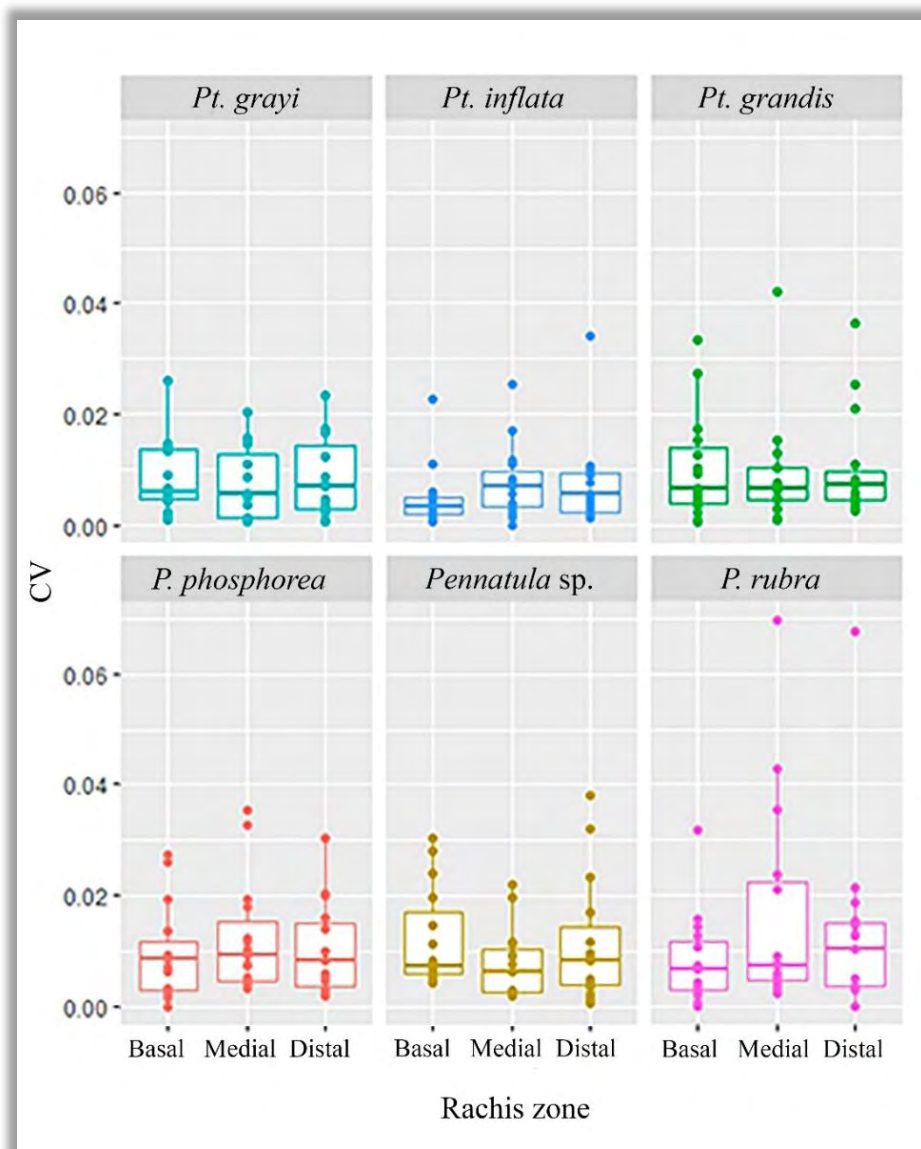


Figura 3.2. Distribución del coeficiente de variación (CV) del tamaño de pólipos dentro y entre las colonias de *Ptillella* y *Pennatula*. $CV = \bar{X}/sd$ [\bar{X} = media, sd = desviación estándar].

El CV para el tamaño de pólipos osciló entre 0-0.04. Allí existieron diferencias significativas entre especies y entre zonas dentro de la misma colonia ($p < 0.01$; Le-

vene test) (Tabla S3.4). La comparación de las variabilidades entre especies usando las "medias marginales" reveló una imagen más clara de la distribución de la variación intra- y entre colonias (Figura 3.3; ver también Tabla S3.5). Las diferencias entre especies en los niveles de variabilidad del tamaño de pólipo fueron estadísticamente significativas ($p < 0.001$; Levene test).

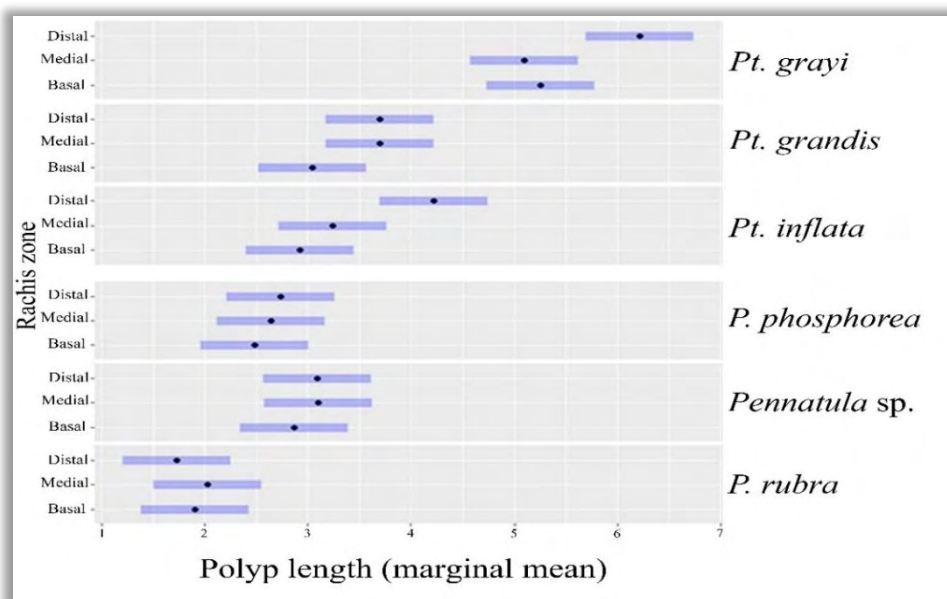


Figura 3.3. Diagrama de cajas resultado del análisis de las medias marginales usando el paquete *emmeans* basado en la longitud de pólipo dentro- y entre las colonias de *Ptilella* y *Pennatula*.

Partición de la varianza

La partición de la varianza del tamaño de pólipo reveló que la varianza entre colonias ($VAR_{among}=1.39$) cuadruplicaba la varianza entre zonas ($VAR_{zone}=0.35$) y doblaba la varianza intracolonia ($VAR_{within}=0.67$) (Tabla S3.6). En términos de proporciones del total ($\%VAR_{total}$), el componente de varianza debido a la variación entre colonias (VAR_{among} 57%) fue mayor que aquella debida a la variación

intracolonia (VAR_{within} 27%) (Tabla S3.6). En otras palabras, individuos de diferentes especies tuvieron una distribución diferente de la variabilidad interna, con independencia de la agrupación genérica ($p < 0.001$; Levene test).

3.3.3 Comparación entre plumas de mar y plantas

Los niveles de variabilidad subindividual de estructuras reiteradas obtenidos aquí para las colonias de *Ptilella* y *Pennatula* permitieron comparaciones con la variabilidad subindividual reportada para ciertos órganos de plantas (Figura 3.4). Entre nuestras estructuras reiteradas, los pólipos son más variables intracoloniales que los escleritos, los primeros mostrando niveles de variabilidad similares a las flores (Fig. 3.4). Aunque este rasgo muestra un nivel de variabilidad menor que frutos, hojas y semillas, representa una importante fuente de variabilidad (< 0.25) que debe ser considerada.

3.4 Discusión

En plantas, el estudio de la variación continua dentro el mismo individuo de características cuantitativas de órganos homólogos ha proporcionado una enorme cantidad de información y sugirió múltiples implicaciones biológicas y ecológicas (Herrera 2009, 2017). En contraste, en animales con organización modular como briozoos, hidrozoos o antozoos (Sánchez *et al.* 2007), el estudio de la variación entre estructuras homólogas dentro del mismo organismo se encuentra todavía en sus primeras etapas (Harvell 1984, Key 1990, O'Dea & Okamura 2000, O'Dea 2003, Wejnert & Smith 2008, Schweinsberg *et al.* 2017). Tradicionalmente, las categorías jerárquicas de variación morfológica han sido los criterios utilizados para investigar los patrones de variación de organismos modulares como los corales, siendo la variación intracoloniales generalmente descuidada en la mayoría de

estudios (Menezes *et al.* 2013). Sin embargo, diferencias morfológicas o funcionales en rasgos polipíferos dentro de una misma colonia han sido a veces reportadas (ver den Hartog 1977, Foster 1978, 1980, 1985; Hidaka & Yamazato 1984, Goldberg *et al.* 1990, Gunthorpe & Cameron 1990, Kaandorp & Kübler 2001, Todd *et al.* 2001, Leuzinger *et al.* 2003, Lapid *et al.* 2004, Neves 2004, Sakai 2005, Uistrup *et al.* 2006, Finelli *et al.* 2007, Kai & Sakai 2008, entre otros), y se conoce también una contribución reproductiva diferencial a lo largo de la colonia (ver Harriott 1983, Jackson & Coates 1986, Chornesky & Peters 1987, Harrison & Wallace 1990, y Sakai 1998, para hexacorales; Soong & Lang 1992, Coma *et al.* 1995, Brito *et al.* 1997, Orejas *et al.* 2002, para octocorales). Algunos estudios han

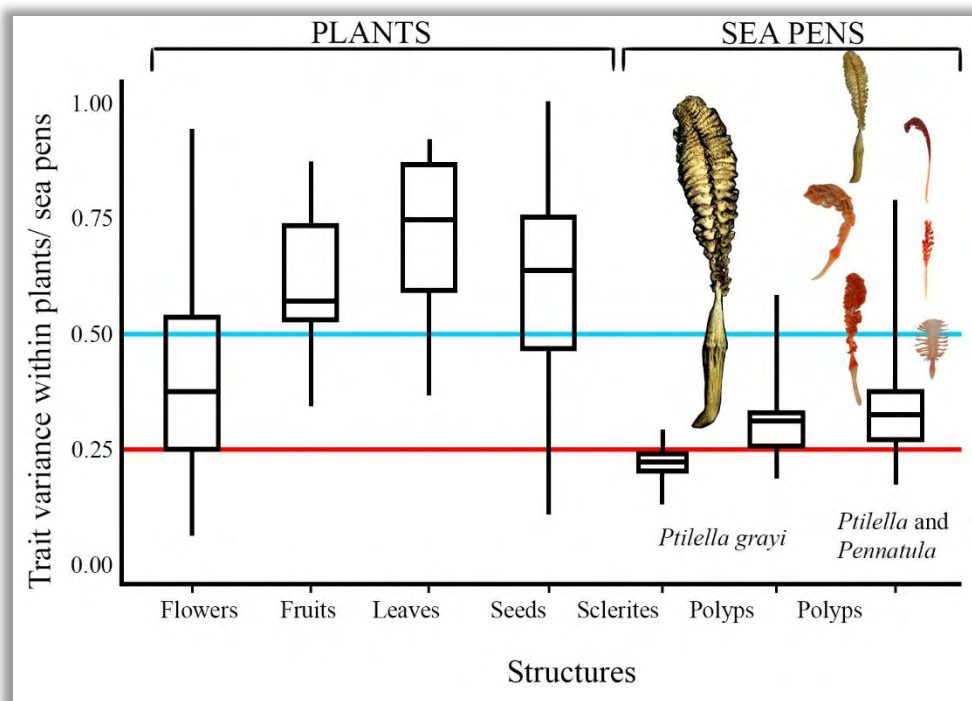


Figura 3.4. Comparación de la variabilidad intra-individuo entre rasgos de plantas y plumas de mar. Modificada parcialmente de Herrera *et al.* 2017: Fig. 1a. Las líneas horizontales marcadas denotan el nivel por encima del cual la varianza subindividual es mayor que la varianza entre las medias individuales (línea azul) o la cual supone una importante fuente de variación (línea roja).

reconocido también que la variación intracolonia puede a veces exceder la variación morfológica ambiental o interespecífica (Kaandorp & Kübler 2001: 55, Sánchez & Lasker 2003, Sánchez *et al.* 2007). El reciente estudio de Oury *et al.* (2020) demostró la existencia de variabilidad genética intracolonia (IGV) en corales *Pocillopora*, y sugirió que el mosaicismo es el proceso principal que conduce al IGV, con algunas tasas relativamente altas de quimerismo (Oury *et al.* 2020: 5213). Las colonias que presenten IGV deberían teóricamente tener un potencial evolutivo mejor que las colonias invariables. Genotipos múltiples deberían proporcionar varias unidades básicas sobre las cuales podría actuar la selección. Una de las posibles implicaciones evolutivas, ecológicas y morfológicas de este fenómeno podría ser la variación fenotípica intracolonia como se vió en la presente contribución. Algunos autores usando una metodología principalmente basada en la media y la desviación estándar han mostrado la existencia de una variación intracolonia significativa en colonias de plumas de mar (Sherwood *et al.* 2008, Edwards & Moore 2008, 2009, Baillon *et al.* 2014a, b, 2016). Nuestros resultados están basados en dos de los métodos más robustos para comparar variabilidades (Brown & Forsythe 1974, Van Valen 1978, Conover *et al.* 1981), ampliamente usados en comparaciones de variabilidad en plantas (Schultz 1983, 1985, Herrera 2009) pero no aplicados previamente en corales hasta donde sabemos). Sin embargo, una limitación de esta metodología es que requiere una estimación adecuada del error de medida (ME) (Herrera 2009), el cual es comúnmente no reconocido (por ejemplo, Sherwood *et al.* 2008 o Baillon *et al.* 2016). Sin la estimación del ME o su complementario, la repetibilidad de las medidas, una oculta fuente de variación podría estar inflando los niveles de varianza intracolonia reales (Herrera 2009). En nuestros análisis, se sospechó un cierto ME en de la componente intra-colonia para pólipos de *Ptilella grayi*. Tras detectar y corregir ese ME, nosotros podemos confirmar que la componente de varianza intra-individuo (VAR_{within}) es claramente mayor que el componente de varianza entre-colonias (VAR-

within >25%; VAR_{among}<1%) lo cual demuestra que la elevada componente de la varianza intra-individuo hallada en las especies de pennatuláceos es real y no un artefacto derivado de los problemas de medición ofrecidos por el material estudiado.

3.4.1 Distribución espacial de la variabilidad del rasgo

La naturaleza funcional de escleritos y pólipos está directamente relacionada con la estructura, la alimentación y el fitness de la colonia (Hickson 1916, Williams *et al.* 2012). Sin embargo, como se sugiere aquí, la distribución espacial de la variabilidad en algunas de sus características (por ejemplo, la longitud) no fue homogénea a lo largo del eje vertical de la colonia, sugiriendo una cierta "sectorialidad", como fue también reportado en plantas (Herrera 2009). Por ejemplo, los escleritos de *Pt. grayi* exhibieron una mayor variación por encima del límite raquis-pedúnculo (gradiente barro-agua), en la porción basal del raquis. Menezes *et al.* (2013) sugirieron que el raquis es una zona de presión ambiental más alta que el pedúnculo (enterrado) debido al contacto competitivo con organismos circundantes. De una forma similar, Herrera (2009) observó diferencias en la distribución de la variabilidad de ciertos rasgos en plantas acuáticas relacionadas con el gradiente agua-aire. En la mayoría de las colonias analizadas aquí, la longitud de pólipo mostró niveles de variación mayores en las zonas media-distal que en la zona basal del raquis. Entre los factores que podrían modular la variación intra-colonial, algunos autores han sugerido la fuente de alimentación, la inversión en fecundidad, el continuo enterramiento por el sedimento, o el contacto competitivo con los organismos circundantes (Soong & Lang 1992, Goffredo *et al.* 2011, Menezes *et al.* 2013). Esto fue sugerido para *Anthoptilum grandiflorum*, *Balticina finmarchica* y *Pennatula aculeata* (Baillon *et al.* 2016). En este sentido, los pólipos localizados en la zona medial-distal del raquis, más lejos del sustrato, podrían estar sujetos a condiciones de mayor estrés ambiental que aquellos pólipos localizados en la zona basal.

3.4.2 Variabilidades en plumas de mar y plantas

Considerando que la información en plumas de mar (como el número de características, individuos y especies analizados) es limitada en comparación con la gran cantidad de datos acumulados durante años para plantas, se pueden inferir algunos paralelismos remarcables (Fig. 4). En particular, el rasgo polipífero muestra niveles de variabilidad similares a aquellos de las flores, lo cual aunque siendo de los rasgos menos variables intraindividualmente hallado en plantas, supone niveles de variabilidad que son aún lejos de ser despreciables. En ese escenario hipotético, ¿qué podría suponer tal paralelismo para los pennatuláceos desde un punto de vista ecológico?

La similar organización de la variación fenotípica en pennatuláceos a esa observada en plantas, soporta la hipótesis de que la variabilidad subindividual es una propiedad emergente de los organismos individuales causada por su construcción modular y la reiteración de estructuras homólogas con la misma función (hojas, frutos, flores o semillas en plantas; escleritos o pólipos en plumas de mar), independientemente de su origen evolutivo. Paralelismos como este entre plantas y animales nos permiten conocer las consecuencias de ciertos procesos naturales que se sabe ocurren en uno de los dos reinos e inferirlos en el otro (Herrera *et al.* 2015, Alonso *et al.* 2018). Siguiendo esta idea, la influencia ejercida por la fauna asociada (por ejemplo animales consumidores) en la organización de la varianza intra-individual en plantas (Herrera 2009), podría tener efectos similares entre depredadores y plumas de mar (Clippele *et al.* 2015), abriendo un nuevo campo de estudio.

Por ejemplo, se ha sugerido que la variabilidad subindividual en algunos rasgos funcionales de las hojas puede ser ventajosa para los individuos al mejorar el rendimiento fotosintético de toda la planta y optimizar la explotación de la variación ambiental (Osada *et al.* 2014, Herrera 2017). Se sabe que algunos anima-

les consumidores tienen la oportunidad de discriminar no solo entre plantas individuales, sino también entre la multiplicidad de órganos no idénticos que nace por cada una de ellas, afectados por la distribución de la variabilidad de la recompensa ofrecida por las plantas (Herrera 2009, 2017). De la misma manera, la variabilidad subindividual de rasgos polipíferos podían estar relacionados con la **optimización de la explotación de recursos vía “división del trabajo” dentro del individuo** (Sides *et al.* 2014, Siefert *et al.* 2015). En este caso hipotético, los depredadores de plumas de mar (tales como *Tritonia* sp. sobre *Pteroelides* sp. en Duncan 1998, García-Matucheski & Munian 2011; o *Armina* sp. sobre *Veretillum cynomorium* o *Ptilosarcus guernei* en Birkeland 1974, Jones *et al.* 2000, Buhl-Mortensen *et al.* 2010, entre otros) ejercerían cierta discriminación entre colonias y podrían del mismo modo estar influenciados por los niveles de variación subindividual, una hipótesis interesante que podría ser testada por futuros estudios en pennatuláceos.

3.4.3 Conclusiones

En resumen, considerando que nuestros resultados deben tomarse con cautela, el paralelismo hallado entre pennatuláceos y plantas promueve una multitud de interrogantes biológicos. En este punto, podemos ofrecer respuestas a las preguntas enumeradas en la Introducción: (1) especies congénicas de plumas de mar (por ejemplo, *Pt. grandis*, *Pt. grayi* y *Pt. inflata*) difirieron con respecto a la distribución cuantitativa de la varianza poblacional dentro- y entre colonias en rasgos polipíferos cuantitativos de los pólipos. (2) Sin embargo, factores adicionales como condiciones ecológicas contrastantes entre las diferentes áreas de recolección podrían compensar y ocultar el efecto de esta distribución. (3) De una forma similar, las especies de *Ptilella* y *Pennatula*, similares morfológicamente aunque filogenéticamente diferenciadas, mostraron diferencias en la distribución intra- y entre colonias de la varianza poblacional, pero no relacionadas con la agrupación taxonómica a nivel de género. Y (4), este estudio sugiere, como un paralelismo entre

plantas y animales, que la organización de la variación fenotípica en pennatuláceos es bastante similar a la observada en plantas terrestres.

Este estudio por tanto sirve como un primer paso para futuros estudios que mejoren nuestro conocimiento sobre las posibles implicaciones ecológicas, generen criterios más adecuados para la delimitación de límites morfológicos interespecíficos, diseños experimentales más eficientes y, finalmente, generen nuevas e interesantes hipótesis biológicas ya formuladas y discutidas en plantas, pero desconocidas en plumas de mar y otros organismos modulares coloniales marinos.

3.5 Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a numerosos colegas y jefes de cruceros quienes han trabajado en las diferentes campañas durante las cuales se ha obtenido el material aquí examinado: BENGUELA VIII, ANT XVII/3, BIOROSS, INDEMARES Chica, cruceros *Scottia* y la **expedición Bahía'90**. En estos cruceros, nuestro agradecimiento especial está dirigido a Wolf Arntz, Josep-María Gili, Jim Drewery, Stefano Schiaparelli y Annenina Lortz. El estudio de los ejemplares antárticos fue posible gracias al proyecto español ANT99-1608-E que permitió la participación en el crucero Polarstern ANT XVII/3. La concepción final de este trabajo se ha llevado a cabo bajo el proyecto CTM2017-83920-P (DIVERSICORAL), financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España.

Apenas hemos empezado a aprender cómo mirar, [...] apenas hemos comenzado a reconocer que deberíamos mirar... ¿Qué estamos omitiendo al interpretar este mundo según la escala inapropiada de nuestros minúsculos cuerpos y efímeras vidas?

(Gould 2004:741/708)

In a similar way of how Herrera noted for plants (2009: 339), subindividual variation in octocorals seems to have succumbed so far to the risk of looking and yet overlooking.

(p.o.)

3.6 Referencias

- Alonso C., Pérez R., Bazaga P., Medrano M., Herrera C.M. 2018. Within-plant variation in seed size and inflorescence fecundity is associated with epigenetic mosaicism in the shrub *Lavandula latifolia* (Lamiaceae). *Ann. Bot.* 121: 153-160.
- Baillon S., Hamel J.-F., Mercier A. 2014a. Diversity, distribution and nature of faunal associations with deep-sea pennatulacean corals in the Northwest Atlantic. *PLoS ONE*. 9(11): e111519. doi:10.1371/journal.pone.0111519
- Baillon S., Hamel J.-F., Wareham V.E., Mercier A. 2014b. Seasonality in reproduction of the deep-water pennatulacean coral *Anthoptilum grandiflorum*. *Mar. Biol.* 161: 29-43.
- Baillon S., English M., Hamel J.F., Mercier A. 2016. Comparative biometry and isotopy of three dominant pennatulacean corals in the Northwest Atlantic. *Acta Zool.* 97(4): 475-493.
- Bayer F.M. 1956. Octocorallia. In: Moore, R.C. ed. *Treatise on invertebrate paleontology. Part F. Coelenterata.* Geol. Soc. America Univ. Kansas Press. New York and Lawrence Kansas, pp. 166-231.
- Bayer F.M., Grasshoff M., Verseveldt J. 1983. *Illustrated trilingual glossary of morphological and anatomical terms applied to Octocorallia.* E. J. Brill/ Dr. Backhuys, Leiden. 75 pp.
- Birkeland C. 1974. Interactions between a sea pen and seven of its predators. *Ecol. Monogr.* 44(2): 211-232.
- Borges R.M. 2005. Do plants and animals differ in phenotypic plasticity? *J. Biosci.* 30(1): 41-50.
- Brito T.A.S., Tyler P.A., Clarke A. 1997. Reproductive biology of the Antarctic octocoral *Thouarella variabilis* Wright and Studer 1889. *Proc 6th Int Conf Coelenterate Biology, Natural History Museum of Leiden, The Netherlands.* 63-69 pp.
- Brown M.B., Forsythe A.B. 1974. Robust tests for the equality of variances. *J. Am. Stat. Assoc.* 69: 364-367.
- Buhl-Mortensen L., Vanreusel A., Gooday A.J., et al. 2010. Biological structures as a source of habitat heterogeneity and biodiversity on the deep ocean margins. *Mar. Ecol.* 31: 21-50.
- Chornesky E.A., Peters E.C. 1987. Sexual reproduction and colony growth in the scleractinian coral *Porites astreoides*. *Biol. Bull.* 172: 161-77.
- Clippelle L.H., Buhl-Mortensen P., Buhl-Mortensen L. 2015. Fauna associated with cold water gorgonians and sea pens. *Cont. Shelf Res.* 105: 67-78.
- Coma R., Ribes M., Zabala M., Gili J.M. 1995. Reproduction and cycle of gonadal development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 117: 173-183.
- Conover W.J., Johnson M.E., Johnson M.M. 1981. A comparative study of tests for homogeneity of variances, with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technomet.* 23: 351-361.

- Darwin C. 1859. On the origin of species. Murray, London.
- Duncan J.C. 1998. Biology of the sea pen *Pteroeides* sp. in Fiordland, New Zealand. PhD dissertation, Univ. Otago (New Zealand), 88 pp.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2008. Reproduction in the sea pen *Pennatula phosphorea* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. *Mar. Biol.* 155: 303-314.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2009. Reproduction in the sea pen *Funiculina quadrangularis* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 82: 161-168.
- Finelli C.M., Helmuth B.S., Pentcheff N.D., Wethey D.S. 2007. Intracolony variability in photosynthesis by corals is affected by water flow: role of oxygen flux. *Mar. Ecol. Prog. Ser. Series.* 349: 103-110.
- Foster A.B. 1978. Morphologic variation within three species of reef corals (Cnidaria, Anthozoa, Scleractinia). Unpub. Ph.D. Thesis, Univ. Johns Hopkins, Baltimore, Md. 468 pp.
- Foster A.B. 1980. Environmental variation in skeletal morphology within the Caribbean reef corals *Montastraea annularis* and *Siderastrea siderea*. *Bull. Mar. Sci.* 30(3): 678-709.
- Foster A.B. 1985. Variation within coral colonies and its importance for interpreting fossil species. *Journ. Paleontol.* 59: 1359-1381.
- Fox J., Weisberg S. 2019. An {R} Companion to Applied Regression, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia: Pennatulacea). *Sci. Mar.* 83(3). <https://doi.org/10.3989/scimar.04845.26A>
- García-Cárdenas F.J., Núñez-Flores M., López-González P.J. 2020. Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *Sci. Mar.* 84(4): 317-330. <https://doi.org/10.3989/scimar.05067.28A>
- García-Matucheski S., Muniain C. 2011. Predation by the nudibranch *Tritonia odhneri* (Opisthobranchia: Tritoniidae) on octocorals from the South Atlantic Ocean. *Mar. Biodivers.* 41(2): 287-297.
- Goffredo S., Caroselli E., Gasparini G., et al. 2011. Colony and polyp biometry and size structure in the orange coral *Astroides calycularis* (Scleractinia: Dendrophylliidae). *Mar. Biol. Res.* 7(3): 272-280.
- Goldberg W.M., Grang K.R., Taylor G.T., Zuniga A.L. 1990. The structure of sweeper tentacles in the black coral *Antipathes fiordensis*. *Biol. Bull.* 179: 96-104.
- Gunthorpe L., Cameron A. M. 1990. Intracolony variation in toxicity in scleractinian corals. *Toxicon.* 28(10): 1221-1227.
- Haeckel E.H.P.A. 1869. Ueber Den Organismus Der Schwamme und Ihre Verwandtschaft Mit Den Coralen.
- Hallé F. 1999. Éloge de la plante. Pour une nouvelle biologie. Éditions du Seuil, Paris, France. 356 pp.
- Harriott V.J. 1983. Reproductive ecology of four scleractinian species at Lizard Island, Great Barrier Reef. *Coral Reefs.* 2: 9-18.

- Harrison P.L., Wallace C.C. 1990. Reproduction, dispersal and recruitment of scleractinian corals. In: Dubinsky Z (ed). *Ecosystems of the World*. Vol. 25. Coral Reefs. Amsterdam: Elsevier. 133-207 pp.
- Hartog den J.C. 1977. The marginal tentacles of *Rhodactis sanctithomae* (Corallimorpharia) and the sweeper tentacles of *Montastrea cavernosa* (Scleractinia) their cnidom and possible function. *Proc. 3rd Int. Coral Reef Symp.* 1: 463-469.
- Harvell D. 1984. Why nudibranchs are partial predators: intracolony variation in bryozoan palatability. *Ecology*. 65(3): 716-724.
- Herrera C.M. 2009. Multiplicity in unity. Plant subindividual variation and interactions with animals, Univ.Chicago Press, Chicago, USA. 437 pp.
- Herrera C.M. 2017. The ecology of subindividual variability in plants: patterns, processes, and prospects. *Web Ecology*. 17(2): 51-64.
- Herrera C.M., Medrano M., Bazaga P. 2015. Continuous within plant variation as a source of intra-specific functional diversity: patterns, magnitude, and genetic correlates of leaf variability in *Helleborus foetidus* (Ranunculaceae). *Am. J. Bot.* 102: 225-232.
- Herrera C.M., Bazaga P., Pérez R., Alonso C. 2021. Lifetime genealogical divergence within plants leads to epigenetic mosaicism in the shrub *Lavandula latifolia* (Lamiaceae). *New Phytol.* 231: 2065-2076.
- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. *Siboga Expedition Monographs* 14, Livr. 77: 1-265.
- Hidaka M., Yamazato K. 1984. Interspecific interactions in a scleractinian coral *Galaxea fascicularis*: Induced formation of sweeper tentacles. *Coral Reefs*. 3: 77-85.
- Hughes R.N. 2005. Lessons in modularity: the evolutionary ecology of colonial invertebrates. *Sci. Mar.* 69(S1): 169-179.
- Jackson J.B.C., Coates A.G. 1986. Life cycles and evolution of clonal (modular) animals. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B.* 313: 7-22.
- Jones L.A., Hiscock K., Connor D.W. 2000. Marine habitat reviews, a summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of Marine SAC's. **UK Marine SAC's Project Report. Peterborough: Joint Nature Conservation Committee.** 178 pp.
- Kai S., Sakai K. 2008. Effect of colony size and age on resource allocation between growth and reproduction in the corals *Goniastrea aspera* and *Favites chinensis*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 354: 133-39.
- Kaandorp J.A., Kübler J.E. 2001. Environmentally driven plasticity. In: *The Algorithmic Beauty of Seaweeds, Sponges and Corals*. Springer, Berlin, Heidelberg. 15-66 pp.
- Key M.M. 1990. Intracolony variation in skeletal growth rates in Paleozoic ramose trepostome bryozoans. *Paleobiology*. 16(4): 483-491.
- Kim E., Lasker H.R., Coffroth M.A., Kim K. 2004. Morphological and genetic variation across reef habitats in a broadcast-spawning octocoral. *Hydrobiologia*. 530(1-3): 423-432.
- Fox J., Weisberg S. 2019. *car: An {R} Companion to Applied Regression*, Third Edition. Thousand Oaks CA: Sage. URL: <https://socialsciences.mcmaster.ca/jfox/Books/Companion/>
- Lapid E.D., Wielgus J., Chadwick-Furman N.E. 2004. Sweeper tentacles of the brain coral *Platygyra daedalea*: Induced development and effects on competitors. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 282: 161-71.

- Lasker H.R., Boller M.L., Castanaro J., Sánchez J.A. 2003. Modularity and determinate growth in a gorgonian coral. *Biol. Bull.* 205: 319-330.
- Lenth R. 2019. emmeans 1.4: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means. R package version 1.4. <https://CRAN.R-project.org/package=emmeans>.
- Leuzinger S., Anthony K.R.N., Willis B.L. 2003. Reproductive energy investment in corals: Scaling with module size. *Oecologia*. 136: 524-31.
- Levene H. 1960. Robust tests for equality of variances. In: I. Olkin et al. (Eds.), *Contributions to probability and statistics: Essays in honor of Harold Hotelling*. Stanford, CA: Stanford University Press. 278-292 pp.
- Menezes N.M.D., Neves E.G., Barros F., et al. 2013. Intracolony variation in *Siderastrea de Blainville, 1830* (Anthozoa, Scleractinia): taxonomy under challenging morphological constraints. *Biota Neotropica*. 13(1): 108-116.
- Neves E.G. 2004. *Complexo Siderastrea: espécies distintas? Significado da variabilidade do gênero Siderastrea de Blainville, 1830 (Anthozoa: Scleractinia) no Brasil*. Ph.D. thesis, Univ. São Paulo, Brazil.
- O'Dea A. 2003. Seasonality and zooid size variation in Panamanian encrusting bryozoans. *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 83(5): 1107-1108.
- O'Dea A., Okamura B. 2000. Intracolony variation in zooid size in cheilostome bryozoans as a new technique for investigating palaeoseasonality. *Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 162(3-4): 319-332.
- Orejas C., López-González P.J., Gili J.M., et al. 2002. Distribution and reproductive ecology of the Antarctic octocoral *Ainigmaptilon antarcticum* in the Weddell Sea. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 231: 101-114.
- Osada N., Yasumura Y., Ishida A. 2014. Leaf nitrogen distribution in relation to crown architecture in the tall canopy species, *Fagus crenata*. *Oecologia*. 175: 1093-1106.
- Oury N., Gélín P., Magalon H. 2020. Together stronger: Intracolony genetic variability occurrence in *Pocillopora* corals suggests potential benefits. *Ecol. Evol.* 10: 5208-5218.
- Paradis E., Schliep K. 2018. ape 5.0: an environment for modern phylogenetic and evolutionary analyses in R. *Bioinformatics*. 35: 526-528.
- Pearson K. 1901. *Mathematical contributions to the theory of evolution: 9, On the principle of homotyposis and its relation to heredity, to the variability of the individual, and to that of the race; part 1, homotyposis in the vegetable kingdom*. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. A.* 197: 285-379.
- Pérez-Harguindeguy N., Díaz S., Garnier E., et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Aust. J. Bot.* 61: 167-234.
- Pinheiro J., Bates D., DebRoy S., Sarkar D., R Core Team. 2018. nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models. R package version 3.1-137, <URL: <https://CRAN.R-project.org/package=nlme>>.
- Prada C., Schizas N.V., Yoshioka P.M. 2008. Phenotypic plasticity or speciation? A case from a clonal marine organism. *BMC Evol. Biol.* 8(1): 47.
- R Core Team. 2018. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Sakai K. 1998. Effect of colony size, polyp size, and budding mode on egg production in a colonial coral. *Biol. Bull.* 195: 319-25.
- Sakai K. 2005. Intraspecific contact and egg production in the massive coral *Goniastrea aspera* in Okinawa, subtropical Japan. *Zool. Sci.* 22: 659-64.
- Sánchez J.A., Lasker H.R. 2003. Patterns of morphologic integration in branching colonies of marine modular organisms: supramodule organization in gorgonian corals. *Proc. R. Soc. Lond. B.* 270: 2039-2044.
- Sánchez J.A., Aguilar C., Dorado D., Manrique N. 2007. Phenotypic plasticity and morphological integration in a marine modular invertebrate. *BMC Evol. Biol.* 7(1): 122.
- Schultz B.B. 1983. On Levene's test and other statistics of variation. *Evol. Theory.* 6:197-203.
- Schultz B.B. 1985. Levene's test for relative variation. *Syst. Zool.* 34: 449-456.
- Schweinsberg M., Tollrian R., Lampert K.P. 2017. Inter- and intra- colonial genotypic diversity in hermatypic hydrozoans of the family Milleporidae. *Mar. Ecol.* 38(1): e12388.
- Sherwood O.A., Jamieson R.E., Edinger E.N., Wareham V.E. 2008. Stable C and N isotopic composition of cold-water corals from the Newfoundland and Labrador continental slope: Examination of trophic, depth and spatial effects. *Deep-Sea Res. I.* 55: 1392-1402.
- Sides C.B., Enquist B.J., Ebersole J.J., et al. 2014: Revisiting Darwin's hypothesis: Does greater intraspecific variability increase species' ecological breadth?** *Am. J. Bot.* 101: 56-62.
- Siefert A., Violle C., Chalmandrier L., Albert C.H., et al. 2015: A global meta-analysis of the relative extent of intraspecific trait variation in plant communities. *Ecol. Lett.* 18: 1406-1419.
- Soong K, Lang J.C. 1992. Reproductive integration in reef corals. *Biol. Bull.* 183: 418-431.
- Soong K. 2005. Reproduction and colony integration of the sea pen *Virgularia juncea*. *Mar. Biol.* 146(6): 1103-1109.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. *Bull. Mus. Natl. Hist. Nat.* 37: 705-716.
- Todd P.A., Sanderson P.G. Chou L.M. 2001. Morphological variation in the polyps of the scleractinian coral *Favia speciosa* (Dana) around Singapore. *Hydrobiologia.* 444: 227-235.
- Ulstrup K.E., Ralph P.J., Larkum A.W.D., Kühl M. 2006. Intra-colonial variability in light acclimation of zooxanthellae in coral tissues of *Pocillopora damicornis*. *Mar. Biol.* 149(6): 1325-1335.
- Van Valen L. 1978. The statistics of variation. *Evol. Theory.* 4: 33-43.
- Wejnert K.E., Smith A.M. 2008. Within- colony variation in skeletal mineralogy of *Adeonellopsis* sp. (Cheilostomata: Bryozoa) from New Zealand. *N. Z. J. Mar. Freshw. Res.* 42(4): 389-395.
- Williams G.C., Hoeksema B.W., van Ofwegen L.P. 2012. A fifth morphological polyp in pennatulacean octocorals, with a review of polyp polymorphism in the genera *Pennatula* and *Pteroeides* (Anthozoa: Pennatulidae). *Zool. Stud.* 51(7): 1006-1017.
- Wickham H., Bryan J. 2019. readxl: Read Excel Files. R package version 1.3.1. <https://CRAN.R-project.org/package=readxl>
- Wickham H., Romain F., Lionel H., Kirill M. 2019. dplyr: A Grammar of Data Manipulation. R package version 0.8.3. <https://CRAN.R-project.org/package=dplyr>
- Wickham H. 2016. ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis. Springer-Verlag New York.

3.7 Material suplementario

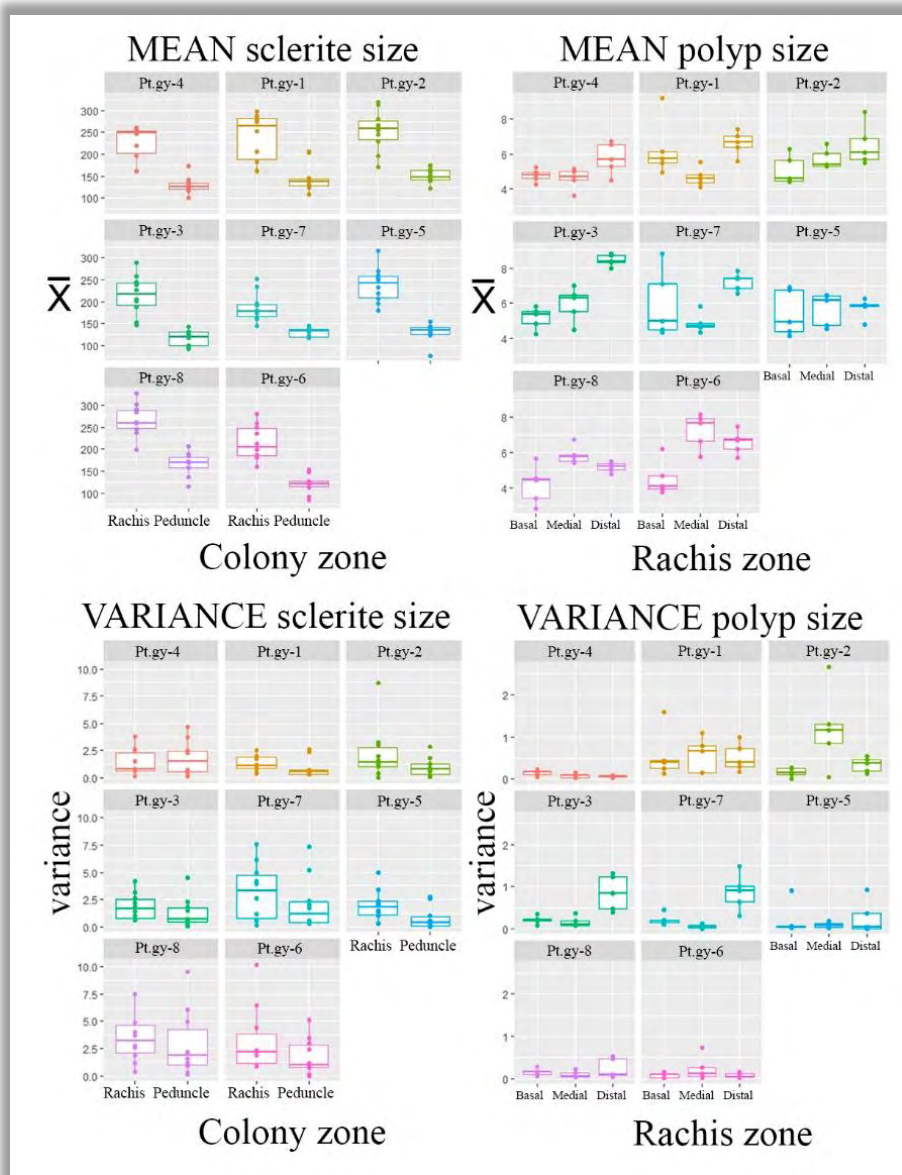


Figura S3.1. Distribución de los valores promedios (\bar{X}) y componentes de la varianza de escleritos y pólipos dentro- y entre las colonias de *Ptilella grayi*.

Tabla S3.1. Resultados de la prueba de Anova aplicada al modelo basado en el CV de los tamaños de escleritos y pólipos para las ocho colonias de *Pt. grayi*. Sum sq. = Suma de cuadrados, Gf = grados de libertad. Código Signif. *** = <0.001.

Anova	Escleritos					Pólipos				
	Sum sq.	Gf	F value	Pr (>F)	Sig nif.	Sum sq.	Gf	F value	Pr (>F)	Sig nif.
colonias	60937	7	6.9474	3.97e-07	***	27.459	7	4.6625	1.57e-04	***
zonas	378639	1	302.1793	<2.2e-16	***	37.303	2	22.1693	1.21e-8	***
Colonia: zonas	12837	7	1.4635	0.184		53.277	14	4.5233	3.40e-06	***
Residuos	180436	144				80.766	96			

Tabla S3.2. Coeficiente de variación de las colonias de *Pt. grayi*. \bar{X} = valor promedio, sd = desviación estándar; CV = coeficiente de variación. En amarillo se resalta en valor más alto en cada colonia. Basado en 360 observaciones.

<i>Ptilella grayi</i> colonia	Escleritos						Pólipos								
	Raquis			Pedúnculo			Basal			Medial			Distal		
	\bar{x} (μm)	sd (μm)	CV	\bar{x} (μm)	sd (μm)	CV	\bar{x} (mm)	sd (mm)	CV	\bar{x} (mm)	sd (mm)	CV	\bar{x} (mm)	sd (mm)	CV
Pt.gy-1	238.57	52.27	0.219	146.72	32.40	0.216	6.29	1.67	0.265	4.68	0.81	0.172	6.61	0.88	0.133
Pt.gy-2	269.27	62.05	0.230	151.32	15.78	0.104	5.08	0.86	0.169	5.72	1.06	0.186	6.49	1.19	0.184
Pt.gy-3	215.35	43.58	0.202	116.63	17.23	0.148	5.16	0.69	0.134	5.97	0.97	0.163	8.46	0.84	0.099
Pt.gy-4	230.30	32.71	0.142	129.18	18.43	0.143	4.76	0.46	0.096	4.58	0.60	0.132	5.75	0.87	0.151
Pt.gy-5	247.25	43.61	0.176	130.12	20.18	0.155	5.43	1.27	0.234	5.67	0.91	0.160	5.72	0.68	0.119
Pt.gy-6	215.08	38.06	0.177	120.68	21.01	0.174	4.52	0.95	0.211	7.23	1.03	0.142	6.58	0.65	0.099
Pt.gy-7	187.07	32.14	0.172	130.76	9.89	0.076	5.95	1.86	0.313	4.86	0.56	0.116	7.22	0.92	0.127
Pt.gy-8	266.62	35.16	0.132	165.75	25.20	0.152	4.17	1.07	0.256	5.85	0.55	0.095	5.16	0.49	0.096

Tabla S3.3. Resumen de los resultados de los análisis de los tamaños de escleritos y pólipos en *Pt. grayi* usando un modelo mixto jerárquico aleatorio completo (lme); lme= resultados del análisis lme; VAR = varianza; ape = resultado del análisis ape; %VAR_{total} = varianza total (%); ME = error de medida. Basado en 360 observaciones.

	Esclerito			Polipo		
	VAR _{among}	VAR _{zone}	VAR _{within}	VAR _{among}	VAR _{zone}	VAR _{within}
lme VAR	2.56e-04	2.97e03	1.16e03	6.20e-08	0.9604	0.9216
lme intervals	9.14e-34 - 3.06e+29	37.97-78.40				
Within Std Error			32.04 – 36.44			
ape	6.75e-08	0.718	0.281	3.25e-08	0.506	0.493
%VAR _{total}	<1%	71%	28%	<1%	50%	49%
ME			0.04%			16%
Repeatability			99%			84%

Tabla S3.4. Test de Levene aplicado al modelo *lme* basado en el CV para el tamaño de pólipo en colonias de *Ptilella* y *Pennatula*. Sum sq. = Suma de cuadrados, GF = grados de libertad. Código Signif. : *** = <0.001; ** = <0.01.

Levene	Sum sq.	Gf	F value	Pr (>F)	Signif.
Especies	338.99	5	64.0906	<2.2e-16	***
Zonas	13.13	2	6.2073	0.0023	**
Species: zonas	17.65	10	1.6680	0.088	
Residuos	266.58	252			

Tabla S3.5. Resultados del análisis *emmeans* en colonias de *Ptilella* y *Pennatula*. Nivel de confianza utilizado 0.95. Error estándar = 0.266, grados de libertad = 252.

Species	Zone	Basal	Medial	Distal
<i>Ptilella grayi</i>	emmean	5.25	5.10	6.22
	Lower limit	4.73	4.58	5.69
	Upper limit	5.78	5.62	6.74
<i>Ptilella grandis</i>	emmean	3.04	3.69	3.70
	Lower limit	2.52	3.17	3.18
	Upper limit	3.56	4.22	4.22
<i>Ptilella inflata</i>	emmean	2.92	3.24	4.22
	Lower limit	2.40	2.72	3.70
	Upper limit	3.44	3.77	4.75
<i>P. phosphorea</i>	emmean	2.49	2.65	2.73
	Lower limit	1.96	2.12	2.21
	Upper limit	3.01	3.17	3.26
<i>Pennatula</i> sp.	emmean	2.87	3.10	3.09
	Lower limit	2.34	2.58	2.57
	Upper limit	3.39	3.62	3.62
<i>P. rubra</i>	emmean	1.90	2.03	1.73
	Lower limit	1.38	1.51	1.21
	Upper limit	2.43	2.55	2.25

Tabla S3.6. Resultados del modelo lineal de efectos mixtos en especies de *Ptilella* y *Pennatula*; *ape* = resultado del análisis *ape*; ME = error de medida. Basado en 540 observaciones. Aprox. 95% intervalos de confianza.

	VAR_{among}	VAR_{zone}	VAR_{within}
Varianza	1.39	0.35	0.67
Fixed effects	3.332		
Fixed effects: intervals	2.75 – 3.91		
<i>ape</i>	0.5774	0.1455	0.2769
%VAR	57%	14%	27%
ME			<1% (0.00071)
Repeatability			≈99%

CAPÍTULO CUARTO

4 ESTUDIO DE REPRODUCCIÓN

Some observations on the reproductive biology of the Mediterranean pennatulacean

Pteroeides spinosum (Ellis, 1764)

(Octocorallia: Pennatulacea)

Francisco J. García-Cárdenas¹ and Pablo J. López-González¹

¹Biodiversidad y Ecología Acuática. Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 – Sevilla, España

(FJG-C) (corresponding author) E-mail: frangarca@us.es. ORCID-iD: 0000-0002-1503-9552

(PJL-G) E-mail: pjlopez@us.es. ORCID-iD: 0000-0002-7348-6270

Enviado a Thalassas

“No fallacy is more common with naturalists, than that the numbers of an individual species depend on its powers of propagation.”

4.1 Introducción

A pesar de los esfuerzos para mejorar nuestro conocimiento de la biología de octocorales (ver Orejas *et al.* 2002, Page & Lasker 2012, Coelho & Lasker 2014, entre otros), muchos grupos permanecen pobremente estudiados desde un punto de vista reproductivo. La información sobre la biología reproductiva de las especies es esencial para comprender dinámicas poblacionales y potenciales respuesta a perturbaciones (Servetto *et al.* 2013).

Esta falta de conocimiento limita nuestra capacidad actual para evaluar el potencial de supervivencia de las especies, así como otros procesos biológicos, como la resiliencia de la población tras una reducción en el número de individuos debido a perturbaciones naturales o antropogénicas. Determinar las características reproductivas de una especie (como el esfuerzo reproductivo, el ciclo reproductivo, la fecundidad, la proporción de sexos, los eventos de desove, etc.) no solo mejora nuestro conocimiento de la especie en particular, sino que también nos brinda información que constituye una herramienta útil para diseñar planes de conservación (Connor *et al.* 2003, Davies *et al.* 2017), así como inferir la vulnerabilidad de esa especie, que a su vez afectará indirectamente a un conjunto de especies asociadas que coexisten con ella (Roberts *et al.* 2006).

En este sentido, los octocorales forman hábitats esenciales que albergan una importante reserva de fauna asociada (Baillon *et al.* 2012, Clippele *et al.* 2015). Los bancos o jardines de estos organismos bioconstructores a menudo se denominan puntos calientes de biodiversidad, similares a los arrecifes de coral tropicales (Buhl-Mortensen *et al.* 2010) con una alta vulnerabilidad a las perturbaciones naturales o antropogénicas (Roberts 2002, Carney 2005).

Entre los octocorales, las plumas de mar (Octocorallia: Pennatulacea) parecen ser el grupo más especializado, con importantes adaptaciones morfológicas, como un pedúnculo muscular que les sirve como un sistema de anclaje en fondos

fangosos y arenosos (Kükenthal 1915, Williams 2011), donde frecuentemente actúan como bioconstructores de un paisaje tridimensional bentónico sobre el cual se aloja una rica fauna (Baillon *et al.* 2012, Chimienti *et al.* 2018). Este importante papel ecológico ha sido reconocido internacionalmente al incluir los lechos de plumas de mar y su megafauna asociada en la lista OSPAR de especies y hábitats amenazados o en declive (Jones *et al.* 2000, Curd 2010).

Nuestro conocimiento sobre las características reproductivas de las plumas de mar ha aumentado en los últimos 20 años (Eckelbarger *et al.* 1998, Tremblay *et al.* 2004, Lopes *et al.* 2012, Servetto & Sahade 2016, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021, entre otros). Gracias a estos estudios previos sabemos que los pennatuláceos son exclusivamente gonocóricos y organismos liberadores de gametos al medio, y hasta la fecha, no se ha encontrado ninguna evidencia sólida de desarrollo larval interno o eventos de partenogénesis (Baillon *et al.* 2014).

Se han descrito especies de plumas de mar con una alta fecundidad, que producen hasta 200.000 ovocitos por colonia en una temporada (Chia & Crawford 1973). Se han encontrado grandes ovocitos de hasta 1.200 μm de diámetro (Pires *et al.* 2009), lo cuales después del evento de desove y el proceso de fertilización externa, producen larvas plánulas lecitotróficas que nadan activamente antes de asentarse y metamorfosear cuando se detecta un sustrato adecuado (Chia & Crawford 1973).

Varios patrones temporales reproductivos han sido reportados en plumas de mar. Por un lado, los pennatuláceos de aguas poco profundas parecen seguir principalmente un ciclo anual en el que el desarrollo de los ovocitos tarda al menos 12 meses en completarse y para que los ovocitos sean liberados a la columna de agua, en un único evento de desove (Tremblay *et al.* 2004, Edwards & Moore 2008). Como ocurrió con frecuencia en octocorales (ver Simpson 2009), este ciclo prolongado de desarrollo de ovocitos comúnmente implica la presencia de una distribución de frecuencias de tamaños de ovocitos bimodal (o trimodal, ver Edwards & Moore 2008, 2009, Couillard *et al.* 2021), con una reserva constante de

ovocitos inmaduros durante todo el año, y otra categoría que involucra una cantidad menor de ovocitos de mayor tamaño que se desarrollan con el tiempo hasta los tamaños máximos en los cuales ellos serán emitidos (Edwards & Moore 2009, Servetto & Sahade 2016). Por otro lado, se ha informado que algunas especies **exhiben un ciclo reproductivo “continuo” o “no estacional”** (Rice *et al.* 1992, Eckelbarger *et al.* 1998, Pires *et al.* 2009).

En resumen, a pesar de estos esfuerzos, la mayoría de las especies de plumas de mar (entorno al 92%) permanecen sin explorar desde el punto de vista reproductivo (Baillon *et al.* 2014, Servetto & Sahade 2016), algunas de las características reproductivas analizadas varían entre las especies de pennatuláceos (Baillon *et al.* 2015) (por ejemplo, ciclo continuo o estacional) y existe una metodología compleja (por ejemplo, índices de fecundidad) difícil de aplicar a todo el conjunto de diversas morfologías conocidas en plumas de mar (ver Williams 1995). En esta etapa temprana de conocimiento, cualquier nueva información reproductiva ampliará nuestra comprensión sobre estos organismos a veces inaccesibles.

Es conocido que el género *Pteroeides* Herklots, 1858 habita en un rango batimétrico de 15 a 400 m de profundidad (Williams 1995, 2011). Las colonias de las especies de *Pteroeides* son en su mayoría robustas y con forma de plumas, con simetría bilateral a lo largo del raquis, el eje está presente a lo largo de la colonia y las hojas polipíferas están bien desarrolladas y son rígidas debido a la presencia de una a muchas espinas de soporte compuestas por largos escleritos tipo agujas (Williams 1995).

Pteroeides spinosum (Ellis, 1764), la especie-tipo del género *Pteroeides* (ver Williams 1995), ha sido citada principalmente en el mar Mediterráneo (Herklots 1858, Gray 1870, Kükenthal 1915, Pax & Müller 1953, 1955, 1959, Rossi 1971, Gili & Pagès 1987, Porporato *et al.* 2014, Abdelsalam 2014, Topçu & Öztürk 2015), pero también en el Océano Atlántico nororiental (Isla de Madeira, Ocaña & Wirtz 2007, Bahía de Tánger, Marshall & Fowler 1887).

Aunque *Pt. spinosum* es una de las especies de plumas de mar descritas con mayor antigüedad, no existen estudios publicados sobre sus características reproductivas, quizás debido al difícil acceso a estas colonias. Solo una población indeterminada de aguas frías de *Pteroeides* estudiada por Duncan (1998, tesis de Máster no publicada) ha sido registrada en la literatura. En la presente contribución, ofrecemos por primera vez algunas observaciones sobre el estado reproductivo de una población del noroeste Mediterráneo de la especie-tipo *Pt. spinosum*.

4.2 Materiales y Métodos

4.2.1 Muestreo y determinación del sexo

Las colonias de *Pteroeides spinosum* aquí estudiadas fueron recolectadas en el noroeste Mediterráneo (Cap de Creus, España), utilizando una draga Rauschert (RD) durante la campaña oceanográfica INDEMARES VI, llevada a cabo entre junio y julio de 2012 (Figura 4.1). El material analizado en este estudio fue recolectado entre 99 y 106 m de profundidad, en **las estaciones 131 (42° 22,199'N 3° 16,887'E) y 132 (42° 20,011'N 3° 20,085'E)**. **Los especímenes fueron clasificados** y etiquetados a bordo. Las colonias se fijaron en hexametilenotetramina- tamporada al 4% formalina-agua de mar. Después del período de fijación (una semana), todas las colonias se conservaron en etanol al 70%. Se examinaron dieciséis colonias y se midió la longitud total de las colonias usando el software ImageJ 1.38x. Los tamaños de las colonias oscilaron entre 73 y 138,5 mm de longitud total, y se agruparon *a priori* en dos clases de tamaño (<100 mm y >100 mm de longitud total) para comprobar posibles diferencias morfológicas y reproductivas.

La terminología utilizada en la anatomía de colonias sigue principalmente a Bayer *et al.* (1983). El material estudiado se depositó en la colección del grupo de investigación Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla (BECA).

Los pólipos fueron diseccionados y se extrajeron sus productos sexuales para examinarlos bajo un estereomicroscopio Motic SMZ-140. Las medidas del

Feret diámetro (fD) (Flint *et al.* 2007) de ovocitos y espermatozoides se obtuvieron utilizando un ocular calibrado. La determinación inicial del sexo se realizó a partir de la observación de gametos (de uno o dos fragmentos diferentes hojas polípferas) en ácido láctico, y corroborado a lo largo de la fase de conteo del estudio. Los ovocitos y los espermatozoides se distinguían fácilmente: los ovocitos tenían un núcleo relativamente grande con nucléolo y una coloración amarilla brillante; los espermatozoides tenían un aspecto granulado con múltiples cabezas de espermatozoides y una apariencia translúcida. La desviación de una proporción de sexos 1:1 se evaluó mediante una prueba de chi-cuadrado (Zar 1984).

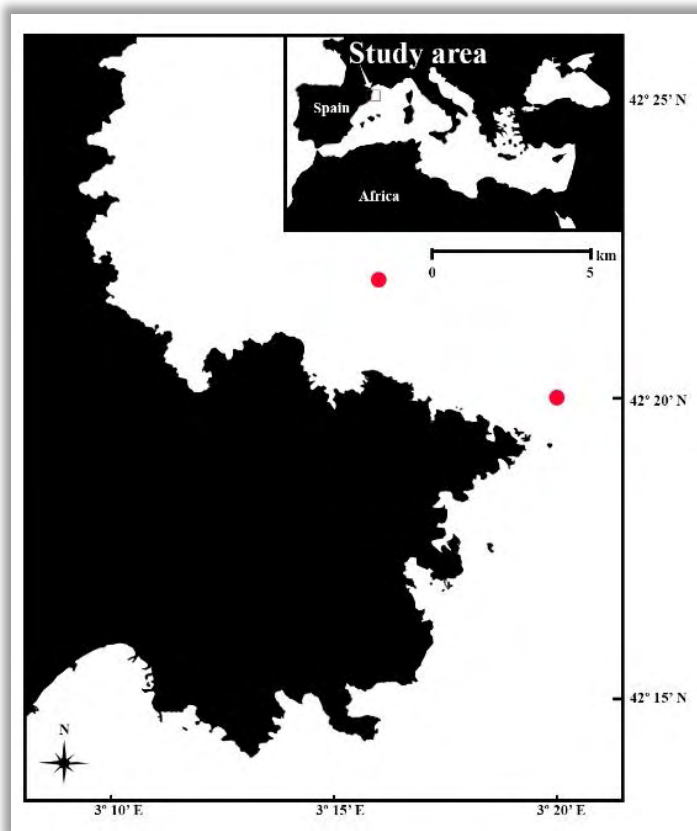


Figura 4.1. Área de estudio durante la campaña oceanográfica INDEMARES VI. Los puntos rojos indican las estaciones 131 ($42^{\circ}22,199'N$ $3^{\circ}16,887'E$) y 132 ($42^{\circ}20,011'N$ $3^{\circ}20,085'E$).

4.2.2 Variación intracolonia

La longitud total del raquis de las colonias machos y hembras se dividió en tres zonas de longitud similar, llamadas proximal, medial y distal (Figura 4.2), para evaluar posibles diferencias en los rasgos reproductivos entre zonas, siguiendo estudios previos sobre reproducción en octocorales (ver Orejas *et al.* 2002, Soong 2005, Edwards & Moore 2008, entre otros).

Por un lado, se analizó la variación intracolonia en rasgos macro-morfológicos, como la longitud de las hojas polipíferas y el número de autozooides por hoja. Por otro lado, se registró el valor medio del número y tamaño (fD) de ovocitos y espermatozoides de dos hojas polipíferas por cada zona.

En resumen, se evaluaron los efectos e interacciones de los factores “tamaño” y “zona” en las siguientes variables: (1) longitudes medias de las hojas polipíferas; (2) promedio de pólipos por hoja; (3) promedio de ovocitos por hoja; y (4) promedio de ovocitos por pólipo, también llamado fecundidad relativa potencial (PRF, Baillon *et al.* 2014). Las posibles variaciones dentro y entre colonias se probaron usando pruebas de homogeneidad de la varianza (Levene) y test ANOVA.

4.2.3 Tamaño de gametos

Los diferentes tamaños de espermatozoides/ovocitos se clasificaron en dos categorías de tamaño, según la distribución del diámetro de los gametos y siguiendo estudios previos para asegurar comparaciones adicionales (por ejemplo, Mladenov & Brady 1987, McClary & Mladenov 1989, Duncan 1998, Servetto & Sahade 2016): clase de tamaño I (<300 μm), y clase de tamaño II o grandes gametos (>300 μm) (ver Discusión). La clase de tamaño I se considera *a priori* como un estado inmaduro; y la clase de tamaño II se considera cercana a los estados de madurez de los gametos, que se liberarían en el evento de desove. Se obtuvo el número medio y porcentaje de espermatozoides/ovocitos en cada clase de tamaño

a nivel de zona y colonia. Para determinar el estado de madurez de una determinada colonia, identificamos la cohorte líder de gametos (LCO, cohorte líder de ovocitos; LCS, cohorte líder de espermatocistos), utilizando los diez ovocitos/espermatozoides más grandes de cada una, siguiendo estudios previos (Couillard *et al.* 2021).

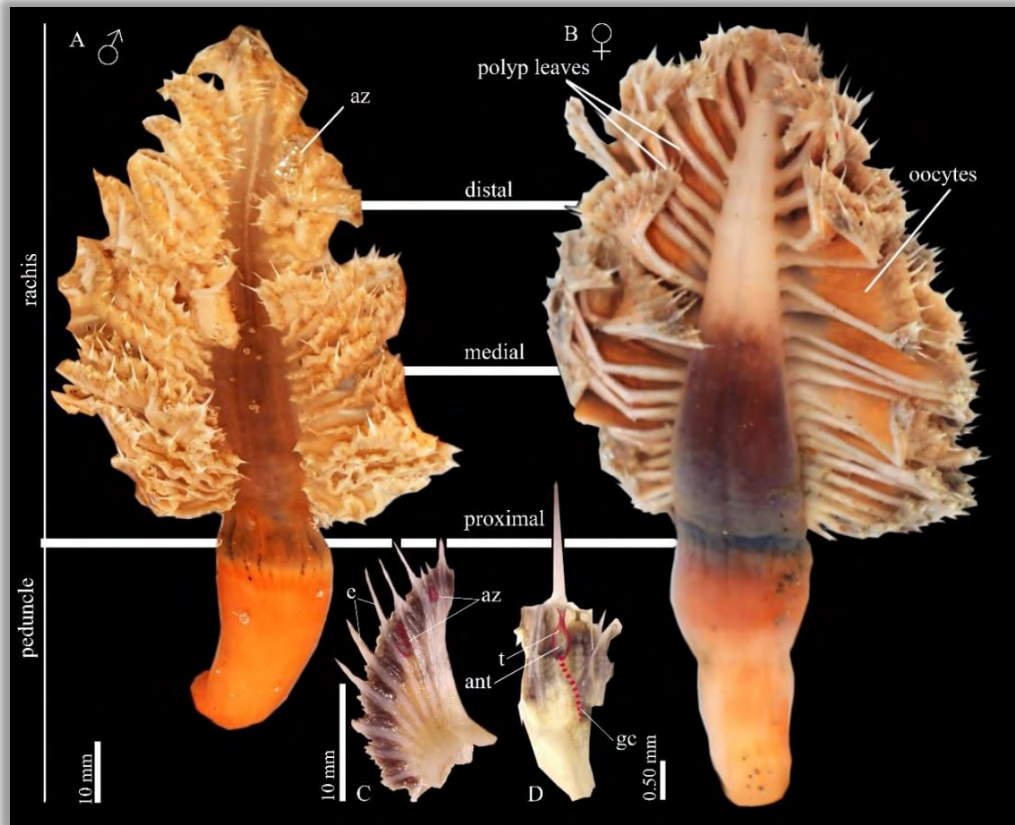


Figura 4.2. Detalles de una colonia macho (A) y hembra (B) de *Pteroeides spinosum* mostrando las zonas consideradas en el raquis; C, detalles de una hoja polípfera mostrando la disposición de los autozooides (az) y los grupos prominentes de espículas (radios) (e); D, un fragmento de una hoja polípfera mostrando el antocodia retraída de los autozooides (ant) y las cavidades gastrovasculares (gc).

4.2.4 Distribución de frecuencias de los diámetros de gametos

Los datos de las medidas de espermatozoides y ovocitos se utilizaron para construir histogramas de frecuencias de diámetros, teniendo en cuenta los factores "tamaño" y "zona" de colonia por sexo. Se llevó a cabo un análisis de conglomerados para K-medias para determinar claramente los grupos "ocultos" en la nube de puntos (Laverick *et al.* 2017, Nurdin *et al.* 2019). Se aplicó un Análisis de Varianza (ANOVA) unidireccional robusto para verificar estadísticamente las diferencias entre los grupos.

4.2.5 Fecundidad

La fecundidad relativa potencial (PRF), definida como el número total de ovocitos/ espermatozoides por pólipo, es estimada independientemente de sus tamaños (o estados de madurez) dividiendo el número total de ovocitos/ espermatozoides por hoja polipífera por el número de pólipos de esa hoja (Baillon *et al.* 2014, 2015). Aquí, este PRF se obtuvo utilizando las dos clases de tamaño de ovocitos. Como el ciclo reproductivo de *Pt. spinosum* es desconocido, este valor debe considerarse con precaución hasta una futura validación (ver Discusión).

En nuestras colonias, no fue posible determinar el número de grandes ovocitos por pólipo (conocido como fecundidad relativa efectiva, ERF) porque las cavidades gastrovasculares alargadas de los autozooides están embebidas dentro de las grandes y carnosas hojas polipíferas (Duncan 1998). Esto implica, en este caso, que la fecundidad solo puede estimarse a nivel de pólipo como PRF (Soong 2005, ver Discusión).

Aunque también se desconoce el momento del desove y si hay uno o más eventos de desove, nosotros ofrecemos una estimación especulativa a nivel de colonia utilizando el esfuerzo reproductivo potencial (PRE en adelante) y el esfuerzo reproductivo efectivo (ERE) dentro y entre nuestras colonias (en la línea de estudios previos como Baillon *et al.* 2014, 2015, Servetto & Sahade 2016). Estos datos

deben considerarse con cautela cuando se comparan con los de las otras especies presentadas en la Tabla 4.3 con un ciclo reproductivo conocido (ver Discusión).

PRE= \sum [promedio de ovocitos por hoja polipífera en una zona dada x N hoja polipífera en esa zona] de las tres zonas.

ERE= \sum [promedio de ovocitos grandes por hoja polipífera en una zona dada x N hoja polipífera en esa zona dada] de las tres zonas.

4.2.6 Análisis estadísticos

Las estructuras de las colonias y las dimensiones de espermatocistos/ovocitos se midieron usando el software ImageJ 1.38x. La normalidad fue testada usando Shapiro-Wilk y la homogeneidad de las varianzas se examinó mediante la prueba de Levene (Servetto & Sahade 2016). Cuando no se confirmó la asunción de normalidad (por ejemplo, la distribución bimodal de los ovocitos) y las varianzas no fueron homogéneas, se llevó a cabo un análisis de conglomerados para K-medias seguido de un análisis de varianza de una vía robusto (ANOVA, pruebas de Welch y Brown-Forsythe), y luego se utilizaron pruebas de rango múltiple *post hoc* (como HDS Tukey) (Servetto & Sahade 2016). Los análisis de datos estadísticos se realizaron utilizando IBM SPSS Statistics v22 (SPSS INC., Chicago, USA).

4.3 Resultados

Todas nuestras colonias de *Pteroeides spinosum* estaban en estado reproductivo. Esto es claramente perceptible en la mayoría de los especímenes porque los grandes ovocitos y los espermatocistos adoptaron un color distintivo en las hojas polipíferas (los ovocitos maduros son de melocotón pálido a naranja brillante, mientras que los espermatocistos maduros son de color crema a amarillo) (Fig. 4.2). Los especímenes examinados no tuvieron una desviación significativa de una proporción de sexos 1:1 (que comprende 7 colonias machos y 9 hembras) ($p = 0,617$; $\chi^2 = 0,25$; $df = 1$).

4.3.1 Diferencias entre clases de tamaño de colonias

Aunque se diferenciaron dos clases de tamaño en cada sexo [machos pequeños y grandes (86-99 mm, 106-107 mm, $p < 0.05$; $\chi^2 = 10.32$; $df = 1$); hembras pequeñas y grandes (73-91 mm, 101-138 mm $p < 0.05$; $\chi^2 = 19.87$; $df = 1$) (Tabla S4.1)], algunas características analizadas no parecían diferenciar entre ambas clases de tamaño, como el número de hojas polipíferas por colonia (pequeñas: 34-47 hojas polipíferas; grandes: 36-60 hojas polipíferas, Tabla S4.1), la longitud media de las hojas polipíferas o el promedio de pólipos por hoja polipífera. Solo el promedio de ovocitos por hoja (Tabla S4.2) mostró diferencias significativas entre colonias pequeñas y grandes ($p < 0.05$; $\chi^2 = 505.74$; $df = 1$). El valor más alto de espermatozoides/ovocitos por hoja polipífera se alcanzó en las colonias más grandes (1.805 espermatozoides por hoja y 3.829 ovocitos por hoja) (Tabla S4.2).

Los análisis estadísticos respaldaron la idea de que dos variables dependientes (longitud media de la hoja polipífera, promedio de pólipos por hoja) no mostraron una variación significativa entre los tamaños de las colonias. Sin embargo, las otras variables (promedio de ovocitos por hoja polipífera y promedio de ovocitos por pólipo) si fueron útiles para diferenciar entre algunas de las colonias pequeñas y grandes ($p = 0,018$, $df = 8$, Brown-Forsythe; $p = 0,001$, $df = 8$, Brown-Forsythe). Estas colonias con diferencias significativas fueron las hembras más pequeñas ($\text{♀}1$, $\text{♀}4$ y $\text{♀}5$) con los valores más bajos de ovocitos por hoja polipífera y por pólipo, y dos de las hembras más grandes ($\text{♀}7$ y $\text{♀}8$) con los valores promedios más altos de ovocitos por pólipo ($p = 0,001$, $df = 8$, prueba de Brown-Forsythe y test *post hoc* HSD Tukey).

4.3.2 Variación intracolonia

Al contrario de la variación entre clases de tamaño, la variación dentro de la colonia o comparaciones entre zonas, revelaron diferencias fuertemente sustentadas por la mayoría de los rasgos estudiados, independientemente del tamaño y sexo de las colonias.

La zona media del raquis presentó el menor número promedio de hojas polipíferas (σ 13 ± 2 , 9 ± 2 , 16 ± 3 ; φ 13 ± 3 , 12 ± 3 y 16 ± 3 hojas polipíferas para las zonas proximal, medial y distal, respectivamente), las longitudes de hoja polipífera más grandes (σ $p = 0.043$; $\chi^2 = 4.06$; $df = 1$; φ $p = 0.001$; $\chi^2 = 9.98$; $df = 1$), el mayor promedio de pólipos por hoja y el mayor promedio de ovocitos por hoja ($p < 0,05$; $\chi^2 = 853,43$; $gl = 1$) (Tabla S4.2). En resumen, el número promedio de ovocitos (y espermatocistos) por hoja polipífera fue mayor en la zona media y disminuyó hacia los extremos proximal y distal del raquis.

En general, los promedios más bajos se encontraron en hojas polipíferas de la zona proximal del raquis, aunque con poca variación con respecto a la zona distal, teniendo la zona media los promedios más altos de ovocitos por hoja polipífera y valores de PRF (Tabla S4.2).

4.3.3 Tamaño de gametos

Todas las hojas polipíferas observadas contenían ovocitos y espermatocistos de diferentes tamaños probablemente como resultado de diferentes estados de maduración (como las clases de tamaño en este estudio) (Fig. 4.2). Aquellos espermatocistos/ovocitos más opacos y grandes (clase de tamaño II) se encontraron con frecuencia en la base y parte media de los filamentos mesentéricos de los pólipos, cerca de la boca. Mientras que aquellos espermatocistos/ovocitos pequeños y translúcidos (clase de tamaño I) fueron hallados más a menudo cerca de la base

o el extremo inferior de las cavidades gastrovasculares de los pólipos (anclados al extremo inferior de los filamentos), embebidos en el área axilar de las hojas polipíferas (Fig. 4.2).

En las colonias machos, se contabilizaron un total de 27.553 quistes espermáticos (15.499 y 12.054 quistes en las colonias pequeñas y grandes, respectivamente), con un rango de tamaño entre 37,50 y 668,20 μm (Tabla 4.1). Independientemente del tamaño de la colonia, el mayor número de espermatozoides estuvo en la clase de tamaño I (19.954 quistes) y unos pocos en la clase de tamaño II (7.599 quistes). Las zonas medial-distal presentaron el mayor porcentaje de espermatozoides en clase de tamaño II, mientras que la zona proximal presentó el mayor porcentaje de espermatozoides en clase de tamaño I, el porcentaje más bajo en clase de tamaño II, y no se encontraron espermatozoides $>500 \mu\text{m}$ (Tabla 4.1 y Tabla S4.3).

En las colonias hembras, se contabilizaron un total de 57.850 ovocitos (21.719 y 36.131 ovocitos en las colonias pequeñas y grandes, respectivamente), con un rango de tamaño entre 25 y 687,50 μm (Tabla 4.1). El mayor número de ovocitos correspondió a la clase de tamaño I (37.875 ovocitos), seguida de la clase de tamaño II (19.975 ovocitos). Al igual que con los espermatozoides, la zona proximal tuvo el mayor porcentaje de ovocitos en la clase de tamaño I, y las zonas media-distal tuvieron el mayor porcentaje de ovocitos en la clase de tamaño II. En este caso se encontró un bajo porcentaje de ovocitos grandes en la zona proximal (Tabla 4.1 y Tabla S4.3).

Tabla 4.1. Diámetros y clase de tamaño de espermatozoides y ovocitos en las colonias examinadas de *Pteroeides spinosum*. Abreviaciones: T, clase de tamaño de colonia; z(s), zona anidada al tamaño; \bar{x} =promedio; LCS, promedio (\pm SE) de la cohorte líder de espermatozoides por zona; LCO, promedio (\pm SE) de la cohorte líder de ovocitos por zona (consulte también la Tabla S4.3 para obtener resultados estadísticos).

T	z(s)	N	diámetro (μm)				LCS \pm SE	Clases de tamaño			
			\bar{x}	\pm SE	max	min		Clase I	%	Clase II	%
pequeña	proximal	1.228	167,54	69,06	487,62	37,50	438,61 \pm 42,84	1.040	84,7	188	15,3
	medial	8.396	201,79	79,47	660,24	50,00	484,82 \pm 79,87	5.892	70,2	2.504	29,9
	distal	5.875	193,71	74,79	668,20	48,41	577,18 \pm 144,32	4.468	76,1	1.407	23,9
	total	15.499									
grande	proximal	2.745	168,54	56,58	385,50	48,41	385,50 \pm 10	2.448	89,2	297	10,8
	medial	6.597	216,39	80,70	514,00	43,30	481,47 \pm 61,94	4.387	66,5	2.210	33,5
	distal	2.712	216,15	71,36	514,00	64,25	421,48 \pm 25,37	1.719	63,4	993	36,6
	total	12.054									
Total		27.553					19.954		7.599		
T	z(s)	N	diámetro (μm)				LCO \pm SE	Clases de tamaño			
		ovocitos	\bar{x}	\pm SE	max	min		Clase I	%	Clase II	%
pequeña	proximal	4.178	139,09	107,20	621,87	25,00	563,4 \pm 37,16	3.729	89,3	449	10,7
	medial	13.638	208,51	163,69	687,50	25,00	598,87 \pm 52,48	9.753	71,5	3.885	28,4
	distal	3.903	195,15	159,21	675,00	25,00	526,95 \pm 70,53	2.870	73,5	1.033	26,4
	total	21.719									
grande	proximal	5.980	199,36	154,21	687,50	25,00	636,87 \pm 26,71	4.407	73,7	1.573	26,3
	medial	21.401	269,68	176,71	687,50	25,00	561,45 \pm 117,57	11.830	55,3	9.571	44,7
	distal	8.750	245,46	175,95	687,50	25,00	636,23 \pm 63,93	5.286	60,4	3.464	39,6
	total	36.131									
Total		57.850					37.875		19.975		

4.3.4 Distribución de frecuencias de tamaños

Las distribuciones de frecuencias de diámetros de espermatozoides y ovocitos de todas las colonias de *Pteroeides spinosum* se muestran combinadas en la Fig. 4.3, e individualmente en las Figs. 4.4 y 4.5. Las distribuciones de los espermatozoides (Fig. 4.3, fila superior) revelaron una única gran cohorte de quistes espermáticos pequeños, que oscilaron entre 50 y 300 μm (formados principalmente por espermatozoides de clase de tamaño I). Esta distribución fue similar entre las tres zonas

dentro de la colonia (es decir, hubo sincronía), pero los valores más altos se alcanzaron en la zona media. Esta distribución de espermatocistos se observó en las siete colonias machos individuales (Fig. 4.4).

Por otro lado, los ovocitos mostraron una distribución de frecuencias de diámetros bimodal bien definida (Fig. 4.3, fila inferior), con una cohorte más numerosa de ovocitos más jóvenes ($<250 \mu\text{m}$, en clase de tamaño I) y otra cohorte de ovocitos grandes ($>250 \mu\text{m}$, en clase de tamaño II) que incluía los mayores diámetros pero con las frecuencias más bajas. Esta distribución bimodal es mantenida en todas las zonas, mostrando una clara sincronización dentro de la colonia.

En las colonias de hembras, el análisis de conglomerados para k-medias apoyó estadísticamente estas dos cohortes ($K = 2$; K_1 , promedio de ovocitos pequeños con una media de $117,65 \mu\text{m}$ y 38.551 unidades; y K_2 , promedio de ovocitos grandes con una media de $454,37 \mu\text{m}$ y 18.751 unidades) en las tres zonas ($p < 0,00$; Welch y Brown-Forsythe). Se puede ver que las hembras de *Pt. spinosum* presentaron dos cohortes de ovocitos superpuestas con armonía sincronizada dentro de la colonia. La segunda cohorte incluye ovocitos en etapas avanzadas de madurez. Las colonias de hembras analizadas individualmente mostraron claramente esta distribución bimodal, sin diferencias entre las clases de tamaños de las colonias (Figura 4.5). El estado de madurez de las colonias de hembras de *Pt. spinosum* basado el diámetro promedio de los ovocitos más grandes (es decir, la cohorte principal), fue similar entre las clases de tamaño y osciló entre 400 y $700 \mu\text{m}$, independientemente del número total de ovocitos examinados (Tabla 4.1 y Figura 4.6). La relación entre el número promedio de espermatocistos y ovocitos y la altura de la colonia fue positiva y más pronunciada en las colonias machos que en hembras ($R^2 0,6599$ y $R^2 0,3421$, respectivamente); de manera similar, la relación

entre el tamaño del ovocito de la cohorte líder (LCO) y la longitud total de la colonia también fue positiva pero menos pronunciada (R^2 0.1033) (Fig. 4.7).

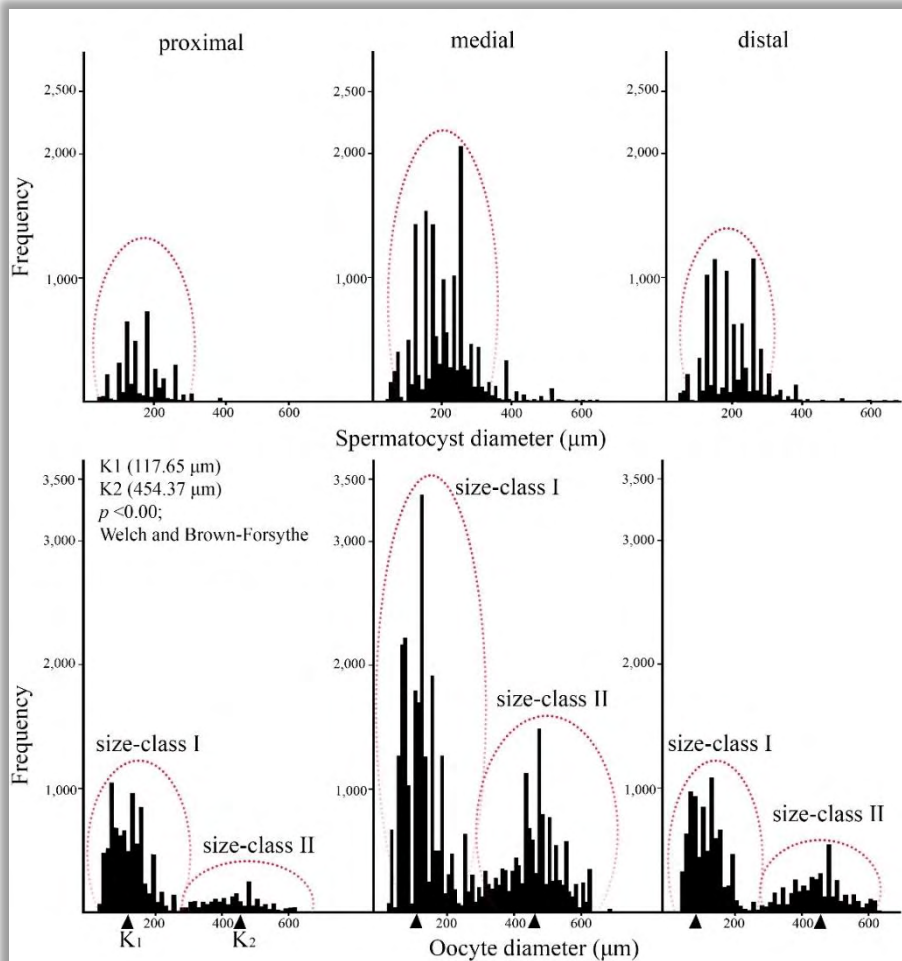


Figura 4.3. Distribuciones de frecuencias de diámetros de espermatocistos y ovocitos en las tres zonas de todas las colonias de *Pteroeides spinosum* combinadas: K₁, diámetro promedio de ovocitos pequeños (clase de tamaño I); K₂ diámetro medio de ovocitos grandes (clase de tamaño II). Los análisis estadísticos mostrados corresponden a las tres zonas de colonias hembras combinadas.

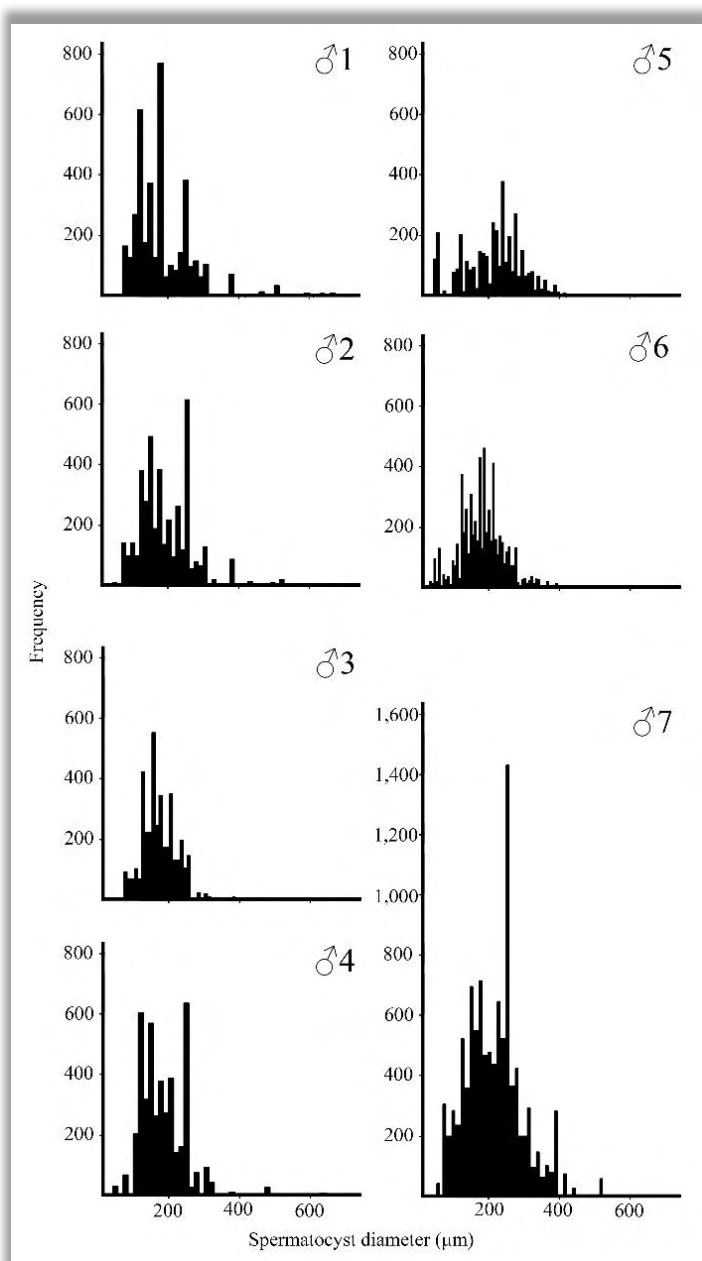


Figura 4.4. Distribuciones de frecuencias de diámetros de espermatocistos de las colonias machos individuales de *Pteroeides spinosum* utilizadas en este estudio.

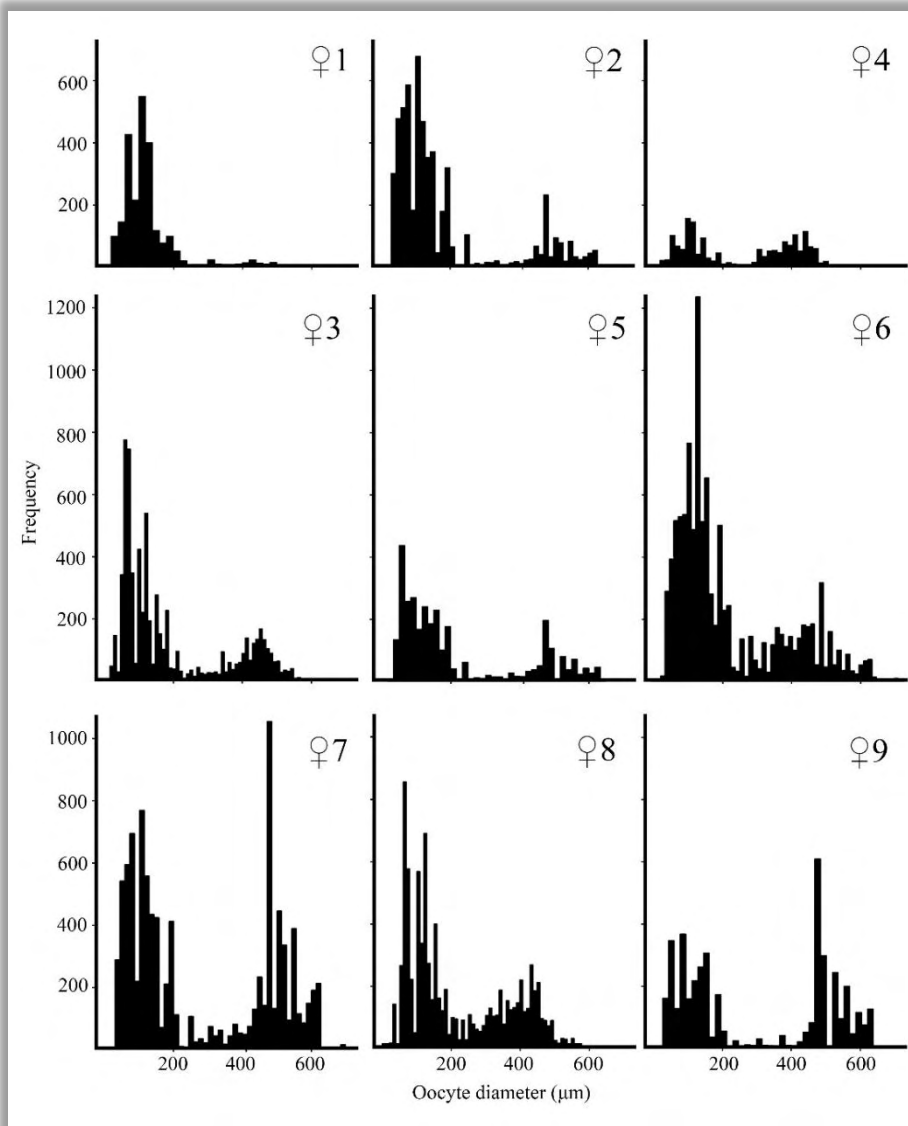


Figura 4.5. Distribuciones de frecuencias de diámetros de ovocitos de las colonias hembras individuales de *Pteroeides spinosum* utilizadas en este estudio.

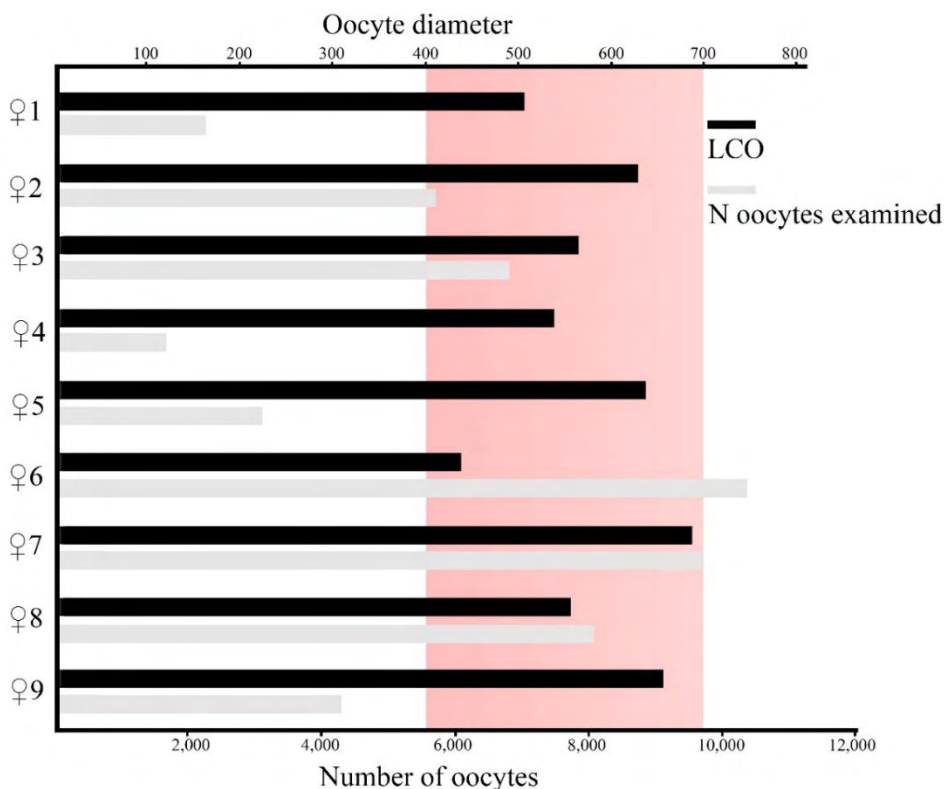


Figura 4.6. Diámetro de la cohorte principal de ovocitos grandes (LCO) de las colonias hembras individuales de *Pteroeides spinosum*. En rojo el rango de LCO observado en nuestras colonias.

La fecundidad relativa potencial media (PRF) se estimó en 7 ovocitos por pólipo en las zonas proximal y distal, y 10 ovocitos por pólipo en la zona medial en las hembras más pequeñas; mientras que en las hembras más grandes, se encontraron 12-13 ovocitos por pólipo en las zonas proximal y distal, y 17 ovocitos por pólipo en la medial (Tabla S4.2). Aunque los valores más altos se presentaron en la zona medial del raquis, ellos no mostraron diferencias significativas con las demás zonas ($p > 0.05$, HSD Tukey). La relación entre PRF y la longitud total de la colonia utilizando las colonias individuales, aunque positiva, no mostró un claro incremento lineal (Figura 4.8).

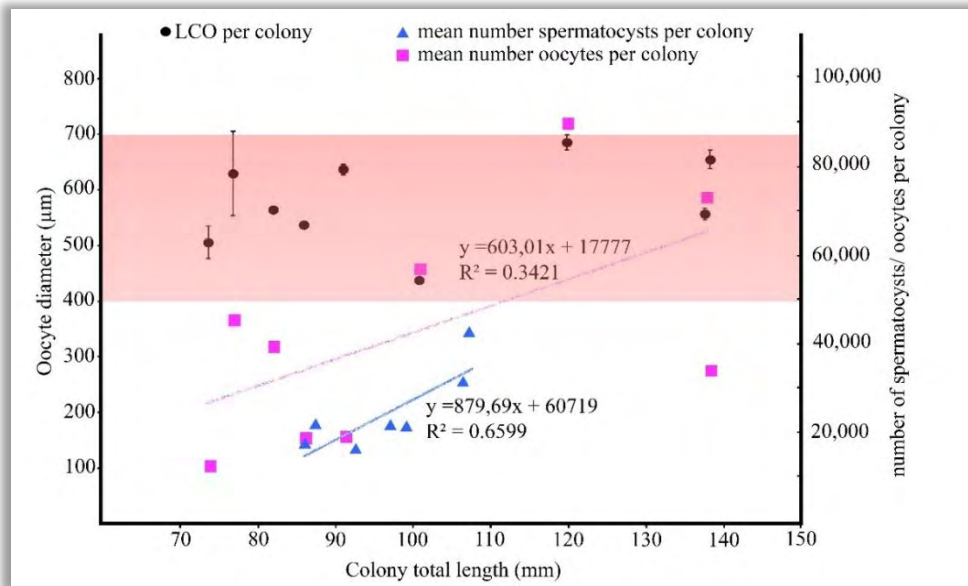


Figura 4.7. Relación entre la longitud colonial total de las colonias individuales de *Pteroeides spinosum* (azul para machos, rosa para hembras) y la cohorte principal de ovocitos (LCO, negro), el número medio de espermatocistos (azul) y ovocitos (rosa) por colonia. En rojo el rango de LCO observado en nuestras colonias.

El esfuerzo reproductivo potencial (PRE) de nuestras colonias aumentó desde las colonias pequeñas a las grandes, y desde las zonas inferiores a las superiores (medial y distal) del raquis en todas las colonias examinadas (Tabla 4.2). En los machos más pequeños, PRE fue de 19.502 ± 1.228 espermatocistos por colonia (oscilando entre 6.611 y 32.364); y en los machos más grandes PRE fue de 35.646 ± 1.530 espermatocistos por colonia (oscilando entre 24.308 y 46.645) (Tabla 4.2). Las medidas de PRE tomadas dentro de la colonia, mostraron los valores promedios más bajos en la zona proximal (1.572 y 10.294 espermatocistos por zona para machos pequeños y grandes, respectivamente).

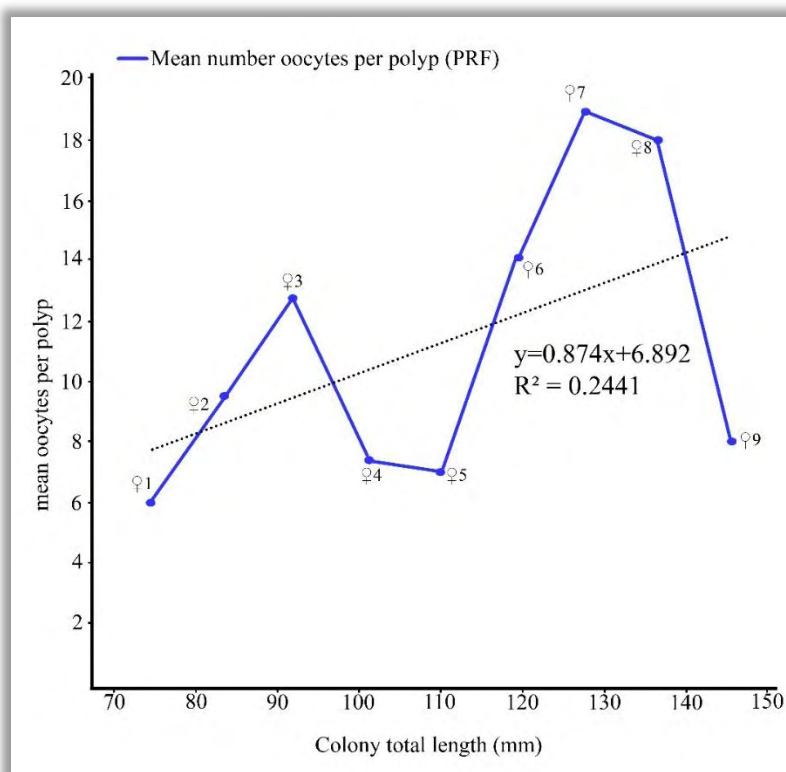


Figura 4.8. Relación entre la fecundidad reproductiva potencial (azul) y la longitud colonial total (negro) de las colonias hembras individuales de *Pteroeides spinosum*.

En las hembras más pequeñas, PRE fue 27.379 ± 2.737 ovocitos por colonia (oscilando entre 8.402 y 53.140), y en las hembras más grandes PRE fue 73.114 ± 7.090 ovocitos por colonia (oscilando entre 26.445 a 110.283) (Tabla 4.2). Dentro de la colonia, en ambos tamaños de colonia, los valores promedios de PRE más altos se dieron en la zona media (16.621 y 42.802 ovocitos por zona, respectivamente) ($p < 0,05$; $\chi^2 = 93.683,8$; $df = 1$), encontrándose siempre los valores de PRE más bajos en la zona proximal del raquis (Tabla 4.2 y Tabla S4.4).

Tabla 4.2. Esfuerzo reproductivo en las colonias examinadas de *Pteroeides spinosum*. Abreviaciones: T, clase de tamaño de colonia; \bar{x} = promedio; PRE, esfuerzo reproductivo potencial (número de espermatocistos/ovocitos por colonia); ERE, esfuerzo reproductivo efectivo (número de espermatocistos/ovocitos grandes por colonia; espermatocistos y ovocitos grandes $\geq 300 \mu\text{m}$); z(s), zona anidada al tamaño.

Esfuerzo reproductivo en machos							
T	z(s)	PRE				ERE	
		\bar{x}	$\pm\text{SE}$	max	min	\bar{x}	$\pm\text{SE}$
pequeño	proximal	1.572	73,0	2.880	525	241	19
	medial	8.060	789,6	16.666	3.466	2.404	501
	distal	9.870	365,3	12.818	2.621	2.364	281
	Total	19.502	1.228	32.364	6.611	5.008	801
grande	proximal	10.294	388,4	13.815	6.720	1.114	149
	medial	14.843	143,2	16.245	13.248	4.973	553
	distal	10.509	998,7	16.585	4.340	3.848	747
	Total	35.646	1.530	46.645	24.308	9.946	1.448
Esfuerzo reproductivo en hembras							
T	z(s)	PRE				ERE	
		\bar{x}	$\pm\text{SE}$	max	min	\bar{x}	$\pm\text{SE}$
pequeño	proximal	4.249	262	9.234	456	512	45
	medial	16.621	1.696	26.317	6.451	4.973	1.166
	distal	6.509	779	17.589	1.495	1.343	207
	Total	27.379	2.737	53.140	8.402	6.828	1.417
grande	proximal	9.531	1.468	19.227	4.883	2.507	787
	medial	42.802	4.540	61.264	10.656	19.142	4.786
	distal	20.781	1.082	29.792	10.906	8.227	1.299
	Total	73.114	7.090	110.283	26.445	29.876	6.871

El esfuerzo reproductivo efectivo (ERE) aumentó desde las colonias más pequeñas a las más grandes, y fue fuertemente menor en la zona proximal del raquis en todas las colonias examinadas. En machos, ERE fue 5.008 ± 801 y 9.946 ± 1.448 espermatocistos grandes por colonia para las colonias pequeñas y grandes, respectivamente. Las medidas de ERE tomadas dentro de la colonia nuevamente mostraron los valores más bajos en la **zona proximal (proximal < medial \approx distal)**

(Tabla 4.2). En las hembras, ERE fue 6.828 ± 1.417 y 29.876 ± 6.871 grandes ovocitos por colonia para las colonias pequeñas y grandes, respectivamente. Dentro de la colonia, en ambos tamaños coloniales, la zona media tuvo significativamente los valores más altos de ERE (4.973 y 19.142 ovocitos por zona, respectivamente) ($p < 0.05$; $\chi^2 = 24.031$; $df = 1$) (Tabla 4.2 y Tabla S4.4).

En resumen, una de nuestras colonias hembras de *Pt. spinosum* más grandes pueden contener hasta 110.000 ovocitos, pero quizás sólo el 27% (~30.000) alcance un estado maduro.

4.4 Discusión

A pesar de que un programa de muestreo anual no fue factible desde un punto de vista logístico para este estudio, especialmente difícil cuando se estudian especies bentónicas de aguas profundas (como las profundidades mesofóticas), la información relevante desde una sola muestra o de un número limitado de ejemplares de poblaciones de plumas de mar, puede contribuir a mejorar nuestro conocimiento actual sobre la biología reproductiva de estas especies (ver Chia & Crawford 1973, Eckelbarger *et al.* 1998).

Muchas de las características reproductivas observadas en nuestras colonias de *Pteroeides spinosum* son compartidas con la población de *Pteroeides* sp. estudiada por Duncan (1998) de Fiorland (Nueva Zelanda), así como con otros pennatuláceos mediterráneos (como *Veretillum cynomorium*, ver Lopes *et al.* 2012) y alcionáceos como *Eunicella singularis*, *Paramuricea clavata*, *Alcyonium acaule* o *Alcyonium coralloides* (ver Theodor 1967, Weinberg & Weinberg 1979, Coma *et al.* 1995a, b, Fiorillo *et al.* 2013, Quintanilla *et al.* 2013). Todos ellos tenían espermatozoides y ovocitos de diferentes tamaños correspondientes a diferentes estados de madurez, así como una distinguible distribución de tamaños de ovocitos bi- o tri-modal y un alto esfuerzo reproductivo a nivel de colonia. En nuestras colonias no se observó ningún signo de hermafroditismo ni fecundación

interna, como también se supone en el resto de pennatuláceos (Baillon *et al.* 2014, 2015).

En estudios de población es bien conocida la importancia de la distribución espacial y la proporción de colonias machos y hembras (ver Simpson 2009). Ciertos autores han reportado que el mayor porcentaje de fecundación se da en una población con ambos sexos (Benayahu & Loya 1983, Brazeau & Lasker 1992, Coffroth & Lasker 1998) y con una relación cercana a 1:1 (Coma *et al.* 1995a, b, Pires *et al.* 2009). Las colonias examinadas en el presente estudio mostraron gonocorismo e igualdad en la proporción de sexos, en línea con la mayoría de las especies de pennatuláceos estudiadas (Rice *et al.* 1992, Edwards & Moore 2008, Baillon *et al.* 2014, 2015, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021).

4.4.1 Influencia del tamaño de colonia

Teniendo en cuenta que se necesitan más análisis estadísticos (ver Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021), y aunque *a priori* se observaron diferentes clases de tamaño en nuestros especímenes recolectados de *Pt. spinosum*, la mayoría de las características analizadas aquí no respaldaron diferencias significativas entre las clases de tamaño pequeño y grande consideradas (Tabla S4.2), estando todas las colonias en estado reproductivo (Figs. 4.6 y 4.7). Sin embargo, dos características, el promedio de ovocitos por hoja polipífera y el promedio de ovocitos por pólipo (fecundidad), permitieron la diferenciación entre algunas colonias más pequeñas, con los valores más bajos. En este sentido, la relación entre la fecundidad (PRF) y la altura de la colonia examinada usando datos de las colonias individuales (Fig. 4.8) fue positiva aunque menos pronunciada que en otras especies (ver Hamel *et al.* 2020 para *Umbellula encrinus*). Esta influencia del tamaño de la colonia en el esfuerzo reproductivo también se informó en otras plumas de mar (ver Baillon *et al.* 2015 para *Balticina finmarchica*). Quizás un aumento considerable de colonias de *Pt. spinosum* ofrecería una relación más precisa entre los factores altura de la colonia y PRF.

4.4.2 Diámetro de ovocitos

Al igual que otros octocorales, las plumas de mar muestran, dentro de un mismo autozooide, diferentes diámetros de ovocitos (o espermatocistos) que corresponderían a diferentes estados de madurez (Chia & Crawford 1973, Servetto & Sahade 2016). Sin embargo, estudios previos sobre el ciclo reproductivo de pennatuláceos con hojas polípferas, como *Ptilosarcus*, *Pteroeides* (incluido nuestro estudio actual) y *Pennatula*, informaron que se requiere un esfuerzo enorme y, a menudo, infructuoso para tratar de separar los autozooides individualmente para evaluar sus productos sexuales (ver la disposición de los autozooides dentro de las hojas polípferas, Fig. 4.2C-D).

Levitan (1993, 1996) argumentó que los ovocitos grandes serían un objetivo más fácil para los espermatozoides, aumentando la probabilidad de fecundación. Esto también parece verse favorecido por la liberación de espermatozoides en forma de quistes en la columna de agua (Eckelbarger *et al.* 1998). El diámetro máximo de los ovocitos en plumas de mar osciló entre 300 μm en *Virgularia juncea* y 1.200 μm en *Anthoptilum murrayi* (ver Tabla 4.3). En nuestro estudio, y asumiendo que el mayor diámetro de espermatocito y ovocito de nuestras colonias es el mayor diámetro en el momento del muestreo, el mayor diámetro de ovocito observado fue de 687 μm , ligeramente mayor a los registrados por Duncan (1998) para *Pteroeides* sp. (550 μm). Como ocurrió en estudios previos (por ejemplo, Mladenov & Brady 1987, McClary & Mladenov 1989), Duncan (1998) mostró como los diferentes tamaños de ovocitos encontrados dentro de los pólipos de *Pteroeides* sp. correspondían a diferentes estados de desarrollo y se clasificaron en cinco estados de madurez: estado I (post-desove, unos pocos ovocitos maduros grandes remanentes, <250 μm); estado II (crecimiento temprano, ~100 μm); estado III (ovocitos previtelogénicos, 100-200 μm ; y ovocitos vitelogénicos, >200 μm); estado IV-V (ovocitos maduros, de 300 a 520 μm ; y listos para desovar, >300 μm) (Duncan 1998: fig. 5.2). Entonces, estos estados de desarrollo de ovocitos

pueden resumirse en estados inmaduros o remanentes ($<250 \mu\text{m}$) y estados maduros ($>250 \mu\text{m}$) y son consistentes con nuestras clases de tamaño de ovocitos (ovocitos pequeños $<300 \mu\text{m}$ y ovocitos grandes $>300 \mu\text{m}$). Sin embargo, para validar esta asunción, el ciclo reproductivo completo en *Pt. spinosum* debe ser conocido. Esta relación entre el tamaño de los gametos y su estado de desarrollo también ha sido documentada en otras plumas de mar (Servetto & Sahade 2016, Couillard *et al.* 2021).

Teniendo en cuenta que los tiempos de desarrollo de los ovocitos de *Pt. spinosum* aún se desconocen, similares tipos de ovocitos de gran diámetro se han relacionado con largos períodos de desarrollo (Orejas *et al.* 2002). Los ovocitos grandes también parecen estar relacionados con una mayor supervivencia de las larvas, proporcionando un alto contenido nutricional esencial para las larvas lecitotróficas (Chia & Crawford 1973). Aunque no se ha observado directamente, el tamaño de los ovocitos en *Pt. spinosum* es lo suficientemente grande para facilitar el desarrollo lecitotrófico, como se sugirió para *Ptilosarcus guernei* ($687 \mu\text{m}$) y *Kophobelemnion stelliferum* ($800 \mu\text{m}$) (Chia & Crawford 1973, Rice *et al.* 1992). Nunca se observaron larvas en las cavidades gastrovasculares de los pólipos de nuestras colonias de *Pt. spinosum*. Tras determinar el diámetro de la cohorte líder de ovocitos (LCO) en todas las colonias individuales *Pt. spinosum* (véanse las Figs. 4.6 y 4.7), la distribución de tamaño de estos LCO no discriminó entre colonias en diferentes estados de madurez, todas las colonias hembras tenían LCO $>400 \mu\text{m}$, por lo que no seguían la relación LCO:altura de la colonia presentada en colonias de *Pennatula aculeata* (Couillard *et al.* 2021). Quizás nuevas capturas que aumenten considerablemente las colonias a examinar puedan ofrecer información adicional en este caso.

4.4.3 Variación intracolonia

En octocorales, la variación intracolonia en las características reproductivas se ha documentada ampliamente como una contribución diferencial de los pólipos según su ubicación dentro de la colonia (Brazeau & Lasker 1990, Soong & Lang 1992, Coma *et al.* 1995a, b, Brito *et al.* 1997, Orejas *et al.* 2002, entre otros).

Algunos estudios en pennatuláceos determinaron un aumento lineal en la contribución reproductiva de los pólipos ubicados desde las zonas proximales a las superiores (medial y distal), apareciendo comúnmente los primeros vacíos de productos reproductivos (por ejemplo, *F. quadrangularis* en Edwards & Moore 2009; *A. grandiflorum* en Baillon *et al.* 2014; *B. finmarchica* en Baillon *et al.* 2015, *M. daytoni* en Servetto *et al.* 2013, Servetto & Sahade 2016, *P. aculeata* en Couillard *et al.* 2021). Sin embargo, la fecundidad media estimada más alta en *Virgularia juncea* se encontró en la zona media (Edwards & Moore 2009), al igual que ocurrió con nuestras colonias de *Pt. spinosum*, en las que las características como la longitud de las hojas polipíferas, el promedio de pólipos por hoja y el promedio de ovocitos por hoja, alcanzaron los valores más altos en la zona media del raquis, disminuyendo hacia ambos extremos. Algunas colonias machos de *Pt. spinosum* mostraron ligeras diferencias entre las zonas medial y distal, pero con una contribución similar. En este caso, el menor número de espermatocistos por hoja polipífera fue compensado por un mayor número de hojas y más congestio-nadas en la porción distal del raquis. Por un lado, la mayor contribución repro-ductiva en las zonas medial-distal podría estar relacionada con el mayor número y tamaño de autozooides y hojas polipíferas en estas zonas, en comparación con las hojas polipíferas más cortas que a menudo contienen autozooides menos desa-rrollados, como se sugirió previamente para otras especies de pennatuláceos. Por otro lado, el acceso a los recursos nutritivos que caen desde las capas superiores del agua por parte de los autozooides situados en la zona medio-distal puede apor-tar más materia y energía que la obtenida, en calidad y cantidad de partículas, por

los autozooides situados en las hojas polipíferas inferiores (Edwards & Moore 2008, Baillon *et al.* 2014).

4.4.4 Distribución de frecuencias de diámetros de ovocitos

Es comúnmente aceptado en los octocorales que una distribución de frecuencias en dos grupos de tamaño de ovocitos claramente definidos representa la superposición de dos cohortes: la primera cohorte reúne ovocitos inmaduros y se mantienen prácticamente durante todo el año; la segunda cohorte, reúne un pool de ovocitos menos numeroso en diferentes grados de madurez, formado el año anterior y que será liberado en esa temporada, a menudo durante una noche (Orejas *et al.* 2007; Simpson 2009). Como alternativa, se ha discutido la posible ocurrencia de una distribución trimodal de tamaños ovocitos para algunas especies de pennatuláceos (ver Edwards & Moore 2008, Couillard *et al.* 2021). En el ciclo reproductivo de *Pteroeides* sp. los ovocitos maduros solo estuvieron presentes de febrero a abril (correspondiente al verano y otoño), con muy pocos ovocitos remanentes sin desovar observados en mayo (finales de otoño) (Duncan 1998). Esto significa que entre finales del verano y otoño, casi todos los ovocitos vitelogénicos maduraron y fueron desovados. Paralelamente, Duncan observó una cohorte de ovocitos inmaduros en todas las capturas realizadas a lo largo de los dos años. Aunque, como se vio antes, los períodos de desarrollo de los ovocitos en *Pt. spinosum* aún se desconocen, nuestros resultados basados en colonias recolectadas a principios de verano y con un alto porcentaje de ovocitos grandes, siguen la línea de desarrollo observada en *Pteroeides* sp. por Duncan (1998) (ver más abajo). La distribución de frecuencias del diámetro de ovocitos para cada colonia individual no reveló la **presencia potencial de un tercer** “pico” modal (como ocurrió, por ejemplo, en *P. aculeata*, véase Edwards & Moore 2008, Fig. 2), sino que la distribución bimodal fue constante en todas las colonias examinadas, como ocurrió en *Pteroeides* sp. (Duncan 1998).

4.4.4 Fecundidad

En la mayoría de los organismos marinos invertebrados sésiles, la fecundidad a menudo se determina indirectamente a partir de los recuentos de ovocitos presentes, con la asunción de que todos o la mayoría se convertirán en descendientes viables (Brazeau & Lasker 1989, Benayahu & Loya 1983, Langton *et al.* 1990). De acuerdo con otros autores (por ejemplo Duncan 1998), aquí consideramos más apropiado a nivel de colonia el término esfuerzo reproductivo, ya que no fue posible evaluar el número real de larvas producidas.

El promedio de la fecundidad relativa potencial (PRF) de nuestro *Pt. spinosum* (que osciló entre 7 y 17 ovocitos por pólipo) mostró un rango similar al de otros pennatuláceos, como *Renilla koellikeri* (7-8 ovocitos por pólipo, Tremblay *et al.* 2004).

Cuantificar los diferentes estados de madurez de los ovocitos dentro de la colonia ofrece información más confiable sobre el estado reproductivo de la colonia y su esfuerzo reproductivo (Servetto & Sahade 2016). Sin embargo, las comparaciones con estudios reproductivos previos deben hacerse con cautela porque algunos datos se basan en el esfuerzo reproductivo potencial (PRE) (por ejemplo Tremblay *et al.* 2004, Soong 2005, Pires *et al.* 2009), mientras que otros no incluyeron ovocitos inmaduros en sus estimaciones de fecundidad (ERE) (por ejemplo, Chia & Crawford 1973, Tyler *et al.* 1995; Baillon *et al.* 2014, Hamel *et al.* 2020) (ver Tabla 4.3). Además, algunas de estas especies tienen examinado el ciclo reproductivo completo, mientras que otras se basan en muestreos escasos o puntuales (Chia & Crawford 1973, Eckelbarger *et al.* 1998). Nuestras colonias de *Pt. spinosum* mostraron valores de ERE similares a los de *Pteroeides* sp. (Duncan 1998). Sin embargo, sin un programa de muestreo estacional, las inferencias sobre los estados de madurez colonial y los eventos de desove en *Pt. spinosum* debe seguir siendo especulativos. Muestreos futuros de esta población en diferentes estaciones podrían ofrecer más información sobre el ciclo de maduración y verificar los eventos de desove con mayor precisión.

Tabla 4.3. Estudios reproductivos en Pennatulacea. Tenga en cuenta que el valor de ERE corresponde a ECF en otros estudios (Baillon *et al.* 2014, 2015). Abreviaciones: PRE, esfuerzo reproductivo potencial; ERE, esfuerzo reproductivo efectivo. Los datos de PRE y ERE deben tomarse con cautela cuando se comparan especies con diferentes periodos de muestreo.

Especie	Max. Long. colonia (mm)	Max. Diam. ovocito (μ m)	Periodo de muestreo	PRE	ERE	Estudio
<i>Ptilanthes guineyi</i>	500?	600	Marzo 1972		200.000-210.000	Chia & Crawford 1973
<i>Kophobolemann stelliferum</i>	250	800	1977-1986			Rice <i>et al.</i> 1992
<i>Umbellula lindahli</i>	300	800	1977-1986		2.000	Tyler <i>et al.</i> 1995
<i>Pennatula oculata</i>	235	880	Agosto 1993			Eckelbarger <i>et al.</i> 1998
<i>Proceides</i> sp.	190	550	Varios meses entre 1997-1998		36.334	Duncan 1998
<i>Renilla koellikeri</i>		400	Mayo-Agosto 2002-2003	1.400		Tremblay <i>et al.</i> 2004
<i>Virgularia juncea</i>	800	300	Cada 1-2 meses entre Sep.1990 y Nov. 1993	87.000		Soong 2005
<i>Pennatula plosphorea</i>	120	600	12 meses, desde Feb 2004 a Ene 2005	53.534	3.000-8.000	Edwards & Moore 2008
<i>Funiculina quadrangularis</i>	2.000	900	12 meses, desde Feb 2004 a Ene 2005			Edwards & Moore 2009
<i>Anthoptilum murrayi</i>	580	1.200	Feb, Jun, Jul, Ago (2000?)	25.713-35.918		Pires <i>et al.</i> 2009
<i>Vectillum cyanoerium</i>	<400	967	Bimensual, Abr 2010- Feb 2011			Lopes <i>et al.</i> 2012
<i>Malacobolemann daytoni</i>	110	350	Mensual, Ene 2009-Dic 2010		22.745	Serveito <i>et al.</i> 2013; Serveito & Sahade 2016
<i>Anthoptilum grandiflorum</i>	700	1.100	Varios meses durante 2006-2007, Abr y May durante 2009-2010		998-4.331	Baillon <i>et al.</i> 2014
<i>Balticina finmarctica</i>	148	1.000	Varios meses durante 2006-2007		500-6.300	Baillon <i>et al.</i> 2015
<i>Umbellula encrinus</i>	1.240	950	Ago-Nov 2006; Jun-Jul 2008; Oct 2010		6.460	Hamel <i>et al.</i> 2020
<i>Pennatula oculata</i>	169	<740	Jul 2014; May, Ago, Oct 2015			Conillard <i>et al.</i> 2021
<i>Proceides spinosum</i>	138.5	687	Julio 2012	110.283	29.876	Este estudio

4.5 Agradecimientos

Los autores quieren dar las gracias a los científicos y tripulantes a bordo del R/V García del Cid durante la travesía "INDEMARES-CSIC VI", en Cap de Creus, así como a los numerosos colegas a bordo, sin cuya ayuda no hubiera sido posible recolectar los especímenes para este trabajo. Un agradecimiento especial se dirige a Josep-Maria Gili por su continuo apoyo a la investigación bentónica en el noroeste del Mar Mediterráneo. Esta investigación ha sido financiada

por el proyecto LIFE+INDEMARES (LIFE07/NAT/E/000732). Los autores también agradecen las críticas y las sugerencias proporcionadas por dos referís anónimos y el consejo editorial de Thalassas.

4.6 Referencias

- Abdelsalam K.M. 2014. Faunistic study of benthic Pennatulacea (Cnidaria, Octocorallia) from the Northern coast of Egypt. *Egypt J Aquat Res* 40(3): 261–268.
- Baillon S., Hamel J.F., Wareham V.E., Mercier A. 2012. Deep cold- water corals as nurseries for fish larvae. *Front Ecol Environ* 10(7): 351–356.
- Baillon S., Hamel J.F., Wareham V.E., Mercier A. 2014. Seasonality in reproduction of the deep-water pennatulacean coral *Anthoptilum grandiflorum*. *Mar Biol* 161(1): 29–43.
- Baillon S., Hamel J.F., Mercier A. 2015. Protracted oogenesis and annual reproductive periodicity in the deep- sea pennatulacean *Halipterus finmarchica* (Anthozoa, Octocorallia). *Mar Ecol* 36(4): 1364–1378.
- Bayer F.M., Grasshoff M., Verseveldt J. 1983. Illustrated trilingual glossary of morphological and anatomical terms applied to Octocorallia. EJ Brill/ Dr. Backhuys, Leiden, pp 75.
- Benayahu Y., Loya Y. 1983. Surface brooding in the Red Sea soft coral *Parerythropodium fulvum fulvum* (Forsk., 1775). *Biol Bull* 165(2): 353–369.
- Brazeau D.A., Lasker H.R. 1989. The reproductive cycle and spawning in a Caribbean gorgonian. *Biol Bull* 176(1): 1–7.
- Brazeau D.A., Lasker H.R. 1990. Sexual reproduction and external brooding by the Caribbean gorgonian *Briareum asbestinum*. *Mar Biol* 104(3): 465–474.
- Brazeau D.A., Lasker H.R. 1992. Reproductive success in the Caribbean octocoral *Briareum asbestinum*. *Mar Biol* 114(1): 157–163.
- Brito T.A., Tyler P.A., Clarke A. 1997. Reproductive biology of the Antarctic octocoral *Thouarella variabilis* Wright and Studer 1889. In: Hartog JC den (ed) Proc 6th Int Conf on coelenterate biology, Leiden, pp 63–69.
- Buhl-Mortensen L., Vanreusel A., Gooday A.J., Levin L.A., Priede I.G., et al. 2010. Biological structures as a source of habitat heterogeneity and biodiversity on the deep ocean margins. *Mar Ecol* 31: 21–50.
- Carney R.S. 2005. In: Gibson RN, *Oceanography and marine biology: An annual review* 43: 211–278.
- Chia F.S., Crawford B.J. 1973. Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guerneyi*. *Mar Biol* 23: 73–82.
- Chimienti G., Angeletti L., Mastrototaro F. 2018. Withdrawal behaviour of the red sea pen *Pennatula rubra* (Cnidaria: Pennatulacea). *Eur Zool J* 85(1): 64–70.
- Clippelle L.H., Buhl-Mortensen P., Buhl-Mortensen L. 2015. Fauna associated with cold water gorgonians and sea pens. *Cont Shelf Res* 105: 67–78.
- Coelho M.A., Lasker H.R. 2014. Reproductive biology of the Caribbean brooding octocoral *Antilogorgia hystrix*. *Invertebr Biol* 133(4): 299–313.

- Coffroth M.A., Lasker H.R. 1998. Population structure of a clonal gorgonian coral: the interplay between clonal reproduction and disturbance. *Evolution* 52(2): 379–393.
- Coma R., Ribes M., Zabala M., Gili J.M. 1995a. Reproduction and cycle of gonadal development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Mar Ecol Prog Ser* 117: 173–183.
- Coma R., Ribes M., Zabala M., Gili J.M. 1995b. Sexual reproductive effort in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. *Mar Ecol Prog Ser* 117(1): 185–192.
- Connor D.W., Allen J.H., Golding N.E.I.L., Lieberknecht L.M., Northen K.O. et al. 2003. The national marine habitat classification for Britain and Ireland. JNCC Peterborough.
- Couillard C.M., Sainte-Marie B., Dionn H. 2021. Late maturity and evidence for female biennial spawning in the sea pen *Pennatula aculeata* (Anthozoa, Pennatulacea) in eastern Canada. *Invertebrate Biology*, 140(4), e12351.
- Curd A. 2010. Background document for sea pen and burrowing megafauna communities. Publication no. 481/ 2010, 26.
- Davies J.S., Guillaumont B., Tempera F., Vertino A., Beuck L., et al. 2017. A new classification scheme of European cold-water coral habitats: implications for ecosystem-based management of the deep sea. *Deep Sea Res Part II Top Stud Oceanogr* 145: 102–109.
- Duncan J.C. 1998. Biology of the sea pen *Pteroeides* sp. in Fiordland, New Zealand. PhD dissertation. University of Otago, New Zealand, pp 88.
- Eckelbarger K.J., Tyler P.A., Langton R.W. 1998. Gonadal morphology and gametogenesis in the sea pen *Pennatula aculeata* (Anthozoa: Pennatulacea) from the Gulf of Maine. *Mar Biol* 132:677–690.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2008. Reproduction in the sea pen *Pennatula phosphorea* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. *Mar Biol* 155: 303–314.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2009. Reproduction in the sea pen *Funiculina quadrangularis* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. *Estuar Coast Shelf Sci* 82: 161–168.
- Ellis J. 1764. An account of the sea pen, or *Pennatula phosphorea* of Linnaeus; likewise a description of a new species of sea pen, found on the coast of South-Carolina, with observations on sea-pens in general. In a letter to the honourable Coote Molesworth, Esq; M.D. and F.R.S. from John Ellis, esq; F.R.S. and member of the Royal Academy of Upsal. *Philos Trans R Soc Lond B* 53: 419–435.
- Fiorillo I., Rossi S., Alvà V., Gili J.M., López-González P.J. 2013. Seasonal cycle of sexual reproduction of the Mediterranean soft coral *Alcyonium acaule* (Anthozoa, Octocorallia). *Mar Biol* 160(3): 719–728.
- Flint H.C., Waller R.G., Tyler P.A. 2007. Reproductive ecology of *Fungiacyathus marenzelleri* from 4100 m depth in the northeast Pacific Ocean. *Mar Biol* 151(3): 843–849.
- Gili J.M., Pagès F. 1987. Pennatuláceos (Cnidaria, Anthozoa) recolectados en la plataforma continental catalana (Mediterráneo occidental). *Misc Zool* 11: 25–39.
- Gray J.E. 1870 Catalogue of sea-pens or Pennatulariidae in the collection of the British Museum. British Museum, London, pp 40.
- Hamel J.-F., Wareham-Hayes V.E., Mercier A. 2020. Reproduction of a bathyal pennatulacean coral in the Canadian Arctic. *Deep-Sea Res. I.* 162, 103321.
- Herklots J.A. 1858. **Notices pour servir à l'étude des polypiers nageurs ou pennatulidés.** *Bijdr Dierkd* 7: 1–31.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. Siboga Expeditie Monographs 14, Livr. 77, 1–265.
- Jones L.A., Hiscock K., Connor D.W. 2000. Marine habitat reviews, a summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of Marine SAC's. **UK Marine SAC's Project Report**. Peterborough: Joint Nature Conservation Committee, pp 178.
- Kükenthal W. 1915. Pennataria. Das Tierreich. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin, 43: 1–132.
- Langton R.W., Langton E.W., Theroux R.B., Uzmann J.R. 1990. Distribution, behaviour and abundance of sea pens, *Pennatula aculeata*, in the Gulf of Maine. Mar Biol 107: 463–469.
- Laverick J.H., Andradi-Brown D.A., Rogers A.D. 2017. Using light-dependent scleractinia to define the upper boundary of mesophotic coral ecosystems on the reefs of Utila, Honduras. PLoS One 12(8): e0183075.
- Levitan D.R. 1993. The importance of sperm limitation to the evolution of egg size in marine invertebrates. Am Nat 141: 517–536.
- Levitan D.R. 1996. Predicting optimal and unique egg sizes in free-spawning marine invertebrates. Am Nat 148: 174–188.
- Lopes V.M., Baptista M., Pimentel M.S., Repolho T., Narciso L., et al. 2012. Reproduction in Octocorallia: synchronous spawning and asynchronous oogenesis in the pennatulid *Veretillum cynomorium*. Mar Biol Res 8(9): 893–900.
- Marshall A.M., Fowler G.H. 1887. **Report on the Pennatulida dredged by H. M. S. 'Porcupine.'** Trans Roy Soc Edinburgh 33(2): 453–464.
- McClary D.J., Mladenov P.V. 1989. Reproductive pattern in the brooding and broadcasting sea star *Pteraster militaris*. Mar Biol 103(4): 531–540.
- Mladenov P.V., Brady K. 1987. Reproductive cycle of the Caribbean feather star *Nemaster rubiginosa* (Echinodermata: Crinoidea). Mar Ecol 8(4): 313–325.
- Nuridin N., Lanuru M., Akbar A.S., Kartika I., Komatsu T. 2019. Accuracy of unsupervised classification to determine coral health using SPOT-6 and Sentinel-2A. Int Arch Photogramm Remote Sens Spat Inf Sci Vol XLII-4/W16 6th Int Conf on Geomatics and Geospatial Technology.
- Ocaña Ó., Wirtz P. 2007. New records of Pennatulacea (Cnidaria, Octocorallia) from Madeira island.
- Orejas C., López-González P.J., Gili J.M., Teixidó N. 2002. Distribution and reproductive ecology of the Antarctic octocoral *Ainigmaptilon antarcticum* in the Weddell Sea. Mar Ecol Prog Ser 231: 101–114.
- Orejas C., Gili J.M., López-González P.J., Hasemann C., Arntz W.E. 2007. Reproduction patterns of four Antarctic octocorals in the Weddell Sea: an inter-specific, shape, and latitudinal comparison. Mar Biol 150: 551–563.
- Page C.A., Lasker H.R. 2012. Effects of tissue loss, age and size on fecundity in the octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae*. J Exp Mar Biol Ecol 434–435, 47–52.
- Pax F.A., Müller I. 1953. Die Anthozoen fauna von der Bucht von Kastela bei Split. Acta Adriat 5(1): 14–35.
- Pax F.A., Müller I. 1955. Die Korallentiere der Adria. Die Aquarien- und Terrarien Zeitschrift, 8,10–12; 39–40; 67–69.

- Pax F.A., Müller I. 1959. The role of the Wrocław Zoological Institute and Museum in the study of the fauna of Anthozoa in the Adriatic Sea. *Przeegląd zoologiczny* 3(1): 44–53.
- Pires D.O., Castro C.B., Silva J.C. 2009. Reproductive biology of the deep-sea pennatulacean *Anthoptilum murrayi* (Cnidaria, Octocorallia). *Mar Ecol Prog Ser* 397: 103–112.
- Porporato E.M.D., Mangano M.C., De Domenico F., Giacobbe S., Spanò N. 2014. First observation of *Pteroeides spinosum* (Anthozoa: Octocorallia) fields in a Sicilian coastal zone (Central Mediterranean Sea). *Mar Biodivers* 44: 589–592.
- Quintanilla E., Gili J.M., López-González P.J., Tsounis G., Madurell T., et al. 2013. Sexual reproductive cycle of the epibiotic soft coral *Alcyonium coralloides* (Octocorallia, Alcyonacea). *Aquat Biol* 18(2): 113–124.
- Rice A.L., Tyler P.A., Paterson G.J.L. 1992. The pennatulid *Kophobelemnion stelliferum* (Cnidaria: Octocorallia) in the porcupine seabight (north-east Atlantic Ocean). *J Mar Biol Assoc UK* 72: 417–434.
- Roberts C.M. 2002. Deep impact: the rising toll of fishing in the deep sea. *Trends Ecol Evol* 17: 242–245.
- Roberts J.M., Wheeler A.J., Freiwald A. 2006. Reefs of the deep: the biology and geology of cold-water coral ecosystems. *Science* 312(5773): 543–547.
- Rossi L. 1971. Guida a cnidari e ctenofori della fauna italiana. *Quaderni Sta Idrobiol Milano* 2: 1–101.
- Servetto N., Sahade R. 2016. Reproductive seasonality of the Antarctic sea pen *Malacobelemnion daytoni* (Octocorallia, Pennatulacea, Kophobelemnidae). *PLoS one* 11(10): e0163152.
- Servetto N., Torre L., Sahade R. 2013. Reproductive biology of the Antarctic “sea pen” *Malacobelemnion daytoni* (Octocorallia, Pennatulacea, Kophobelemnidae). *Polar Res* 32(1): 20040.
- Simpson A. 2009. Reproduction in octocorals (Subclass Octocorallia): a review of published literature. <http://www.ucs.louisiana.edu/~scf4101/Bambooweb>.
- Soong K. 2005. Reproduction and colony integration of the sea pen *Virgularia juncea*. *Mar Biol* 146: 1103–1109.
- Soong K., Lang J.C. 1992. Reproductive integration in reef corals. *Biol Bull Rev* 183(3): 418–431.
- Theodor J. 1967. **Contribution a l'étude des gorgones VII. Ecologie et comportement de la planula.** *Vie Milieu* 18: 291–301
- Topçu E.N., Öztürk B. 2015. Composition and abundance of octocorals in the Sea of Marmara, where the Mediterranean meets the Black Sea. *Sci Mar* 79(1): 125–135.
- Tremblay M.E., Henry J., Anctil M. 2004. Spawning and gamete follicle rupture in the cnidarian *Renilla koellikeri*: effects of putative neurohormones. *Gen Comp Endocrinol* 137: 9–18.
- Tyler P.A., Bronsdon S.K., Young C.M., Rice A.L. 1995. Ecology and gametogenic biology of the genus *Umbellula* (Pennatulacea) in the North Atlantic Ocean. *Int Rev Hydrobiol* 80(2): 187–199.
- Weinberg S., Weinberg F. 1979. The life cycle of a gorgonian: *Eunicella singularis* (Esper, 1794). *Bijdr Dierkd* 48: 127–140.
- Williams G.C. 1995. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zool J Linn Soc* 113: 93–140.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

Williams G.C. 2011. The global diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS one* 6(7): e22747.

Zar J.H. 1984. *Biostatistical analysis*. 2nd. Prentice Hall, USA.

4.7 Material Suplementario

Tabla S4.1. Clases de tamaño de colonia y número total de hojas polipíferas en las colonias examinadas de *Pteroeides spinosum*. Colonias en estado conservado.

MACHOS				HEMBRAS		
tamaño	cod. colonia	longitud (mm)	total n hojas polipíferas	cod. colonia	longitud (mm)	total n hojas polipíferas
	♂1	86.15	37	♀1	73.80	35
pequeño	♂2	87.51	41	♀2	77.00	47
	♂3	92.66	40	♀3	82.10	38
	♂4	97.15	36	♀4	86.20	34
	♂5	99.18	42	♀5	91.20	36
grande	♂6	106.30	36	♀6	101.00	37
	♂7	107.20	43	♀7	120.00	60
				♀8	138.00	38
				♀9	138.50	46

Tabla S4.2. Variación intracolonia en las colonias examinadas de *Pteroeides spinosum*. Abreviaciones: T, tamaño de colonia; z(s), zona anidada al tamaño; L, longitud media de la hoja polipífera (mm); \bar{x} =promedio; P, promedio de pólipos por hoja; M, valor promedio de espermatozoides u ovocitos por hoja; PRF (fecundidad relativa potencial), número de ovocitos por pólipo.

T	z(s)	Machos								Hembras						PRF				
		L	±SE	P	±SE	\bar{x}	±SD	Max	Min	L	±SE	P	±SE	\bar{x}	±SD	Max	Min	mean	Max	Min
Pequeña	proximal	15.73	2.33	60	20	123	73	225	41	13.32	2.79	53	12	373	262	810	40	7	15	1
	medial	21.11	4.17	126	42	840	395	1,736	361	20.44	1.74	127	27	1,299	565	2,056	504	10	16	4
	distal	13.27	3.32	88	31	588	183	763	156	11.30	3.30	68	26	501	389	1,353	115	7	20	2
Grande	proximal	19.40	3.24	66	9	686	194	921	448	16.04	3.42	62	10	748	367	1,508	383	12	24	6
	medial	24.46	3.97	148	15	1,649	143	1,805	1,472	26.70	4.63	160	28	2,675	1,135	3,829	666	17	24	4
	distal	12.20	1.95	89	27	678	333	1,070	280	14.39	4.34	84	26	1,094	361	1,568	574	13	19	7

Tabla S4.3. Resultados de los análisis estadísticos de la Tabla 1. Abreviaciones: Prox., zona proximal; M-D, zona medial-distal; N, número medio de espermatocistos/ovocitos; D, diámetro medio de los espermatocistos/ovocitos; LC, cohorte líder.

	Machos					Hembras				
	Prox.	M-D	<i>P</i>	df	χ^2	Prox.	M-D	<i>P</i>	df	χ^2
<i>N</i>	1.986	5.895	<0,001	1	3303	5.079	11.923	<0,001	1	9062
<i>D</i>	168,0	207,0	<0,001	1	17	169,2	229,7	<0,001	1	18,04
<i>LC</i>	412,2	491,2	<0,001	1	24	600,1	580,9	0,289	1	1,12
% clase-tamaño I	86,95	69,65	0,02	1	5,59	81,50	65,17	0,03	1	5
% clase-tamaño II	13,05	30,98	<0,001	1	11	18,50	34,78	0,004	1	8

Tabla S4.4. Resultados de los análisis estadísticos de la Tabla 4.2. Abreviaciones: Prox., zona proximal; M-D, zona medial-distal; P-D, zona proximal-distal; PRE, esfuerzo reproductivo potencial (número de espermatocistos/ovocitos por colonia); ERE, esfuerzo reproductivo efectivo (número de espermatocistos/ovocitos grandes por colonia; **espermatocistos y ovocitos grandes $\geq 300 \mu\text{m}$**).

	Machos					Hembras				
	pequeño	grande	<i>P</i>	df	χ^2	pequeño	grande	<i>P</i>	df	χ^2
<i>PRE</i>	19.502	35.646	<0,001	1	3695	27.379	73.114	<0,001	1	15848
<i>ERE</i>	5.008	9.946	<0,001	1	1095	6.828	29.876	<0,001	1	10300
	Prox.	M-D	<i>P</i>	df	χ^2	Prox.	M-D	<i>P</i>	df	χ^2
<i>PRE</i>	5.933	10.820	<0,001	1	5977	6.890	21.678	<0,001	1	18834
<i>ERE</i>	677.5	3.397	<0,001	1	2502	1.509	8.421	<0,001	1	10790
	P-D	Medial	<i>P</i>	df	χ^2	P-D	Medial	<i>P</i>	df	χ^2
<i>PRE</i>	8.061	11.451	<0,001	1	1475	10.268	29.712	<0,001	1	53853
<i>ERE</i>	1.892	3.688	<0,001	1	1746	3.147	12.058	<0,001	1	37484

CAPÍTULO QUINTO

5 ESTUDIO DE REPRODUCCIÓN ACOPLADO A CRECIMIENTO

Reproductive traits associated with the age of deep-water pennatulacean *Anthoptilum murrayi* Kölliker, 1880, from Iceland (North Atlantic)

Francisco J. García-Cárdenas¹ and Pablo J. López-González¹

¹Biodiversidad y Ecología Acuática. Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 – Sevilla, España

(FJG-C) (corresponding author) E-mail: frangarca@us.es. ORCID-iD: 0000-0002-1503-9552

(PJL-G) E-mail: pjlopez@us.es. ORCID-iD: 0000-0002-7348-6270

Enviado a Marine Biology Research

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

5.1 Introducción

La fauna de aguas profundas sigue siendo poco conocida, a pesar de los esfuerzos internacionales colectivos para mejorar nuestro conocimiento general, especialmente aquellos dirigidos a los octocorales que habitan en el fondo (Packer & Dorfman 2010, Christopher & Lasker 2012). Algunos de estos esfuerzos fueron el resultado de las campañas de investigación BIOICE (Invertebrados bénticos de aguas islandesas) llevados a cabo durante más de una década, gracias a los cuales se proporcionaron abundantes especímenes, así como datos ecológicos y biológicos sobre la fauna de aguas profundas de Islandia (Sigvaldadóttir *et al.* 2000, Omarsdóttir *et al.* 2013).

La información sobre las características biológicas de los octocorales de aguas profundas, como la longevidad, la tasas de crecimiento o la fecundidad, permanecen escasamente explorados desde perspectivas biológicas y ecológicas (ver Benayahu & Schleyer 1998, Orejas *et al.* 2002, Kahng *et al.* 2011, Watling *et al.* 2011, entre otros). Sin embargo, esto es necesario para lograr una evaluación adecuada de su salud ecológica, dinámica poblacional y posibles respuestas a las perturbaciones que ocurren en profundidad (Clippele *et al.* 2015, Servetto & Sahade 2016, Chimienti *et al.* 2018), así como para diseñar futuros planes de conservación más precisos (Roberts 2002, Connor *et al.* 2003, Carney 2005, Davies *et al.* 2017). Por lo tanto, existe la necesidad de mejorar nuestro conocimiento acerca de las características esenciales de los grupos menos estudiados, primero desde un punto de vista biológico, pero también porque ello contribuirá a comprender su vulnerabilidad en un contexto de impactos humanos crecientes, como la destrucción de los hábitats y el cambio climático.

Las características biológicas como la longevidad y las tasas de crecimiento se han estudiado con frecuencia en los octocorales, a veces relacionadas con factores ambientales como la profundidad y la salinidad de la superficie (Neves *et al.* 2018b) o con el éxito reproductivo (Benayahu 1982, Benayahu & Loya 1986). Por

ejemplo, algunos corales de aguas profundas han sido reconocidos como organismos de crecimiento lento y alta longevidad (Grigg 1974, Risk *et al.* 2002, Matsu-moto 2004, Roark *et al.* 2005, Gass & Roberts 2006, Brooke & Young 2009, Sherwood & Edinger 2009). Sin embargo, en uno de los grupos más representativos de octocorales de aguas profundas como son las plumas de mar (Octocorallia: Pennatulacea), esta información relevante permanece aún poco conocida a pesar de sus implicaciones ecológicas, y su posible papel en la toma de decisiones para reforzar el estado de conservación de los fondos que ellos habitan (ver Murillo *et al.* 2018).

Las plumas de mar, probablemente el grupo octocoral más especializado, exhiben distintas adaptaciones morfológicas (por ejemplo, un pedúnculo muscular) (Kükenthal 1915, Williams 2011), y con frecuencia actúan como un bioconstrutor tridimensional del paisaje bentónico sobre el cual se aloja una rica fauna (Baillon *et al.* 2012, Chimienti *et al.* 2018). El Orden Pennatulacea incluye más de 200 especies (García-Cárdenas *et al.* 2019, Li *et al.* 2021, López-González & Drev-ery 2022), la mayoría de ellas siendo consideradas como taxones de aguas profundas (aquellas que habitan entre 400 y >6.000 m profundidad, ver Williams 2011, 2015), y los hábitats que ellos ayudan a conformar están incluidos en la lista OSPAR (Jones *et al.* 2000, Curd 2010). A pesar de este reconocido valor ecológico, todavía se sabe poco sobre características esenciales como las tasas de crecimiento, la longevidad y las características reproductivas de la mayoría de las especies de pennatuláceos descritas (Lopes *et al.* 2012, Servetto & Sahade 2016).

El eje interno no ramificado a lo largo de la colonia constituye la principal estructura de soporte de la gran mayoría de las plumas de mar (Williams 1995), y puede revelar en secciones transversales anillos de crecimiento formados por bandas oscuras y claras alternas (Wilson *et al.* 2002, Neves *et al.* 2015, 2018a). Aunque el eje puede presentar diversos grados de desarrollo (e incluso puede estar ausente) (López-González *et al.* 2000), cuando existe, puede mostrar anillos

de crecimiento claramente distinguibles cuya periodicidad de formación se confirmó que are anual (Sherwood *et al.* 2008), como ocurre en otros octocorales (Andrews *et al.* 2002, Marschal *et al.* 2004, Sánchez *et al.* 2004, Soong 2005, Tracey *et al.* 2007) y plumas de mar (Neves *et al.* 2015, 2018b, Hamel *et al.* 2010). Como se reveló en estudios previos (ver Wilson *et al.* 2002), la longitud total de la colonia no debería usarse para determinar las tasas de crecimiento, porque el eje de los pennatuláceos crece en dos direcciones opuestas (hacia arriba y hacia abajo) comenzando en el límite raquis-pedúnculo, cada uno con su respectivo ritmo de crecimiento (más lento a nivel del pedúnculo) (ver Wilson *et al.* 2002). Un conocimiento preciso de las tasas de crecimiento del raquis es más útil para correlacionar los datos de clase de tamaño de una determinada población de plumas de mar con los datos de clase de edad, evitando cualquier daño al espécimen y a la población (ver arriba). Además, determinar la estructura de edad poblacional puede ser útil para comprender su éxito ecológico, su capacidad de recuperación después de una perturbación externa (resiliencia), para estimar su mortalidad natural o total, así como para inferir la tasa de supervivencia de la población en un entorno determinado (Servetto *et al.* 2013, Murillo *et al.* 2018, Neves *et al.* 2018b).

El género *Anthoptilum* (Anthoptilidae) tiene un rango batimétrico de 155 a 3.150 m de profundidad (Williams 1995, 2011). *Anthoptilum* presenta colonias alargadas y en forma de látigo, con simetría bilateral en el raquis, sin hojas políperas ni escleritos. La colonia está sostenida por un eje interno a lo largo de la misma (redondeado a algo cuadrangular en sección transversal) (Williams 1995) que muestra anillos de crecimiento en secciones transversales (Neves *et al.* 2018a).

Una de las especies más citadas de este género es *Anthoptilum murrayi* Kölliker, 1880, que aparentemente muestra una amplia distribución reportada desde los océanos Ártico, Atlántico e Índico, hasta aguas profundas alrededor de

Nueva Zelanda y Australia (Jungersen 1904, Tixier-Durivault & D' Hondt 1974, Cryer *et al.* 2002, Mortensen *et al.* 2008, Pires *et al.* 2009). A pesar de su amplia distribución, se sabe muy poco sobre sus características biológicas, como el crecimiento, la longevidad o las características reproductivas. Por otro lado, Pires *et al.* (2009) estudiaron la biología reproductiva de una población de *A. murrayi* del suroeste Atlántico y sugirieron la probable presencia de actividad reproductiva continua, en lugar de un patrón reproductivo estacional, en contraste con la mayoría de los pennatuláceos estudiados (Baillon *et al.* 2014, 2015, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021).

El presente estudio explora las relaciones entre la edad (y las tasas de crecimiento) y algunos rasgos de la biología reproductiva de una población de aguas profundas de *Anthoptilum murrayi* del noreste Atlántico (frente al sur de Islandia). Nuestros resultados se discuten con la información disponible sobre *A. murrayi* (incluyendo el patrón reproductivo propuesto), así como las otras especies de plumas de mar.

5.2 Materiales y Métodos

5.2.1 Muestreo y determinación del sexo

Las colonias de *Anthoptilum murrayi* aquí estudiadas se recolectaron frente al sur de Islandia (noreste Atlántico) utilizando una pequeña red de arrastre de fondo científica (como la red de arrastre Agassiz) durante las campañas de investigación BIOICE, realizadas entre 1991 y 2004. El área de estudio global de este importante programa, recolectando muestras por toda Islandia, tuvo un rango batimétrico entre 1.016 y 2.085 m de profundidad, sobre un fondo de arena fangosa, y entre 2,40°C y 3,99°C (Sigvaldadóttir *et al.* 2000). El material analizado en este estudio fue recolectado en la estación 303 (62°51.71'N 14°41.37'W) a 1.726 m de profundidad, el 11 de julio de 1997, presumiblemente antes del evento de desove (ver Pires *et al.* 2009) (Figura 5.1). Los especímenes fueron clasificados y etiquetados a bordo. Las colonias se fijaron en hexametilentetramina tamponada

con 4% formalina-agua de mar. Tras del período de fijación (una semana), todas las colonias se conservaron en etanol al 70%. Se recolectaron más de 100 especímenes y se seleccionaron y examinaron dieciocho colonias (nueve hembras y nueve machos) para el presente estudio. Las longitudes totales de las colonias, así como las longitudes parciales del raquis y del pedúnculo, se midieron utilizando el software ImageJ 1.38x. Las colonias oscilaron entre 112 y 333 mm de longitud y se agruparon inicialmente en tres clases de tamaño: pequeñas (112-140 mm), medianas (212-246 mm) y grandes (270-333 mm) (Figura 5.2A, Tabla S5.1).

La terminología utilizada en la anatomía de colonias sigue principalmente a Bayer *et al.* (1983). El material estudiado se depositó en la colección del grupo de investigación Biodiversidad y Ecología Acuática de la Universidad de Sevilla (BECA), aunque el resto de las muestras (>100 colonias) se depositarán en el Museo islandés de Historia Natural de Reykjavík (Islandia).

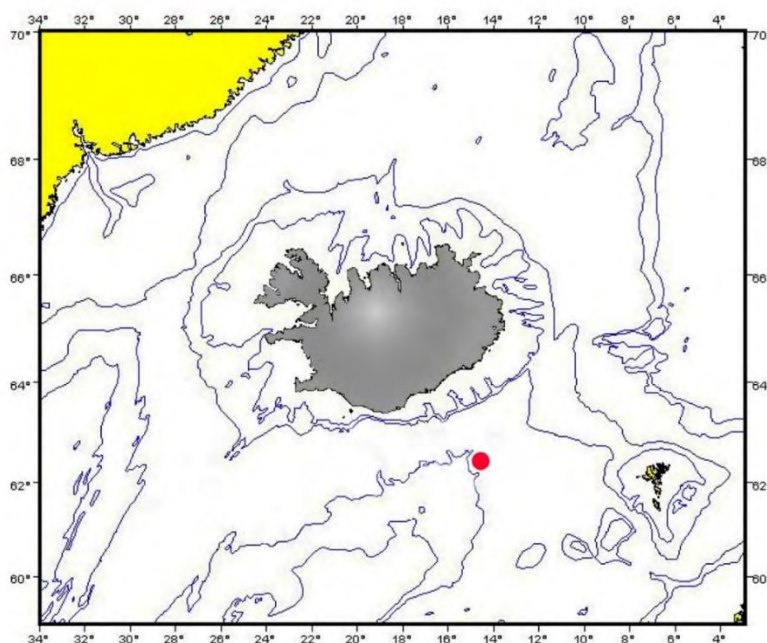


Figura 5.1. Estación de muestreo durante los campañas oceanográficas BIOICE (Islandia) en la que se recogieron las colonias de *Anthoptilum murrayi* Kölliker, 1880 (punto rojo).

La disección de colonias y pólipos (autozooides, Figura 5.2C, D) se realizó bajo un estereomicroscopio Motic SMZ-140. La determinación del sexo se realizó mediante la observación de gametos reproductivos en ácido láctico utilizando 1-2 autozooides en más de 100 colonias. Los ovocitos tenían un núcleo relativamente grande con nucléolo, y una coloración amarillo brillante, mientras que los espermatozoides tenían un aspecto granulado con múltiples cabezas espermáticas y una apariencia translúcida. La desviación de una proporción de sexos 1:1 se evaluó mediante una prueba de Chi-cuadrado (Zar 1984). Las medidas del Feret diámetro (fD) (Flint *et al.* 2007) de ovocitos y espermatozoides se obtuvieron utilizando un ocular calibrado.

5.2.2 Variación intracolonia

El raquis de las colonias machos y hembras de *A. murrayi* se dividió en tres zonas de longitud aproximadamente similar, llamadas proximal, medial y distal (Figura 5.2B), para evaluar posibles diferencias en algunos rasgos reproductivos entre zonas, siguiendo estudios previos sobre reproducción en octocorales (ver Orejas *et al.* 2002, Soong 2005, Edwards & Moore 2008).

Se evaluaron los efectos e interacciones de los factores “tamaño” y “zona” de la colonia en las siguientes variables: por un lado, se analizaron la variación intracolonia en rasgos macro-morfológicos, como el tamaño del autozooide (longitud y diámetro) y el número de autozooides por zona; por otro lado, se registraron los promedios (\pm SE) del número y diámetro de ovocitos y espermatozoides de diez pólipos en cada zona. Las posibles variaciones dentro y entre las colonias de *A. murrayi* fueron testadas utilizando pruebas de homogeneidad de varianza (Levene) y análisis de la varianza de una vía (ANOVA). Se utilizaron pruebas *post hoc* de rango múltiple (por ejemplo, test de Tamhane) (Servetto & Sahade 2016).

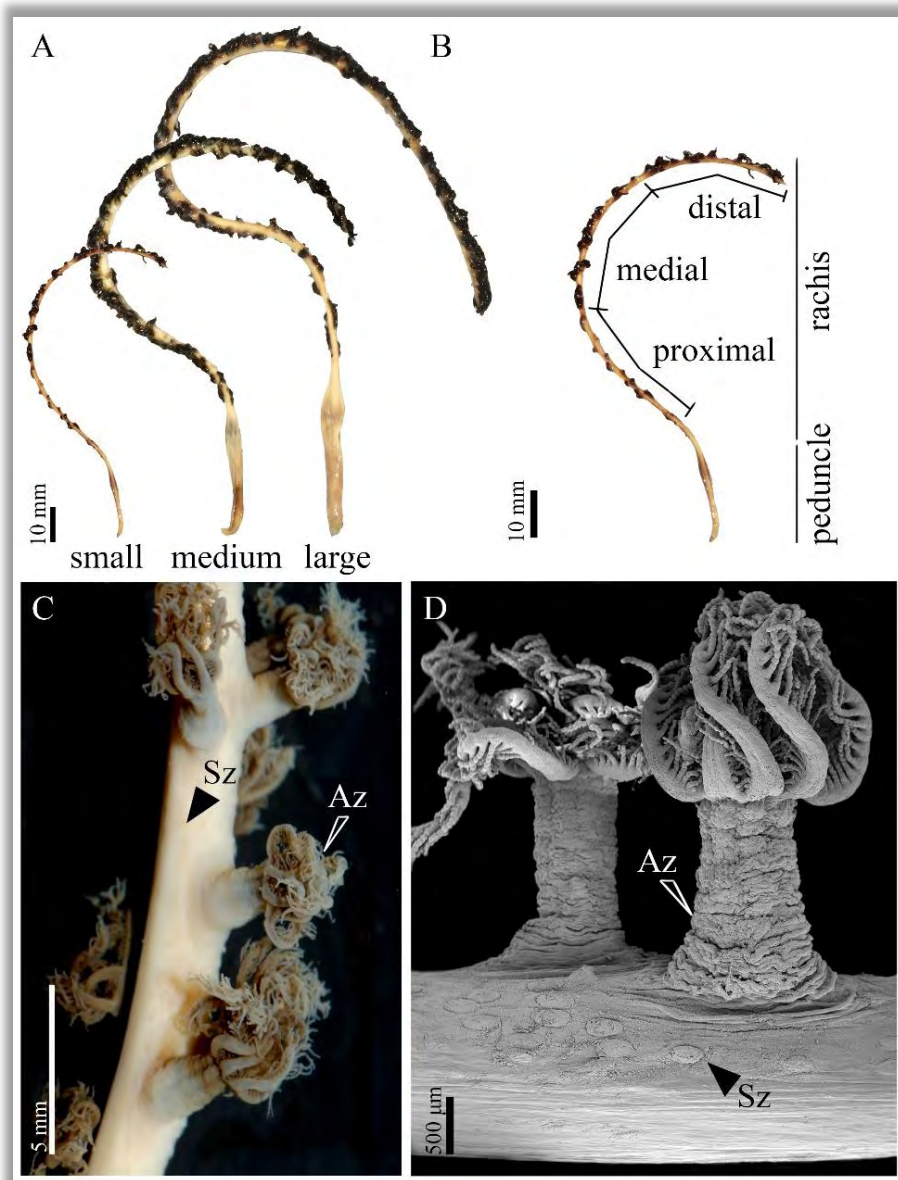


Figura 5.2. Morfología externa de *Anthoptilum murrayi*. A, Las tres clases de tamaño (pequeño, mediano y grande). B, Zonación intracolonia con el raquis dividido en tres zonas de longitud aproximadamente similar, llamadas proximal, media y distal. C, Imágenes de MO y SEM de autozooides (Az) y sifonozooides (Sz) en el raquis.

5.2.3 Conteo de anillos y estimaciones de la tasa de crecimiento

El tejido blando que rodea el eje axial de las colonias de *A. murrayi* se eliminó fácilmente. El diámetro a lo largo del eje se midió en cada segmento de 10 mm con un micrómetro (calibre digital) con una precisión de 0,05 mm. El segmento más ancho de cada colonia se cortó con una amoladora Dremel® en 3-4 secciones transversales (entre 0,5 y 2,0 mm). Las secciones se montaron en portaobjetos petrográficos embebidos en una resina termoestable LR White. Cada sección montada fue pulida (hasta un grosor de aproximadamente 0,032 mm) utilizando una máquina pulidora Discoplan-TS (Wilson *et al.* 2002) y se controló regularmente bajo un microscopio óptico.

Algunas muestras se sumergieron en ácido fórmico al 5% durante un tiempo que varía entre 5 y 10 segundos para degradar parcialmente el componente CaCO_3 de los anillos de crecimiento y permitir una fácil observación bajo SEM. Estas secciones fueron montadas en pins, recubiertas con oro-paladio bajo un Leica ACE600, y observadas con un Zeiss EVO SEM en el Servicio General de Investigación de Microscopía de la Universidad de Sevilla.

Bajo el microscopio óptico, los anillos de crecimiento eran evidentes como parejas, cada una consistente en una banda translúcida y otra banda opaca adyacente. Por cada sección, se contó varias veces el número de anillos en tres días no consecutivos, considerándose el valor medio como el número definitivo de anillos para cada colonia (Wilson *et al.* 2002, Neves *et al.* 2015). Las secciones transversales se fotografiaron bajo un microscopio Leica DMLB. Estas imágenes se analizaron usando el software de imágenes imageJ (Schneider *et al.* 2012) y se registró tanto el diámetro máximo como el número de anillos.

En general, las tasas de crecimiento diametral y lineal (DGR y LGR, respectivamente) se estimaron utilizando el promedio del diámetro del eje mayor y la longitud del raquis a lo largo del eje, respectivamente, divididas por el número de anillos (Neves *et al.* 2015). Se calcularon los intervalos de crecimiento para el

cambio en el tamaño de colonia, desde el tamaño pequeño al mediano y desde el tamaño mediano al grande, dividiendo la diferencia del diámetro o la longitud del raquis por la diferencia de la edad estimada promedio (esto es, la DGR entre-tamaños, y la LGR entre-tamaños, respectivamente) (Wilson *et al.* 2002).

Finalmente, se diseñó un modelo de regresión lineal multivariante para investigar las relaciones entre la longitud del raquis, el diámetro del eje y la edad de las colonias de *A. murrayi*. El modelo incluyó pruebas de diagnóstico y validación (pruebas de Levene y ANOVA). Se excluyeron datos outlier e influencia. Se evaluaron los supuestos de linealidad, homogeneidad, normalidad e independencia de los residuos (Kabacoff 2011).

5.2.4 Rasgos reproductivos

Previo a la eliminación del tejido blando, análisis complementarios incluyeron el examen de varios rasgos reproductivos relevantes. Se observaron diferentes estados de desarrollo de espermatocistos y ovocitos utilizando métodos histológicos. Se hicieron secciones histológicas de 7-8 μm de espesor de partes de varios especímenes (Johansen 1940) y se tiñeron con la Tinción Triple de Ramón y Cajal (ver Gabe 1968, Pantin 1948, Baillon *et al.* 2011). Los estados de desarrollo se clasificaron según las características histológicas de los ovocitos y los espermatocistos (ver Pires *et al.* 2009). Todas las secciones histológicas fueron observadas y estudiadas bajo un microscopio de luz (Leica DMLB) a diferentes magnificaciones (10x, 20x, 40x y 100x) para los distintos detalles. Como se observó anteriormente en esta especie, los ovocitos y espermatocistos de *A. murrayi* estaban aquí solo presentes en los autozooides y eran fácilmente distinguibles: los ovocitos tenían un núcleo relativamente grande con nucléolo y una coloración amarilla brillante; los espermatocistos tenían un aspecto granulado con múltiples cabezas espermáticas y una apariencia translúcida.

Dado que la maduración del ovocito/espermatocisto es un proceso continuo (Wourms 1987, Pires *et al.* 2009), aquí usamos la misma terminología utilizada anteriormente por Pires *et al.* (2009) para establecer los diferentes estados de desarrollo: el estado I representa el inicio del desarrollo (previtelogénico en colonias de hembras); el estado II un paso intermedio (vitelogénico en colonias femeninas); el estado III ovocitos y/o espermatocistos maduros (ver Discusión). Se obtuvo el número promedio y porcentaje de ovocitos/espermatocistos en cada estado de desarrollo a nivel de pólipo, zona y colonia.

Distribución de frecuencias de espermatocistos y ovocitos

Los datos de las medidas de espermatocistos y ovocitos se utilizaron para construir histogramas de frecuencia de diámetros, **teniendo en cuenta los factores** “tamaño” y “zona” de la colonia por sexo. Se llevó a cabo un análisis de conglomerados para K-medias para **determinar claramente los grupos** “ocultos” en la nube de puntos (Laverick *et al.* 2017, Nurdin *et al.* 2019). Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) unidireccional robusto para verificar las diferencias estadísticas entre los grupos. Se aplicó un análisis discriminante y se obtuvo su consecuente ecuación de Fisher, y entonces pruebas de rangos múltiples (como Tukey Ba) fueron utilizadas *post hoc* (Conover 1999).

Fecundidad

La fecundidad relativa potencial definida como el número total de ovocitos por pólipo (PRF), o en el caso de los machos, el número de espermatocistos, se estimó independientemente de su estado de madurez (ver más abajo); mientras que la fecundidad relativa efectiva definida como el número de ovocitos grandes por pólipo (ERF), o en el caso de los machos, el número de espermatocistos grandes, se estimó incluyendo solo los estados de desarrollo II y III (ver Soong 2005, Baillon *et al.* 2014 , 2015) (ver Discusión).

A nivel de colonia, nosotros también determinamos el esfuerzo reproductivo potencial (PRE) y el esfuerzo reproductivo efectivo (ERE, utilizando aquí solo

ovocitos grandes, incluyendo los estados de desarrollo II y III), de la siguiente manera:

PRE = [promedio de ovocitos por pólipo en una zona dada x N pólipos en esa zona] de las tres zonas.

ERE = [promedio de ovocitos grandes por pólipo en una zona dada x N pólipos en esa zona dada] de las tres zonas.

PRE y ERE se estimaron para colonias individuales y para cada zona dentro de la colonia, de acuerdo con estudios previos como Baillon *et al.* (2014, 2015) o Servetto & Sahade (2016).

5.2.5 Análisis estadísticos

Las estructuras de las colonias y las dimensiones de los ovocitos/espermatozoides se midieron utilizando el software ImageJ 1.38x. La normalidad fue testada mediante la prueba de Shapiro-Wilk, y la homogeneidad de las varianzas se examinó mediante la prueba de Levene (Servetto & Sahade 2016). Cuando las varianzas no fueron homogéneas, se utilizó un análisis de varianza robusto de una vía (ANOVA, pruebas de Welch y Brown-Forsythe). Todos los análisis estadísticos de los datos se realizaron utilizando IBM SPSS Statistics v22 (SPSS INC., Chicago, USA).

5.3 Resultados

Todas las colonias de *Anthoptilum murrayi* eran maduras y gonocóricas (ver más abajo). Las tres clases de tamaño mostraron diferencias significativas en la longitud de la colonia ($\chi^2 = 96.88, p < 0.05$) y del raquis ($\chi^2 = 86.15, p < 0.05$) (Figura 5.2, Tabla S5.1). La proporción de sexos no difirió significativamente de 1:1 (53 hombres y 50 mujeres, $\chi^2 = 0.08, p = 0.767$).

5.3.1 Clases de tamaño y variación intracolonia

Las tres clases de tamaño mostraron diferencias en el promedio del número y tamaño de los pólipos. El número de pólipos aumentó desde las colonias más pequeñas (52–75 pólipos) a las más grandes (237–417 pólipos) ($\chi^2 = 193,31$, $p < 0,05$). Sin embargo, dentro de la colonia, independientemente de las clases de tamaño, la zona proximal siempre presentó un número promedio de pólipos más bajo que la media y distal ($\chi^2 = 23,14$, $p < 0,05$) (ver Tabla S5.1). De manera similar, el tamaño promedio de los pólipos aumentó con el tamaño de la colonia, siendo más frecuentes los pólipos más pequeños (con las longitudes y los diámetros más pequeños) en las colonias más pequeñas ($\chi^2 = 59,89$, $p < 0,05$). Estos pólipos más pequeños se localizaron principalmente en la zona proximal en las tres clases de tamaño (test Brown-Forsythe & Tukey, $F_{2,267} = 13,08$, $p < 0,05$, para longitud; $F_{6,50} = 10,14$, $p < 0,05$, para diámetro) (Tabla S5.2).

5.3.2 Anillos de crecimiento y edad

El eje de las colonias de *A. murrayi* contenía anillos de crecimiento (Figura 5.3). La longitud total y el diámetro del eje aumentaron desde las colonias pequeñas a las grandes, observándose un rango de anillos de crecimiento de 5–7, 9–13 y 14–20 para las colonias pequeñas, medianas y grandes, respectivamente (Tabla 5.1). La edad media estimada (número promedio de anillos + núcleo) fue significativamente diferente entre las tres clases de tamaño, estimándose en $6,5 \pm 1$, 11 ± 2 y 17 ± 3 años para las colonias pequeñas, medianas y grandes (ANOVA y test HDS Tukey, $F_{17,162} = 54,927$, $p < 0,05$) (Tabla 5.1). No se encontraron diferencias entre machos y hembras.

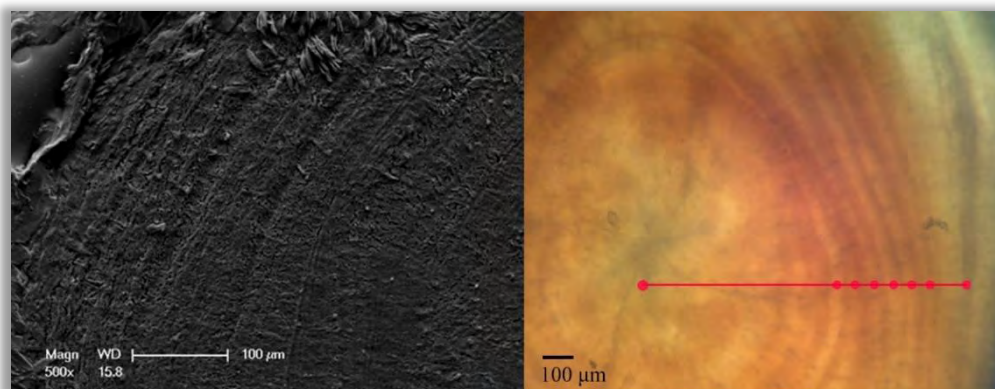


Figura 5.3. Cortes transversales del eje interno de colonias de *Anthoptilum murrayi*; izquierda, imagen de microscopía electrónica (SEM); derecha, imagen de microscopía óptica después del pulido. Los puntos rojos indican anillos de crecimiento (+núcleo).

Tabla 5.1. Promedios (\pm SE) del eje interno de las colonias de *Anthoptilum murrayi*. LGR= tasa de crecimiento lineal [longitud del raquis/anillos de crecimiento ($\text{mm a\~{n}o}^{-1}$)], DGR= tasa de crecimiento diametral [diámetro del eje/anillos de crecimiento ($\text{mm a\~{n}o}^{-1}$)].

Tamaño	L eje	D eje	N anil- los	años	LGR	DGR
Pequeño	119,2 \pm 10,9	1,06 \pm 0,08	5-7	6,5 \pm 1	15,31 \pm 1,76	0,17 \pm 0,03
Mediano	227,0 \pm 11,1	1,57 \pm 0,08	9-13	11 \pm 2	15,75 \pm 2,94	0,15 \pm 0,01
grande	293,7 \pm 23,7	1,66 \pm 0,14	14-20	17 \pm 3	14,97 \pm 2,36	0,10 \pm 0,01

5.3.3 Tasas de crecimiento y modelo predictivo

La tasa de crecimiento lineal (LGR) fue de $15,31 \pm 1,76$, $15,75 \pm 2,94$ y $14,97 \pm 2,36$ $\text{mm a\~{n}o}^{-1}$ para los tamaños pequeño, mediano y grande, respectivamente (Tabla 5.1). La LGR entre-tamaños fue de $15,97 \text{ mm a\~{n}o}^{-1}$ para el cambio de pequeño a mediano y de $13,51 \text{ mm a\~{n}o}^{-1}$ para el cambio de mediano a grande.

La tasa de crecimiento diametral (DGR) fue de $0,17 \pm 0,03$, $0,15 \pm 0,01$ y $0,10 \pm 0,01$ mm año⁻¹ para los tamaños pequeño, mediano y grande, respectivamente (Welch, $F_{17} = 3,0E+032$, $p < 0,001$) (Tabla 5.1) . La DGR entre-tamaños fue de $0,12$ mm año⁻¹ para el cambio de pequeño a mediano y de $0,01$ mm año⁻¹ para el cambio de mediano a grande.

La longitud del raquis presentó una correlación positiva con la edad estimada (Pearson, $P = 0,855$, $F_{1,178} = 484,839$, $p < 0,01$) y, tras cumplir con la normalidad y la homocedasticidad, el modelo propuesto fue el siguiente:

Edad estimada = $0,675 * \text{longitud del raquis (mm)} - 0,208$ [$r^2 = 0,731$]

El coeficiente de determinación que mide la bondad de ajuste del modelo ($r^2=0.731$) apoyó una capacidad predictiva > 70%.

5.3.4 Histología y estados de desarrollo

Las secciones histológicas mostraron que los autozooides presentaban espermatocistos y ovocitos en diferentes estados de desarrollo, mientras que los sifonozoides fueron estériles (Figuras 5.4 y 5.5). Los espermatocistos mostraron al menos dos estados de desarrollo claramente reconocibles en las secciones histológicas: espermatocistos tempranos (ScI = estado I, inmaduro), formados por espermatozoides desorganizados con cabezas redondeadas (cromatina no compactada) y teñidos de azul claro; y espermatocistos maduros (ScII = estado II, y ScIII = estado III) densamente rellenos y mostrando espermatozoides maduros con cabezas triangulares (cromatina compactada) y colas orientadas hacia el interior del quiste, y fuertemente teñidos de rojo claro (Figura 5.5). Las diferencias entre los estados II y III solo se basan en el tamaño del quiste logrado y se usaron solo con fines comparativos (ver Discusión).

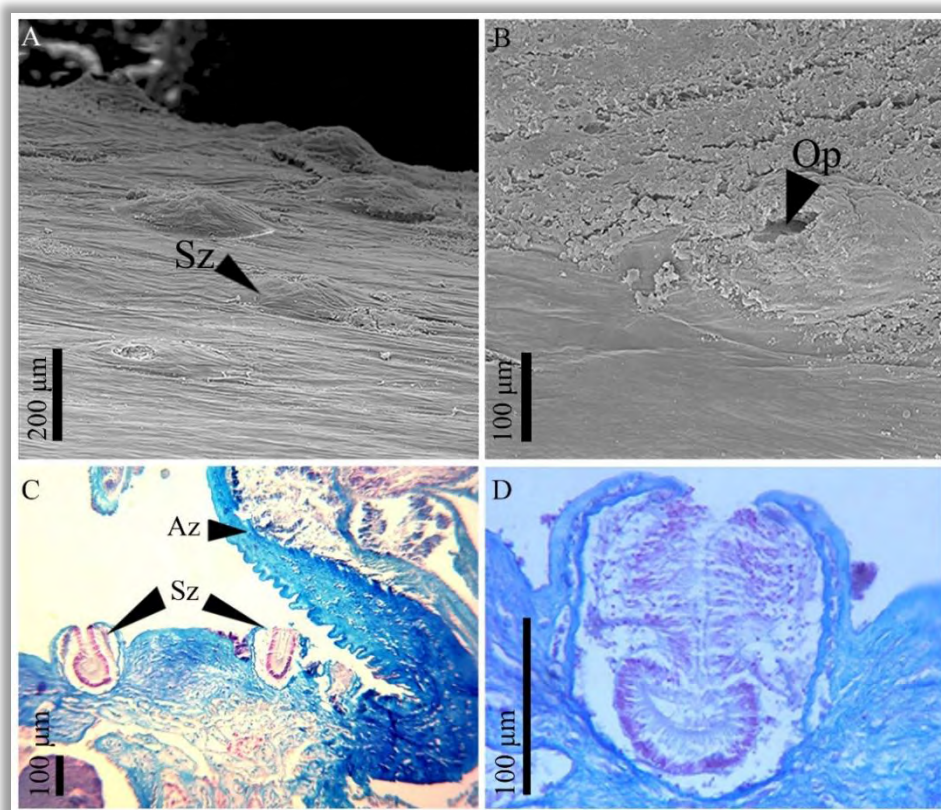


Figura 5.4. Sifonozooides de las colonias de *Anthoptilum murrayi*; A-B, imágenes SEM de sifonozooides (Sz) sobre la superficie del raquis, mostrando también la apertura del sifonozoide (Op); C-D, secciones histológicas que muestran sifonozooides (Sz) y parte de un autozoide (Az), D, detalle de un sifonozoide con su sifonoglifo bien desarrollado y ausencia de tentáculos.

Los ovocitos mostraron tres estados de desarrollo caracterizados histológicamente (Figura 5.5): ovocitos previtelogénicos (OI = estado I) que representan el primer estado de desarrollo, mostrando células con un núcleo poco diferenciado y ooplasma de color azul claro; ovocitos vitelogénicos (OII = estado II) reconocidos por su citoplasma basófilo con núcleo excéntrico pálido y nucléolo prominente; y ovocitos maduros (OIII = estado III), llenos de numerosas gotas de yema en el ooplasma, con una capa folicular más aparente de células escamosas o cuboidales, y teñidos de color verdoso.

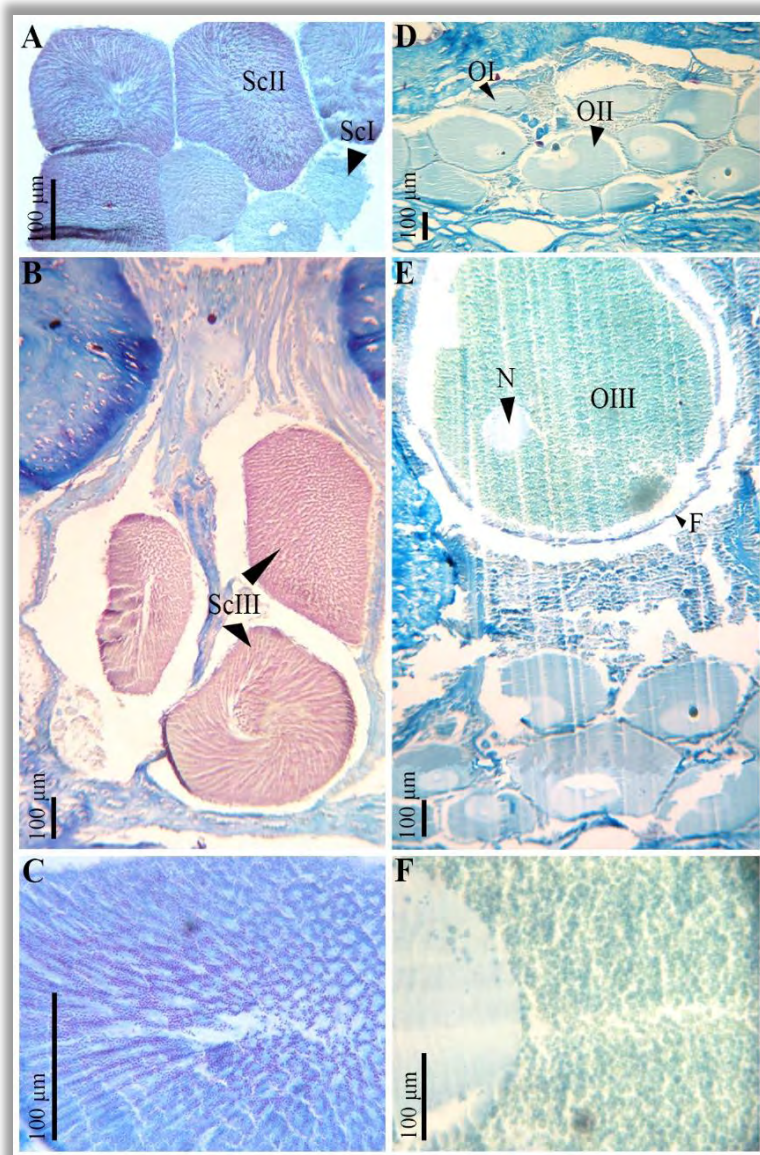


Figura 5.5. Estados de desarrollo de espermatocistos y ovocitos en las colonias de *Antioptilum murrayi*; A, secciones de espermatocistos en estados I (ScI) y II (ScII); B, espermatocistos maduros bien desarrollados en estado III (ScIII); C, detalle de un espermatocisto maduro que muestra las cabezas triangulares de los espermatozoides; D, sección de la porción basal de un autozooide mostrando ovocitos en estado I (OI) y estado II (OII); E, sección que muestra un ovocito vitelogénico bien desarrollado (verdoso); F, detalle del citoplasma con numerosas gotas de vitelo y el núcleo de un ovocito maduro (OIII); N=núcleo, F=capa de células foliculares.

En ciertas secciones histológicas de una supuesta colonia macho con espermatocistos bien desarrollados, se observó un caso tentativo de hermafroditismo, con ovocitos grandes (OII, OIII) compartiendo espacio con espermatocistos (Figura 5.6, ver Discusión).

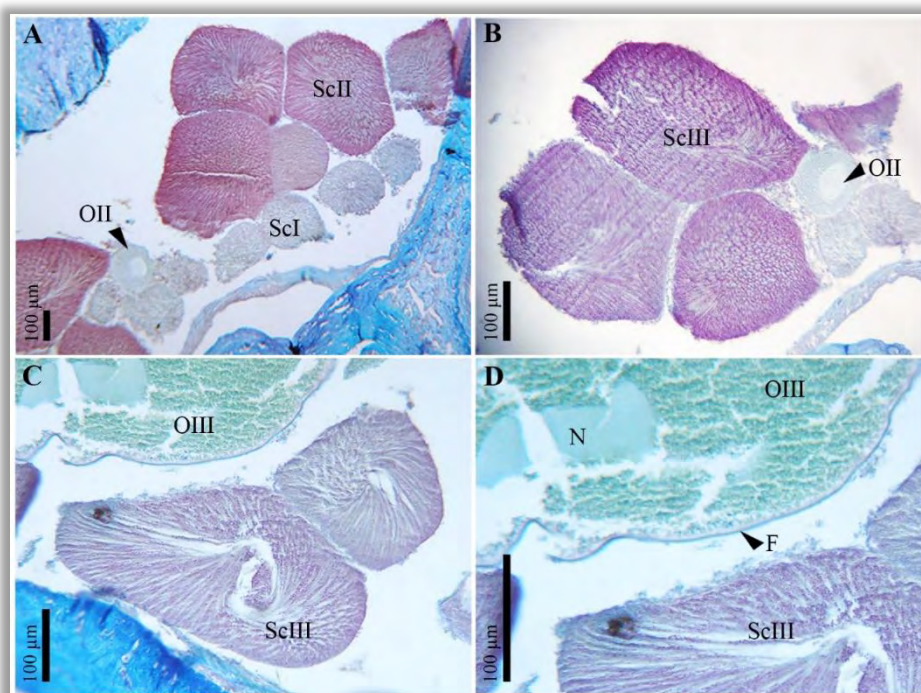


Figura 5.6. Secciones histológicas que muestran un caso tentativo de hermafroditismo en una presunta colonia macho de *Anthoptilum murrayi*. Ver abreviaturas en la anterior Figura 5.5.

Las medidas correspondientes a los tres estados de desarrollo se obtuvieron considerando la tasa de reducción estimada para espermatocistos/ovocitos después del proceso de deshidratación. En las colonias machos: los espermatocistos en el estado I abarcaron 52–270 μm ($\bar{X} \pm \text{SE}$) ($167 \pm 58 \mu\text{m}$), en el estado II 275–530 μm ($417 \pm 68 \mu\text{m}$) y en el estado III 531–711 μm ($574 \pm 37 \mu\text{m}$). En colonias

hembras: los ovocitos en la estado I abarcaron 26–248 μm ($119 \pm 49 \mu\text{m}$), en el estado II 253–675 μm ($324 \pm 88 \mu\text{m}$) y en el estado III 697–1180 μm ($935 \pm 105 \mu\text{m}$) (Tabla S5.3). Se midieron un total de 7.366 espermatozoides: 4.205 en estado I, 2.840 en estado II y 321 en estado III. El espermatozoides más grande tenía 711,33 μm de diámetro. El diámetro medio y el número de espermatozoides por colonia aumentaron desde los machos más pequeños a los más grandes. La zona proximal de las colonias más pequeñas presentó el mayor porcentaje de espermatozoides en estado I (~85 %) y el menor porcentaje en estado III (1,2 %) (Tabla S5.3). En colonias hembras se midieron un total de 7.790 ovocitos: 6.758 en estado I, 919 en estado II y 113 en estado III. El ovocito más grande tenía 1.179,83 μm de diámetro. Las colonias más pequeñas tenían la media más alta de ovocitos en estado I (~99 %) y ninguno en estado III (0 %). Por el contrario, las hembras medianas y grandes presentaron un menor número de ovocitos en el estado I (77 y 76 %, respectivamente) pero el mayor porcentaje de ovocitos en los estados II (~20 %) y III (2-3 %). Dentro de la colonia, la zona proximal nunca tuvo ovocitos en estado III, independientemente del tamaño de la colonia (Tabla S5.3).

5.3.5 Distribución de frecuencias de diámetro

Las distribuciones de frecuencia de diámetro de espermatozoides y ovocitos con respecto al tamaño de la colonia se muestran en la Figura 5.7. Las distribuciones de espermatozoides revelaron la presencia de dos cohortes claramente definidas: el primer grupo formado por una alta frecuencia de espermatozoides pequeños (~100–300 μm , formado principalmente por espermatozoides en estado I); y, el segundo grupo formado por una menor frecuencia de espermatozoides grandes

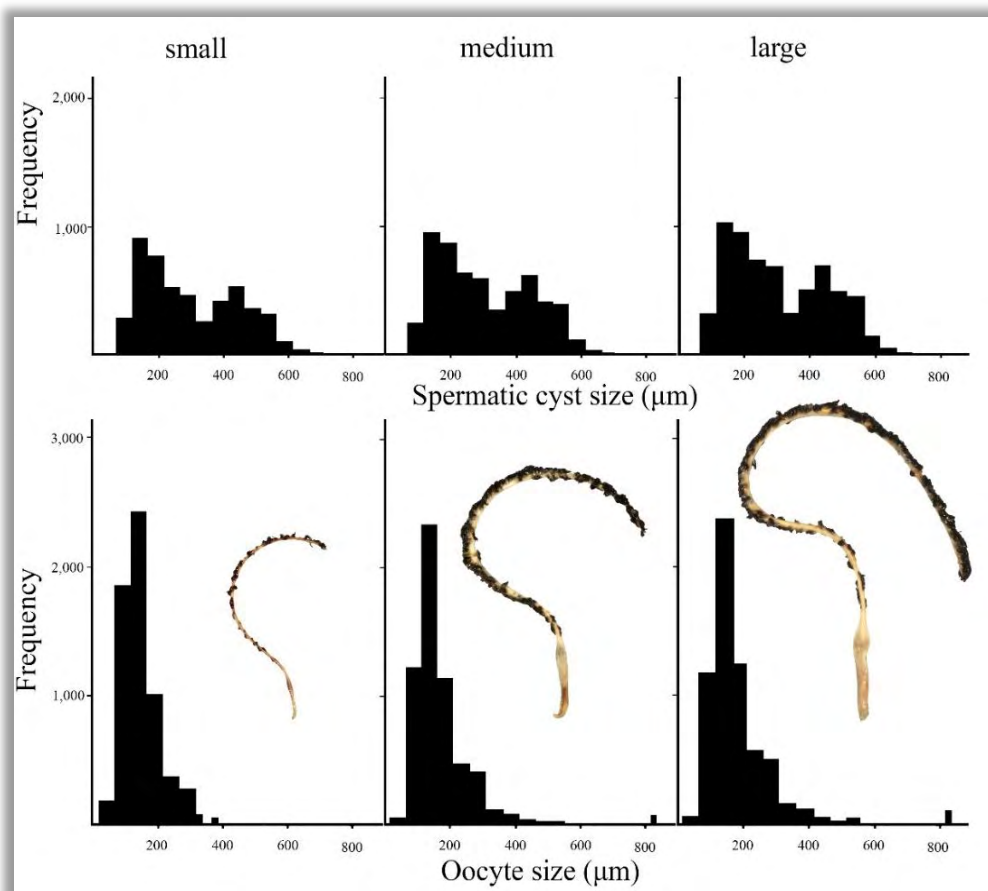


Figura 5.7. Distribuciones de frecuencia de diámetros de espermatocistos y ovocitos en las tres zonas de todas las colonias de *Anthoptilum murrayi* combinadas.

(~300-700 μm , en estados II y III) (Figura 5.7, línea superior). Por otro lado, las distribuciones de ovocitos mostraron una primera reserva pronunciada de ovocitos pequeños (<300 μm , principalmente en estado I), pero solamente las colonias medianas y grandes mostraron una segunda cohorte formada por los ovocitos grandes (>300 μm , en estados II y III), aunque su baja frecuencia dificulta su observación mediante histogramas (Figura 5.7, línea inferior). Sin embargo, el

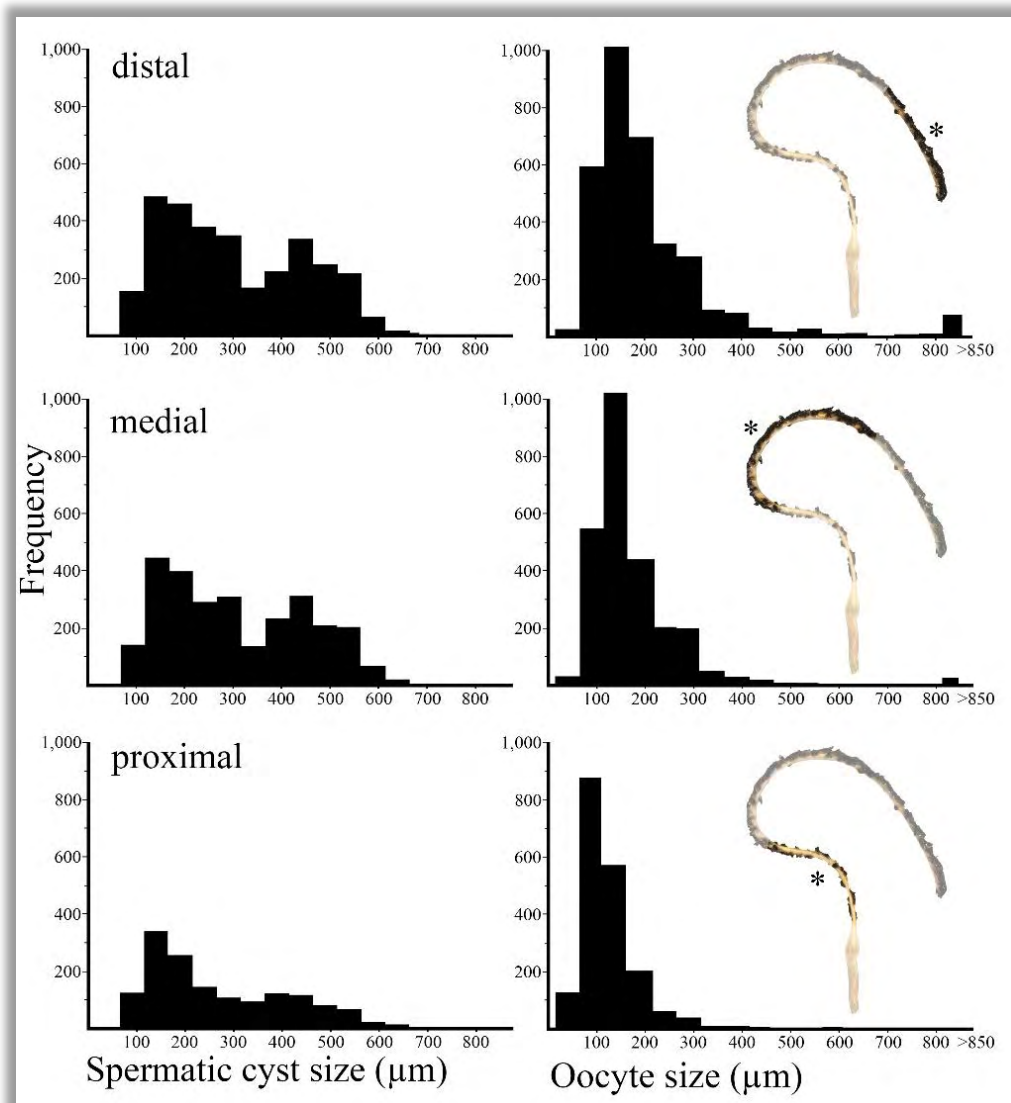


Figura 5.8. Distribuciones de las frecuencias de diámetros de espermatocistos y ovocitos en las tres zonas dentro de las colonias de *Anthoptilum murrayi* combinadas.

análisis de conglomerados con K-medias aplicado a los 7.790 ovocitos diferenció claramente estos dos picos de frecuencia ($K1 = 138,7 \mu\text{m}$ y $K2 = 724,1 \mu\text{m}$; $F_{1,7744} = 11079,019$, $p < 0,05$), la mayoría de los ovocitos siendo asignados al primero grupo (7.519 ovocitos pequeños) y el resto asignado al segundo grupo (227 ovocitos grandes) (*post hoc* Tukey Ba).

Las distribuciones de las frecuencias de diámetros por zona dentro de las colonias de *A. murrayi* se muestran en la Figura 5.8. La distribución de frecuencia bimodal de los ovocitos fue más pronunciada en la zona distal. A pesar de ello, se puede apreciar una notable sincronía entre pólipos de diferentes zonas dentro de una misma colonia.

5.3.6 Estimaciones del esfuerzo reproductivo

El valor promedio de la fecundidad relativa potencial (FRP) fue de 21 ± 7 , 29 ± 14 y 32 ± 11 espermatocistos por pólipo, y de 45 ± 19 , 20 ± 10 y 21 ± 13 ovocitos por pólipo para las colonias pequeñas, medianas y grandes de *A. murrayi*, respectivamente (Tabla S5.4). Dentro de la colonia, este PRF también mostró diferencias significativas entre zonas, siendo la zona proximal donde los pólipos mostraron los valores más bajos de PRF (test Welch, Dunnett & Tukey, $F_{8,107} = 32.16$, $p < 0.05$ para machos; $F_{2,261} = 29.29$, $p < 0,05$, para hembras) (Tabla S5.4). En general, los valores promedios de PRF siempre aumentaron desde la zona proximal a la zona distal del raquis, independientemente del tamaño y sexo de la colonia. A nivel de colonia, el esfuerzo reproductivo potencial (PRE) estuvo significativamente influenciado por los factores tamaño y zona ($F_{2,270} = 11.88$, $p < 0.05$; $F_{6,270} = 16.73$, $p < 0.05$, respectivamente), pero no por las dos covariables diámetro y longitud del pólipo. El PRE promedio aumentó desde las colonias pequeñas a las grandes (1.313, 5.312 y 8.421 espermatocistos por colonia; 2.546, 2.947 y 7.367 ovocitos por colonia, para los tamaños pequeño, mediano y grande, respectivamente) (Tabla S5.4). El valor PRE más grande se estimó en 14.394 espermatocistos por colonia y 17.164 ovocitos por colonia.

Atendiendo solo a los ovocitos maduros, la fecundidad relativa efectiva (ERF) media fue de 1, 6 y 5 ovocitos grandes por pólipo para las colonias pequeñas, medianas y grandes, respectivamente (Tabla S5.5). Los pólipos de la zona proximal en colonias pequeñas y medianas no presentaron ovocitos grandes (ERF = 0), mientras que los pólipos ubicados en la zona distal de las hembras medianas y

grandes presentaron los valores más altos de ERF (ERF entre 7 y 12) (Tabla S5.5). A nivel de colonia (o zona), el esfuerzo reproductivo efectivo (ERE) aumentó desde las colonias hembras más pequeñas a las más grandes (33, 870 y 2.023 ovocitos grandes por colonia para los tamaños pequeño, mediano y grande, respectivamente) (Tabla S5.5). Dentro de una colonia hembra, los valores más altos de ERE siempre se encontraron en la zona distal del raquis.

Comparando entre los valores promedios de PRE y ERE podemos inferir un porcentaje putativo de emisión de ovocitos, siendo este 1,30 %, 30 % y 27 % para las colonias hembras pequeñas, medianas y grandes, respectivamente (Tabla S5.5). Esto significa que aunque una colonia grande de *A. murrayi* pueda ofrecer un valor PRE medio de >7.000 ovocitos, sólo entorno al 27 % (~2.000 ovocitos) se liberará en esa temporada. En las colonias medianas este valor sería de alrededor del 30% (~900 ovocitos), y solo alrededor del 1% (~33 ovocitos) en las colonias más pequeñas de *A. murrayi*.

5.4 Discusión

A pesar de que un programa de muestreo anual no fue factible desde un punto de vista logístico para este estudio, siendo esto especialmente difícil cuando se estudian especies bentónicas de aguas profundas (>1.000 m de profundidad), la información relevante de una única o un número limitado de muestras de poblaciones de plumas de mar puede contribuir a mejorar nuestro conocimiento actual de la biología reproductiva de estas especies (ver Chia & Crawford 1973, Eckelbarger *et al.* 1998).

Las características biológicas de la mayoría de los pennatuláceos siguen siendo poco conocidas, a pesar de las contribuciones recientes (Murillo *et al.* 2018, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021), debido a las dificultades de acceso a estos ambientes marinos profundos, que requieren una alta inversión económica y científica, tales como el programa BIOICE presentado aquí.

5.4.1 Longevidad y tasas de crecimiento

La mayoría de los pennatuláceos tienen una estructura esquelética formada por un barra axial interior no ramificada compuesta de fibrillas de colágeno embebidas en calcita magnesiana (Tixier-Durivault 1965, Williams 1995, Neves *et al.* 2018a). El núcleo central del eje se forma durante el primer año (Birkeland 1974) y los anillos de crecimiento subsecuentes se depositan anualmente alrededor de este núcleo, formados por una banda translúcida y otra opaca, reflejando el aporte orgánico estacional sobre el bentos de aguas profundas (Birkeland 1974, Grigg 1974, Wilson *et al.* 2002, Sánchez *et al.* 2004).

Al igual que con otros octocorales (Marschal *et al.* 2004, Sánchez *et al.* 2004, Sherwood *et al.* 2005, Tracey *et al.* 2007), en las especies de pennatuláceos (Birkeland 1974, Wilson *et al.* 2002, Neves *et al.* 2015, Murillo *et al.* 2018, entre otros) el eje de *Anthoptilum murrayi* contiene anillos de crecimiento bien definidos. La anchura media de estos anillos de crecimiento en *A. murrayi* fue casi constante, ~0,064 mm, similar a esa observada en *Ptilosarcus gurneyi* (~0,1 mm, Birkeland 1974) y *Balticina willemoesi* (~0,072 mm, Wilson *et al.* 2002). Estos anillos de crecimiento revelaron que la edad de nuestras colonias de *A. murrayi* oscilaba entre los 5 y los 21 años, un dato relevante dado el tamaño relativamente pequeño de sus colonias adultas (< 35 cm).

La tasa media de crecimiento diametral (DGR) es generalmente baja en las gorgonias octocorales (por ejemplo, *Corallium rubrum* 0,35 mm año⁻¹ en Marschal *et al.* 2004; *Lepidisis* spp. y *Keratoisis* sp. 0,18 mm año⁻¹ en Tracey *et al.* 2007; *Primnoa resedaeformis* y *Paramuricea* spp. 0,08-0,21 mm año⁻¹ en Sherwood & Edinger 2009; entre muchos otros), y las plumas de mar (por ejemplo, 0,14 y 0,13 mm año⁻¹ para *B. willemoesi* y *B. finmarchica*, véase Wilson *et al.* 2002 y Neves *et al.* 2015, respectivamente). La DGR media de *A. murrayi* fue mayor en las colonias más pequeñas que en las más grandes (0,17 mm año⁻¹ y 0,10 mm año⁻¹, respectivamente).

La tasa media de crecimiento longitudinal (LGR) también es generalmente baja en las gorgonias octocorales (por ejemplo, *P. resedaeformis* ~10-26 mm año⁻¹ véase Andrews *et al.* 2002; *Melithaea flabellifera* 02,9–11,4 mm año⁻¹ véase Matsumoto 2004, *Paramuricea* spp. 5,6 mm año⁻¹ véase Sherwood & Edinger 2009), aunque en pennatuláceos este valor de LGR es ligeramente superior (por ejemplo, ~15 mm año⁻¹ en *Pennatula aculeata*, véase Murillo *et al.* 2018; ~61 mm año⁻¹ en *B. willemoesi*, véase Wilson *et al.* 2002, o ~17-21 mm año⁻¹ en *A. murrayi*, este estudio).

Si se proporciona un valor único de LGR para una especie (o individuo) determinada (por ejemplo, 17 mm año⁻¹ en *A. murrayi*), una falsa impresión de una tasa de crecimiento constante podría ser interpretada, y las diferencias en las velocidades de crecimiento a lo largo de la vida del individuo no serían detectadas usando este método. En el presente estudio, cuando se utilizan comparaciones de tasas de crecimiento entre-tamaños, se revelan efectivamente diferentes velocidades. En este sentido, el incremento en la tasa de crecimiento desde las colonias **pequeñas a las medianas (representado como Δ LGRs-m)** de *A. murrayi* fue **mayor que el de las colonias medianas a las grandes (Δ LGRm-l)** (24,9 y 10,2 mm año⁻¹, respectivamente). Este patrón estuvo en concordancia con los intervalos de crecimiento descritos para *B. willemoesi* (74,2 y 16,8 mm año⁻¹, respectivamente, véase Wilson *et al.* 2002). En otras especies de pennatuláceos el crecimiento inicial es lento, seguido por una tasa más rápida que finalmente disminuye hacia una hipotética tasa de crecimiento asintótica. Esto fue sugerido para *B. willemoesi* por Wilson *et al.* (2002: Tabla 1), para *Anthoptilum grandiflorum* por Murillo *et al.* (2018: fig. 7a), y otros octocorales gorgonias (Velimirov 1975, Cordes *et al.* 2001).

Teniendo en cuenta esta tasa de crecimiento no-continua, el modelo predictivo propuesto aquí pretende ser una herramienta útil para inferir la edad de las colonias individuales de *A. murrayi*, lo cual es especialmente importante en estudios de monitoreo no destructivos, en los que las clases de tamaño de una po-

blación dada de *A. murrayi* obtenidas mediante ROV podrían ser fácilmente traducidas a clases de edad. Por ejemplo, el espécimen mostrado por Pires *et al.* (2009: fig. 1) de ~55 cm de longitud del raquis podría datarse en ~37 años utilizando nuestro modelo. Obviamente, este es solo un enfoque, y las correcciones locales o regionales según las características tróficas del medio podrían afectar a los resultados finales. Sin embargo, este siempre será un mejor procedimiento que obtener esta información como resultado de la extracción y muerte de parte de una población en peligro de extinción (Neves *et al.* 2018b).

5.4.2 Biología reproductiva

Se sabe que la mayor tasa de fertilización se presenta en poblaciones con colonias de ambos sexos (Coffroth & Lasker 1998, Simpson 2009) y con una sex-ratio cercana a 1:1 (Coma *et al.* 1995a, b). El pennatuláceo de aguas profundas *Anthoptilum murrayi* mostró gonocorismo e igualdad en la proporción de sexos, al igual que la mayoría de las especies de pennatuláceos estudiados (Rice *et al.* 1992, Edwards & Moore 2008, Pires *et al.* 2009, Baillon *et al.* 2014, 2015, presente estudio). Sin embargo, se observó un caso tentativo de hermafroditismo en una supuesta colonia macho, donde varios ovocitos coexistían con espermatozoides dentro del mismo pólipo. Un caso similar ocurrió en *A. grandiflorum*, donde se observó una colonia hermafrodita (Baillon *et al.* 2014).

Diámetro de ovocitos

Tradicionalmente, el tamaño del ovocito más grande proporciona una buena indicación de madurez (Benayahu & Loya 1983, Eckelbarger 1994), reflejando el hecho de que están maduros y que el desove es inminente (Benayahu & Loya 1984, 1986). Aquí, las secciones histológicas mostraron tamaños de ovocitos grandes (~1.200 μm), de dimensiones similares a las encontradas por Pires *et al.* (2009) cuando el evento de desove estaba cerca (ver Tabla 5.2). Estos ovocitos grandes

serían un objetivo más fácil para los espermatozoides, aumentando la probabilidad de fecundación y pareciendo ser indicativos de un modo de desarrollo larvario lecitotrófico (Chia & Crawford 1973, Levitan 1993, 1996), pero también pueden necesitar largos períodos de desarrollo (ver Orejas *et al.* 2002, Couillard *et al.* 2021, entre otros). Estos períodos prolongados de desarrollo pueden incluso extenderse durante dos años, compartiendo el espacio gastrovascular disponible con los ovocitos recién formados constituyentes de la próxima generación (Baillon *et al.* 2015, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021). Estos diferentes estados de desarrollo se observaron en Pires *et al.* (2009: Fig. 3b) y el presente estudio (Fig. 5.5A). Sin embargo, y de acuerdo con los estudios reproductivos publicados más recientemente en pennatuláceos (por ejemplo, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021), este escenario de cohortes superpuestas no implica necesariamente una actividad reproductiva continua, como propusieron Pires *et al.* (2009: 106). En este sentido, la existencia de una distribución bi- (o tri-) modal de tamaños de ovocitos (la primera cohorte, con un mayor número de ovocitos jóvenes, cuya producción se supone prácticamente continua; y la segunda, con una menor frecuencia de ovocitos maduros avanzados, probablemente formados en el año anterior y cuya liberación puede ser inminente) dentro del mismo pólipo es consistente con un ovocito de madurez prolongada dentro de un ciclo reproductivo estacional (Baillon *et al.* 2014, Hamel *et al.* 2020, Couillard *et al.* 2021). En nuestro estudio, las colonias de *Anthoptilum murrayi* mostraron esta distribución bimodal de ovocitos, y por tanto la idea de un ciclo reproductivo (desove) estacional en esta especie no debería ser aún descartada. Sin embargo, y de acuerdo con Pires *et al.* (2009), la falta de un programa de muestreo estacional adecuado para la mayoría de los organismos bentónicos de aguas profundas, como *A. murrayi*, donde las limitaciones logísticas determinan la calidad de la información reproductiva, deja abierta esta cuestión.

La capacidad reproductiva de una determinada especie de pennatuláceo puede abordarse desde dos perspectivas: a nivel de pólipo (PRF y ERF) y a nivel

de zona y colonia (PRE y ERE) (Baillon *et al.* 2015, Hamel *et al.* 2020). Sin embargo, como se vio anteriormente, los conceptos ambiguos PRF y PRE, basados en la combinación de ovocitos de diferentes cohortes, podrían estar ofreciendo un esfuerzo reproductivo sobreestimado. A pesar de ello, estos conceptos pueden seguir siendo útiles a efectos comparativos, como ocurrió en estudios previos donde estas cohortes no siempre fueron segregadas. El PRF conocido de *Anthoptilum murrayi* (<90 ovocitos por pólipo, Pires *et al.* 2009) fue similar al mostrado por las otras especies congénéricas estudiadas, como *A. grandiflorum* (PRF = 60,6, Baillon *et al.* 2014), pero ligeramente superior al mostrado en nuestra población (PRF = 29) y en otros pennatuláceos, tales como *Renilla koellikeri* (PRF = 7–8, Tremblay *et al.* 2004) o *B. finmarchica* (PRF = 3–14, Baillon *et al.* 2015). A nivel de colonia, el PRE medio en nuestro material estudiado (como aproximación de lo que ocurre en la población original) fue de 7.367 ovocitos por colonia, valor inferior al mostrado por Pires *et al.* (2009) (31.465 ovocitos por colonia), y mucho menor que en otras especies de pennatuláceos, como *P. phosphorea* (53.354 ovocitos) o *V. juncea* (87.000 ovocitos) (Tabla 5.2).

Por otro lado, ERF y ERE, que se basan solo en los ovocitos grandes, ofrecen estimaciones reproductivas más confiables (ver Mercier & Hamel 2011, Baillon *et al.* 2015, Servetto & Sahade 2016). Sin embargo, estos conceptos requieren la cuantificación del contenido sexual de cada cavidad gastrovascular de forma individual, y esta tarea en pennatuláceos con hojas polipíferas puede implicar un gran esfuerzo incluso en aquellas especies con hojas polipíferas delicadas o translúcidas (ver *Scytalium herklotsi* en López-González 2021: figs. 2), y se vuelve inviable en géneros como *Pteroeides* con diferentes filas de cavidades gastrovasculares embebidas en hojas polipíferas gruesas y carnosas (observ. pers.). Como resultado, estos valores son escasos en la literatura, lo que dificulta futuras comparaciones entre especies de pennatuláceos que utilizan este esfuerzo reproductivo efectivo. En el presente estudio, el ERF de *A. murrayi* (con autozoides no dispuestos en hojas polipíferas) osciló entre 1 y 6 ovocitos grandes por pólipo, un

rango similar al de otros pennatuláceos, como *A. grandiflorum* (ERF = 13) o *B. finmarchica* (ERF = 6) (Baillon *et al.* 2014, 2015). A nivel de colonia, el ERE de *A. murrayi* osciló entre 33 y 2.023 ovocitos grandes por colonia, valor muy inferior al mostrado por otros pennatuláceos, como *A. grandiflorum* (998-4.331 ovocitos grandes, Baillon *et al.* 2014) o *P. phosphorea* (3.000-8.000 ovocitos grandes, Edwards & Moore 2008).

Aunque considerando estos valores como estimaciones reproductivas robustas, es necesario tener en cuenta la variación intracolonia que se ha observado en estudios previos en algunas especies de octocorales (ver Coma *et al.* 1995a,b,

Tabla 5.2. Estudios reproductivos en Pennatulacea. PRE = esfuerzo reproductivo potencial (ovocitos colonia⁻¹); ERE = esfuerzo reproductivo efectivo (ovocitos grandes colonia⁻¹). Los ovocitos grandes incluyen los estados de desarrollo II y III.

Species	Max length colony (mm)	Max oocyte Diameter (µm)	PRE	ERE	Reference
<i>Prilosarcus gurneyi</i>	500?	600		200,000-210,000	Chia and Crawford 1973
<i>Kophobelemnon stelliferum</i>	250	800			Rice <i>et al.</i> 1992
<i>Umbellula lindabli</i>	300	800		2,000	Tyler <i>et al.</i> 1995
<i>Pennatula aculeata</i>	235	880			Eckelbarger <i>et al.</i> 1998
<i>Pterocides sp.</i>	190	550		36,334	Duncan 1998
<i>Renilla koellikeri</i>		400	1,400		Tremblay <i>et al.</i> 2004
<i>Virgularia juncea</i>	800	300	87,000		Soong 2005
<i>Pennatula phosphorea</i>	120	600	53,534	3,000-8,000	Edwards and Moore 2008
<i>Funiculina quadrangularis</i>	2 000	900			Edwards and Moore 2009
<i>Anthoptilum murrayi</i>	580	1,200	35,918		Pires <i>et al.</i> 2009
	333	1,179	7,367	2,023	This study
<i>Veretillum cynomorium</i>	<400	967			Lopes <i>et al.</i> 2012
<i>Malacobelemnon daytoni</i>	110	350		745	Servetto <i>et al.</i> 2013
<i>Anthoptilum grandiflorum</i>	700	1,100		4,331	Baillon <i>et al.</i> 2014
<i>Balticina finmarchica</i>	1,486	1,000		6,300	Baillon <i>et al.</i> 2015
<i>Umbellula encrinus</i>	1,240	950		6,460	Hamel <i>et al.</i> 2020
<i>Pennatula aculeata</i>	169	740			Couillard <i>et al.</i> 2021

Brito *et al.* 1997, Orejas *et al.* 2002, 2007; entre otros), en los que se ha documentado ampliamente la contribución reproductiva diferencial entre los pólipos según su ubicación dentro de la colonia (Bayer *et al.* 1983, Williams 1995, Tremblay *et al.* 2004, Beazley 2011, Servetto *et al.* 2013). Omitir la consideración de esta posible variación intracolonia podría producir una visión diferente de la capacidad reproductiva de toda la colonia (Lopes *et al.* 2012). En general, los pólipos ubicados en la zona proximal de las colonias hembras de pennatuláceos han mostrado una menor contribución reproductiva (apareciendo a menudo vacíos o conteniendo solo ovocitos inmaduros) que las zonas superiores de la colonia, lo que sugiere una contribución reproductiva gradual desde la zona proximal a las zonas medial-distal (Soong 2005, Edwards & Moore 2009, Baillon *et al.* 2014, 2015, Servetto & Sahade 2016). En el presente estudio, la contribución reproductiva diferencial de las colonias de *A. murrayi* estuvo en concordancia con dicha variación intracolonia.

5.4.3 Relacionando crecimiento y reproducción

Las tres clases de tamaño en *A. murrayi* fueron consistentes con las tres clases de edad, soportadas por la mayoría de las características morfológicas (número y tamaño de los pólipos) y reproductivas (PRF, ERF) analizadas. Es conocido que la inversión reproductiva es alta en octocorales con un período de desarrollo de ovocitos prolongado (Bell 1980). Además, un alto gasto de energía durante un largo período de tiempo podría reflejarse adicionalmente a través de tasas de crecimiento más lentas (Benayahu 1982, 1986). En la misma línea, los estudios de especies de aguas poco profundas han demostrado que las colonias jóvenes a menudo asignan recursos energéticos únicamente al crecimiento somático a expensas de la reproducción hasta que se alcanza un tamaño “umbral” (revisado en Watling *et al.* 2011). Esta relación entre el tamaño de la colonia y el esfuerzo reproductivo, también se correlaciona positivamente en los octocorales de aguas

profundas (Cordes *et al.* 2001, Beazley 2011, Mercier & Hamel 2011), incluidos los pennatuláceos, como se demostró en el presente estudio.

La inversión en reproducción de las colonias de *A. murrayi* estuvo inversamente relacionada con su inversión en crecimiento. En otras palabras, el rápido crecimiento inicial (alta inversión en crecimiento) de las colonias más jóvenes de *A. murrayi* hasta alcanzar un tamaño medio coincide con un bajo esfuerzo reproductivo (baja inversión en reproducción), a diferencia de lo que ocurre con las colonias más grandes y viejas, en las que la inversión en reproducción aumenta al mismo tiempo que disminuye la tasa de crecimiento. En resumen, la longevidad y el lento crecimiento de las colonias de *A. murrayi*, relacionado con el incremento del esfuerzo reproductivo con la edad, hacen de estas plumas de mar una parte vulnerable y relevante de la longeva fauna octocoral de aguas profundas que habita en los fondos blandos

5.5 Agradecimientos

Nos gustaría agradecer a los numerosos colegas que han trabajado en las campañas durante las expediciones de investigación BIOICE de las cuales se obtuvo el material examinado aquí. En estas campañas, nuestro agradecimiento especial se dirige a Gudmundur Gudmundsson, Gudmundur Vidir, Jörundur Svavarsson (programa BIOICE). Los autores también quieren agradecer a Juan M. Muñoz Pichardo (Departamento de Estadística e Investigación Operativa, Universidad de Sevilla) por su valiosa ayuda en los análisis estadísticos utilizando el software SPSS.

5.6 Referencias

- Andrews A.H., Cordes E.E., Mahoney M.M., Munk K., Coale K.H., Cailliet G.M., Heifetz J. 2002. Age, growth and radiometric age validation of a deep-sea, habitat-forming gorgonian (*Primoa resedaeformis*) from the Gulf of Alaska. *Hydrobiologia*. 471(1–3): 101–110.
- Baillon S., Hamel J.-F., Mercier A. 2011. Comparative study of reproductive synchrony at various scales in deep-sea echinoderms. *Deep-Sea Res I*. 58: 260–272.

- Baillon S., Hamel J.-F., Wareham V.E., Mercier A. 2012. Deep cold- water corals as nurseries for fish larvae. *Front Ecol Environ.* 10(7): 351–356.
- Baillon S., Hamel J.-F., Wareham V.E., Mercier A. 2014. Seasonality in reproduction of the deep-water pennatulacean coral *Anthoptilum grandiflorum*. *Mar Biol.* 161(1): 29–43.
- Baillon S., Hamel J.-F., Mercier A. 2015. Protracted oogenesis and annual reproductive periodicity in the deep- sea pennatulacean *Halipterus finmarchica* (Anthozoa, Octocorallia). *Mar Ecol.* 36(4): 1364–1378.
- Bayer F.M., Grasshoff M., Verseveldt J. 1983. Illustrated trilingual glossary of morphological and anatomical terms applied to Octocorallia. Leiden: E.J. Brill/ Dr. Backhuys.
- Beazley L. 2011. Reproductive biology of the deep-water gorgonian coral *Acanella arbuscula* from **the Northwest Atlantic [master's thesis]. Nova Scotia: Dalhousie University Halifax.**
- Bell G. 1980. The costs of reproduction and their consequences. *Am Nat.* 116(1): 45–76.
- Benayahu Y. 1982. Population dynamics of soft corals (Octocorallia, Alcyonacea) at the coral reefs of the Gulf of Eilat [dissertation]. Israel (IL): Tel Aviv University.
- Benayahu Y., Loya Y. 1983. Surface brooding in the Red Sea soft coral *Parerythropodium fulvum fulvum* (Forskal, 1775). *Biol Bull.* 165(2): 353–369.
- Benayahu Y., Loya Y. 1984. Life history studies on the Red Sea soft coral *Xenia macrospiculata* Gohar, 1940. II. Planulae shedding and post larval development. *Biol Bull.* 166(1): 44–53.
- Benayahu Y., Loya Y. 1986. Sexual reproduction of a soft coral: synchronous and brief annual spawning of *Sarcophyton glaucum* (Quoy & Gaimard, 1833). *Biol Bull.* 170(1): 32–42.
- Benayahu Y., Schleyer M.H. 1998. Reproduction in *Anthelia glauca* (Octocorallia: Xeniidae). II. Transmission of algal symbionts during planular brooding. *Mar Biol.* 131(3): 433–442.
- Birkeland C. 1974. Interactions between a sea pen and seven of its predators. *Ecol Monogr.* 44(2): 211–232.
- Brito T.A., Tyler P.A., Clarke A. 1997. Reproductive biology of the Antarctic octocoral *Thouarella variabilis* Wright and Studer 1889. In: den Hartog JC, editor. Proc 6th Int Conf on coelenterate biology. Leiden, pp. 63–69.
- Brooke S., Young C. 2009. In situ measurement of survival and growth of *Lophelia pertusa* in the northern Gulf of Mexico. *Mar Ecol Prog Ser.* 397: 153–161.
- Carney. 2005. In: Gibson RN, editor. Oceanography and marine biology: An annual review. 43: 211–278.
- Chia F.S., Crawford B.J. 1973. Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guernei*. *Mar Biol.* 23: 73–82.
- Chimienti G., Angeletti L., Mastrototaro F. 2018. Withdrawal behaviour of the red sea pen *Pennatula rubra* (Cnidaria: Pennatulacea). *Eur Zool J.* 85(1): 64–70.
- Christopher A.P., Lasker H.R. 2012. Effects of tissue loss, age and size on fecundity in the octocoral *Pseudopterogorgia elisabethae*. *J Exp Mar Biol Ecol.* 434–435: 47–52.
- Clippelle L.H., Buhl-Mortensen P., Buhl-Mortensen L. 2015. Fauna associated with cold water gorgonians and sea pens. *Cont Shelf Res.* 105: 67–78.
- Coffroth M.A., Lasker H.R. 1998. Population structure of a clonal gorgonian coral: the interplay between clonal reproduction and disturbance. *Evolution.* 52(2): 379–393.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Coma R., Ribes M., Zabala M., Gilil J.M. 1995a. Reproduction and cycle of gonadal development in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. Mar Ecol Prog Ser. 117: 173–183.
- Coma R., Zabala M., Gilil J.M. 1995b. Sexual reproductive effort in the Mediterranean gorgonian *Paramuricea clavata*. Mar Ecol Prog Ser Oldendorf. 117(1): 185–192.
- Connor D.W., Allen J.H., Golding N.E.I.L., Lieberknecht L.M., Northen K.O., Reker J.B. 2003. The national marine habitat classification for Britain and Ireland. Joint Nature Conservation Committee, Peterborough.
- Conover W. 1999. Practical Nonparametric Statistics. 3rd ed. Wiley. New York (NY).
- Cordes E.E., Nybakken J.W., VanDykhuisen G. 2001. Reproduction and growth of *Anthomastus ritteri* (Octocorallia: Alcyonacea) from Monterey Bay, California, USA. Mar Biol. 138(3): 491–501.
- Couillard C.M., Sainte-Marie B., Dionne H. 2021. Late maturity and evidence for female biennial spawning in the sea pen *Pennatula aculeata* (Anthozoa, Pennatulacea) in eastern Canada. Invertebr Biol. 140(4): e12351.
- Cryer M., Hartill B., O'Shea S. 2002. **Modification of marine benthos by trawling: Toward a generalization for the deep ocean?** Ecol Appl. 12: 1824–1839.
- Curd A. 2010. Background Document for Sea pen and Burrowing Megafauna Communities. Publication no. 481/ 2010, 26.
- Davies J.S., Guillaumont B., Tempera F., Vertino A., Beuck L., Ólafsdóttir S.H., Smith C., Fossà J.H., Van Den Beld Inge, Savini A., et al. 2017. A new classification scheme of European cold-water coral habitats: implications for ecosystem-based management of the deep sea. Deep-Sea Res Part II. 145: 102–109.
- Duncan J.C. 1998. Biology of the sea pen *Pteroeides* sp. [master's thesis]. Fiordland, New Zealand: University of Otago.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2008. Reproduction in the sea pen *Pennatula phosphorea* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. Mar Biol. 155: 303–314.
- Edwards D.C.B., Moore C.G. 2009. Reproduction in the sea pen *Funiculina quadrangularis* (Anthozoa: Pennatulacea) from the west coast of Scotland. Est Coast Shelf Sci. 82: 161–168.
- Eckelbarger K.J. 1994. Diversity of metazoan ovaries and vitellogenic mechanisms: implications for life history theory. Proc Biol Soc Wash. 107: 193–218.
- Eckelbarger K.J., Watling L. 1995. Role of phylogenetic constraints in determining reproductive patterns in deep-sea invertebrates. Invertebr Biol. 14(3): 256–269.
- Eckelbarger K.J., Tyler P.A., Langton R.W. 1998. Gonadal morphology and gametogenesis in the sea pen *Pennatula aculeata* (Anthozoa: Pennatulacea) from the Gulf of Maine. Mar Biol. 132: 677–690.
- Flint H.C., Waller R.G., Tyler P.A. 2007. Reproductive ecology of *Fungiacyathus marenzelleri* from 4100 m depth in the northeast Pacific Ocean. Mar Biol. 151: 843–849.
- Gabe M. 1968. Technique Histologique. Massou et Cie, Paris (FR).
- García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia, Pennatulacea). Sci Mar. 83(3): 261–276.
- Gass S.E., Roberts J.M. 2006. The occurrence of the coldwater coral *Lophelia pertusa* (Scleractinia) on oil and gas platforms in the North Sea: colony growth, recruitment and environmental controls on distribution. Mar Pollut Bull. 52: 549–559.

5.0 Estudio de reproducción acoplado a crecimiento

- Grigg R.W. 1974. Growth rings: annual periodicity in two gorgonian corals. *Ecology* 55: 876–881.
- Hamel J.-F., Sun Z., Mercier A. 2010. Influence of size and seasonal factors on the growth of the deep-sea coral *Flabellum alabastrum* in mesocosm. *Coral Reefs*. 29(2): 521–525.
- Hamel J.-F., Wareham-Hayes V.E., Mercier A. 2020. Reproduction of a bathyal pennatulacean coral in the Canadian Arctic. *Deep-Sea Res I*. 162: 103321.
- Johansen D.A. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Co. Inc. New York (NY).
- Jones L.A., Hiscock K., Connor D.W. 2000. Marine habitat reviews, a summary of ecological requirements and sensitivity characteristics for the conservation and management of Marine SAC's. **UK Marine SAC's Project Report, Peterborough: Joint Nature Conservation Committee.**
- Jungersen H.F.E. 1904. Pennatulida. Danish Ingolf-Expedition. 5: 1–95.
- Kabacoff R.I. 2011. Generalized linear models. R in Action: Data analysis and graphics with R], Manning publications; p. 313–330.
- Kahng S.E., Benayahu Y., Lasker H.R. 2011. Sexual reproduction in octocorals. *Mar Ecol Prog Ser*. 443: 265–283.
- Kükenthal W. 1915. Pennatularia. *Das Tierreich*. 43:1–132. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the northwestern Pacific Ocean. *Mol Phylogenet Evol*. 131: 233–244.
- Laverick J.H., Andradi-Brown D.A., Rogers A.D. 2017. Using light-dependent scleractinia to define the upper boundary of mesophotic coral ecosystems on the reefs of Utila, Honduras. *PLoS One*. 12(8): e0183075.
- Levitan D.R. 1993. The importance of sperm limitation to the evolution of egg size in marine invertebrates. *Am Nat*. 141: 517–536.
- Levitan D.R. 1996. Predicting optimal and unique egg sizes in free-spawning marine invertebrates. *Am Nat*. 148:174–188.
- Li Y., Zhan Z., Xu K. 2021. Establishment of *Alloptilella splendida* gen. et sp. nov. and resurrection of *Scytalium veneris* (Thomson & Henderson, 1906), two sea pens (Cnidaria: Pennatulacea) from seamounts in the tropical Western Pacific. *J Oceanol Limnol*. 39(5): 1790–1804.
- Lopes V.M., Baptista M., Pimentel M.S., Repolho T., Narciso L., Rosa R. 2012. Reproduction in Octocorallia: synchronous spawning and asynchronous oogenesis in the pennatulid *Veretillum cynomorium*. *Mar Biol Res*. 8(9): 893–900.
- López-González P.J. 2021. *Scytalium herklotsi* sp. nov. (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea), the first Atlantic species in the genus *Scytalium* Herklots, 1858. *Mar Biodivers*. 51(4): 1–16.
- López-González P.J., Gili J.M., Williams G.C. 2000. On some veretillid pennatulaceans from the eastern Atlantic and western Pacific Oceans (Anthozoa: Octocorallia), with a review of the genus *Cavernularia*, and descriptions of new taxa. *J Zool*. 250(2): 201–216.
- López-González P.J., Drewery J. 2022. When distant relatives look too alike: a new family, two new genera and a new species of deep-sea *Umbellula*-like sea pens (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea). *Invertebr Syst*. 36(3):199-225

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Marschal C., Garrabou J., Harmelin J.G., Pichon M. 2004. A new method for measuring growth and age in the precious red coral *Corallium rubrum* (L.). *Coral reefs*. 23(3): 423–432.
- Matsumoto A.K. 2004. Heterogeneous and compensatory growth in *Melithaea flabellifera* (Octocorallia: Melithaeidae) in Japan. *Hydrobiologia*. 530(1–3): 389–397.
- Mercier A., Hamel J.-F. 2011. Contrasting reproductive strategies in three deep-sea octocorals from eastern Canada: *Primnoa resedaeformis*, *Keratoisis ornata*, and *Anthomastus grandiflorus*. *Coral Reefs*. 30: 337–350.
- Mortensen P.B., Buhl-Mortensen L., Gebruk A.V., Krylova E.M. 2008. Occurrence of deep-water corals on the Mid-Atlantic Ridge based on MAR-ECO data. *Deep-Sea Res Part II*. 55(1–2): 142–152.
- Murillo F.J., MacDonald B.W., Kenchington E., Campana S.E., Sainte-Marie B., Sacau M. 2018. Morphometry and growth of sea pen species from dense habitats in the Gulf of St. Lawrence, eastern Canada. *Mar Biol Res*. 14(4): 366–382.
- Neves B.M., Edinger E., Layne G.D., Wareham V.E. 2015. Decadal longevity and slow growth rates in the deep-water sea pen *Halipteris finmarchica* (Sars, 1851) (Octocorallia: Pennatulacea): implications for vulnerability and recovery from anthropogenic disturbance. *Hydrobiologia*. 759(1): 147–170.
- Neves B.M., Edinger E., Hayes V.W. 2018a. Morphology and composition of the internal axis in two morphologically contrasting deep-water sea pens (Cnidaria: Octocorallia). *J Nat Hist*. 52(11–12): 659–685.
- Neves B.M., Edinger E., Hayes V.W., Devine B., Wheeland L., Layne G. 2018b. Size metrics, longevity, and growth rates in *Umbellula encrinus* (Cnidaria: Pennatulacea) from the eastern Canadian Arctic. *Arctic Sci*. 4(4): 722–749.
- Nuridin N., Lanuru M., Akbar A.S. 2019. Accuracy of unsupervised classification to determine coral health using SPOT-6 and Sentinel-2A. *Int Arch Photogramm Remote Sens Spat Inf Sci*. Vol XLII-4/W16, 6th Int Conf on Geomatics and Geospatial Technology.
- Omarsdottir S., Einarsdottir E., Ögmundsdottir H.M., Freysdottir J., Olafsdottir E.S., Molinski T.F., Svavarsson J. 2013. Biodiversity of benthic invertebrates and bioprospecting in Icelandic waters. *Phytochem Rev*. 12(3): 517–529.
- Orejas C., López-González P.J., Gili J.M. Teixidó N., Gutt J., Arntz W.E. 2002. Distribution and reproductive ecology of the Antarctic octocoral *Ainigmaptilon antarcticum* in the Weddell Sea. *Mar Ecol Prog Ser*. 231: 101–114.
- Orejas C., Gili J.M., López-González P.J., Hasemann C., Arntz W.E. 2007. Reproduction patterns of four Antarctic octocorals in the Weddell Sea: an inter-specific, shape, and latitudinal comparison. *Mar Biol*. 150: 551–563.
- Packer D., Dorfman D. 2010. Deep Sea Corals. Chapter 5. In: Menza C, Kinlan BP, Dorfman DS, et al. editors. *A Biogeographic Assessment of Seabirds, Deep Sea Corals and Ocean Habitats of the New York Bight: Science to Support Offshore Spatial Planning*. NOAA Technical Memorandum NOS NCCOS, 141.
- Pantin C.F.A. 1948. *Notes on microscopical techniques for zoologists*. Cambridge (UK): Cambridge University Press.
- Pires D.O., Castro C.B., Silva J.C. 2009. Reproductive biology of the deep-sea pennatulacean *Anthoptilum murrayi* (Cnidaria, Octocorallia). *Mar Ecol Prog Ser*. 397: 103–112.
- Pérez C.D., Cordeiro R.T.S., Williams G.C., Gomes P.B. 2021. Revised nomenclature of the sea pen genus *Balticina* Gray, 1870 (= *Halipteris* Kolliker, 1870) (Anthozoa: Octocorallia). *Zootaxa*. 4966(2): 237–244.

5.0 Estudio de reproducción acoplado a crecimiento

- Ribes M., Coma R., Rossi S., Micheli M. 2007. Cycle of gonadal development in *Eunicella singularis* (Cnidaria: Octocorallia): trends in sexual reproduction in gorgonians. *Invertebr Biol.* 126(4): 307–317.
- Rice A.L., Tyler P.A., Paterson G.J.L. 1992. The pennatulid *Kophobelemnon stelliferum* (Cnidaria: Octocorallia) in the porcupine seabight (north-east Atlantic Ocean). *J Mar Biol Assoc UK.* 72: 417–434.
- Risk M.J., Heikoop J.M., Snow M.G. 2002. Lifespans and growth patterns of two deep-sea corals: *Primnoa resedaeformis* and *Desmophyllum cristagalli*. *Hydrobiologia.* 471: 125–131.
- Roark E.B., Guilderson T.P., Flood-Page S., Dunbar R.B., Ingram B.L., Fallon S.J., McCulloch M. 2005. Radiocarbon- based ages and growth rates of bamboo corals from the Gulf of Alaska. *Geophys Res Lett.* 32: L04606.
- Roberts C.M. 2002. Deep impact: the rising toll of fishing in the deepsea. *Trends Ecol Evol.* 17: 242–245.
- Sánchez J., Tracey D., Neil H., Marriott P. 2004. Coral rings in the deep ocean: using SEM to date New Zealand's bamboo corals. *Water Atmos.* 12(4): 22–23.
- Schneider C.A., Rasband W.S., Eliceiri K.W. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nat Methods.* 9: 671–675.
- Servetto N., Sahade R. 2016. Reproductive seasonality of the Antarctic sea pen *Malacobelemnon daytoni* (Octocorallia, Pennatulacea, Kophobelemnidae). *PLoS one.* 11(10): e0163152.
- Servetto N., Torre L., Sahade R. 2013. **Reproductive biology of the Antarctic “sea pen” *Malacobelemnon daytoni*** (Octocorallia, Pennatulacea, Kophobelemnidae). *Polar Res.* 32(1): 20040.
- Sherwood O.A., Edinger E.N. 2009. Ages and growth rates of some deep-sea gorgonian and antipatharian corals of Newfoundland and Labrador. *Can J Fish Aquat Sci.* 66(1): 142–152.
- Sherwood O.A., Scott D.B., Risk M.J., Guilderson T.P. 2005. Radiocarbon evidence for annual growth rings in the deep-sea octocoral *Primnoa resedaeformis*. *Mar Ecol Prog Ser.* 301: 129–134.
- Sigvaldadóttir E., Helgason G.V., Guomundsson G., Fauchald K. 2000. BIOICE: Benthic invertebrates of Icelandic waters. *Bull Mar Sci Miami.* 67(1): 673–673.
- Simpson A. 2009. Reproduction in octocorals (Subclass Octocorallia): a review of published literature. [accessed 2012 December 12]. <http://www.ucs.louisiana.edu/~scf4101/Bambooweb>.
- Soong K. 2005. Reproduction and colony integration of the sea pen *Virgularia juncea*. *Mar Biol.* 146: 1103–1109.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. *Bull Mus Natl Hist Nat Paris.* (2)37(4): 705–716.
- Tixier-Durivault A., d'Hondt M.J. 1974. Les octocoralliaires de la campagne Biaçores. *Bull Mus Natl Hist Nat Paris.* 3(252): 1361–1433.
- Tracey D.M., Neil H., Marriott P. 2007. Age and growth of two genera of deep-sea bamboo corals (Family Isididae) in New Zealand waters. *Bull Mar Sci.* 81(3): 393–408.
- Tremblay M.-E., Henry J., Anctil M. 2004. Spawning and gamete follicle rupture in the cnidarian *Renilla koellikeri*: effects of putative neurohormones. *Gen Comp Endocrinol.* 137: 9–18.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Tyler P.A., Bronsdon S.K., Young C.M., Rice A.L. 1995. Ecology and gametogenic biology of the genus *Umbellula* (Pennatulacea) in the North Atlantic Ocean. *Int Rev Hydrobiol.* 80(2): 187–199.
- Velimirov B. 1975. Growth and age determination in the sea fan *Eunicella cavolinii*. *Oecologia (Berlin)*. 19: 259–272.
- Watling L., France S.C., Pante E., Simpson A. 2011. Biology of deep-water octocorals. *Adv Mar Biol.* 60: 41–122.
- Williams G.C. 1995. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zool J Linn Soc.* 113: 93–140.
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE.* 6(7): e22747.
- Williams G.C. 2015. A new genus and species of pennatulacean octocoral from equatorial West Africa (Cnidaria, Anthozoa, Virgulariidae). *Zookeys.* 546: 39–50.
- Wilson M.T., Andrews A.H., Brown A.L., Cordes E.E. 2002. Axial rod growth and age estimation of the sea pen, *Halpterus willemoesi* Kölliker. *Hydrobiologia.* 471(1–3): 133–142.
- Wourms J.P. 1987. Oogenesis. In: Giese A.C., Pearse J.S., editors. *Reproduction of marine invertebrates, Vol IX. General aspects: seeking unity in diversity.* Palo Alto (CA): The Boxwood Press, pp. 49–178.
- Zar J.H. 1984. *Biostatistical analysis.* 2nd. United States (US): Prentice Hall USA.

5.7 Material suplementario

Tabla S5.1. Clases de tamaño y número total de pólipos en las colonias de *Anthoptilum murrayi*.

Clase de tamaño	Machos (mm)	Total N pólipos	Hembras (mm)	Total N pólipos
Pequeño	122	75	112	59
	112	58	140	55
	115	52	114	54
Mediano	246	119	225	153
	228	163	212	124
	229	245	222	148
Grande	281	243	296	252
	270	237	333	417
	275	260	307	320

Tabla S5.2. Longitud y diámetro (media \pm SE) de los autozooides en colonias de *Anthoptilum murrayi*. Basado en 10 pólipos por zona.

Clase de tamaño	zone	Machos				Hembras			
		Long. Pólipo (μm)		Diam. Pólipo (μm)		Long. Pólipo (μm)		Diam. Pólipo (μm)	
		\bar{x}	$\pm\text{SE}$	\bar{x}	$\pm\text{SE}$	\bar{x}	$\pm\text{SE}$	\bar{x}	$\pm\text{SE}$
Pequeño	proximal	1,698	456	881	192	1,786	388	912	198
	medial	2,224	554	1,091	202	1,768	345	1,025	103
	distal	1,961	317	1,207	187	1,793	500	1,088	157
	\bar{x}	1,961	497	1,060	235	1,782	412	1,008	172
Mediano	proximal	2,221	532	1,186	219	2,091	517	1,123	184
	medial	2,340	509	1,375	183	2,421	577	1,270	210
	distal	2,312	389	1,354	161	2,895	457	1,400	198
	\bar{x}	2,291	478	1,305	206	2,469	611	1,264	226
Grande	proximal	2,074	440	1,231	200	1,988	529	1,137	232
	medial	2,137	356	1,445	325	2,508	564	1,240	292
	distal	2,432	460	1,386	286	2,762	580	1,195	285
	\bar{x}	2,214	445	1,354	235	2,420	640	1,191	272

Tabla S5.3. Diámetro de las etapas de desarrollo (media \pm SE, máx., mín.) de espermatocistos y ovocitos en colonias de *Anthoptilum murrayi*. Basado en 7366 espermatocistos y 7790 ovocitos (consulte la Figura 5.5 para ver las abreviaturas).

Tamaño	zona	Tamaño espermatocisto (µm)				Estados de desarrollo						total
		\bar{x}	\pm SE	max	mín	ScI	%	ScII	%	ScIII	%	
Pequeño	proximal	173,5	117,9	618,5	51,95	290	84,8%	48	14,0%	4,0	1,2%	342
	medial	276,1	143,0	586,6	51,95	442	57,0%	313	40,4%	20	2,6%	775
	distal	293,9	147,7	687,2	51,95	413	52,9%	337	43,2%	30	3,8%	780
	\bar{x}	247,83	136,19	630,76	51,95	382	64,9%	233	32,5%	18	2,5%	
Mediano	proximal	270,9	137,8	609,1	51,95	300	54,8%	233	42,6%	14	2,6%	547
	medial	306,2	142,1	711,3	51,95	457	47,7%	443	46,2%	58	6,1%	958
	distal	288,2	138,9	605,8	51,95	590	53,5%	476	43,2%	37	3,4%	1.103
	\bar{x}	288,43	139,58	642,10	51,95	449	52,0%	384	44,0%	36	4,0%	
Grande	proximal	279,0	152,1	687,2	51,95	347	59,7%	202	34,8%	32	5,5%	581
	medial	286,3	160,2	670,8	51,95	624	60,2%	352	34,0%	60	5,8%	1.036
	distal	283,3	154,8	711,3	51,95	742	59,6%	436	35,0%	66	5,3%	1.244
	\bar{x}	282,85	155,68	689,78	51,95	571	59,9%	330	34,6%	53	5,5%	
	total					4.205		2.840		321		7.366

Tamaño	zona	Tamaño de ovocito (µm)				Estados de desarrollo						total
		\bar{x}	\pm SE	max	mín	OI	%	OII	%	OIII	%	
Pequeño	proximal	69,24	28,68	181,82	25,97	976	100%	0	0,0%	0	0,0%	976
	medial	99,13	34,50	207,79	25,97	1.145	100%	0	0,0%	0	0,0%	1.145
	distal	125,64	53,83	516,88	25,97	1.920	97,3%	53	2,7%	0	0,0%	1.973
	\bar{x}	98,00	39,00	302,16	25,97	1.347	99,1%	18	0,9%	0	0,0%	
Mediano	proximal	109,65	36,95	207,79	51,95	368	100%	0	0,0%	0	0,0%	368
	medial	179,29	73,41	649,35	51,95	575	80,3%	141	19,7%	0	0,0%	716
	distal	292,07	206,57	1.101,98	51,95	371	51,1%	306	42,1%	49	6,7%	726
	\bar{x}	193,67	106,31	653,04	51,95	438	77,1%	224	20,6%	49	2,2%	
Grande	proximal	161,37	68,04	554,65	51,95	388	88,4%	51	11,6%	0	0,0%	439
	medial	235,58	186,96	1.179,83	51,95	467	68,6%	186	27,3%	28	4,1%	681
	distal	221,92	176,81	1.053,47	51,95	548	71,5%	182	23,8%	36	4,7%	766
	\bar{x}	206,29	143,94	929,32	51,95	468	76,2%	140	20,9%	32	2,9%	
	total					6.758		919		11,0		7.790

5.0 Estudio de reproducción acoplado a crecimiento

Tabla S5.4. Esfuerzo reproductivo potencial en colonias de *Anthoptilum murrayi* (consulte la Figura 5 para ver las abreviaturas).

Machos			PRF				PRE		
Tamaño	zona	N polyps	\bar{x}	\pm SE	max	min	\bar{x}	max	min
Pequeño	basal	20	11	6	29	2	224	580	40
	medial	20	26	7	40	8	517	800	160
	distal	22	26	8	46	6	572	1.012	132
	\bar{x}	20	21	7	38	5	1.313	2.392	332
Mediano	basal	45	18	9	42	3	814	1.890	135
	medial	66	32	17	68	9	2.108	4.420	585
	distal	65	37	15	73	15	2.390	4.745	975
	\bar{x}	59	29	14	61	9	5.312	11.055	1.695
Grande	basal	52	19	6	33	9	1.001	1.716	468
	medial	96	35	15	64	11	3.315	6.144	1.056
	distal	99	41	12	66	25	4.105	6.534	2.475
	\bar{x}	82	32	11	54	15	8.421	14.394	3.999

Hembras			PRF				PRE		
Tamaño	zona	N polyps	\bar{x}	\pm SE	max	min	\bar{x}	max	min
Pequeño	proximal	19	33	23	91	2	618	1.729	38
	medial	18	38	16	75	5	700	1.350	90
	distal	19	66	19	104	10	1.228	1.976	190
	\bar{x}	18	45	19	90	6	2.546	5.055	318
Mediano	proximal	39	12	9	33	4	478	1.287	156
	medial	48	24	12	44	7	1.154	2.112	336
	distal	54	24	9	46	4	1.315	2.484	216
	\bar{x}	42	20	10	41	5	2.947	5.883	708
Grande	proximal	64	15	10	42	2	937	2.688	128
	medial	125	23	13	47	5	2.838	5.875	625
	distal	141	26	15	61	4	3.592	8.601	564
	\bar{x}	107	21	13	50	4	7.367	17.164	1.317

Tabla S5.5. Esfuerzo reproductivo efectivo en colonias hembras de *Anthoptilum murrayi*. ERF (fecundidad relativa efectiva) = número medio de ovocitos grandes por pólipo; ERE (esfuerzo reproductivo efectivo) = ERF x número medio de pólipos; % emisión= (ERE media/ PRE media) x100 (ver también Figura SIV).

Hembras				
Tamaño	zona	ERF (\bar{X})	ERE (\bar{X})	% Emisión
Pequeño	proximal	0	0	
	medial	0	0	
	distal	2	33	
	\bar{X}	1	33	1,30%
Mediano	proximal	0	0	
	medial	5	227	
	distal	12	643	
	\bar{X}	6	870	30%
Grande	proximal	2	109	
	medial	7	892	
	distal	7	1.022	
	\bar{X}	5	2.023	27%

CAPÍTULO SEXTO

6 ESTUDIO BIOGEOGRÁFICO

Biogeographic patterns in sea pens (Octocorallia: Pennatulacea) and some clues about its original bed

Francisco J. García-Cárdenas¹ and Pablo J. López-González¹

¹Biodiversidad y Ecología Acuática. Departamento de Zoología, Facultad de Biología, Universidad de Sevilla, Reina Mercedes 6, 41012 – Sevilla, España

(FJG-C) (corresponding author) E-mail: frangarca@us.es. ORCID-ID: 0000-0002-1503-9552

(PJL-G) E-mail: pjlopez@us.es. ORCID-ID: 0000-0002-7348-6270

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

6.1 Introducción

Las porciones inexploradas de las zonas oceánicas más profundas son tan vastas que la etapa descriptiva de sus faunas, como las constituidas por suspensívoros bentónicos, está lejos de completarse (Fabricius & Alderslade 2001, Emig 2004, UNEP 2006). No obstante, el conocimiento sobre los patrones de distribución de algunas de sus agrupaciones faunísticas es tal que en la actualidad permite intentar esbozar sus afinidades biogeográficas (Soto Ángel & Peña Cantero 2017), lo que constituye un paso más hacia una mejor comprensión de las profundidades marinas.

El patrón de movimiento del agua fría profunda está determinado en gran medida por la topografía del fondo marino (Smith & Sandwell 1997, Gille *et al.* 2004). Las fuerzas de circulación de las corrientes de aguas profundas están impulsadas por diferencias de densidad relacionadas con la temperatura y la salinidad (Rudels & Quadfasel 1991, Rahmstorf 2002, Jungclaus *et al.* 2005). La mayor parte del agua profunda del Atlántico norte proviene originalmente de los mares del norte y fluye hacia el sur (Rudels & Quadfasel 1991, Bersch 1995, Davies *et al.* 2001). Este flujo continuo de norte a sur (como ocurre en el NE Atlántico o NE Pacífico) o *viceversa* (como la corriente de Benguela o la corriente oeste australiana) (Cenedese *et al.* 2021) podría estar detrás de ciertas relaciones entre la fauna de las zonas afectadas por estas corrientes.

En este escenario, sin embargo, el aislamiento topográfico de determinadas áreas marinas como el mar Mediterráneo, derivado del cuello de botella impuesto por el Estrecho de Gibraltar, podría actuar como callejón sin salida de estas grandes corrientes, dando lugar a un cierto aislamiento faunístico (Almaça 1985, Almada *et al.* 2001).

Al igual que ocurre en el mar Mediterráneo, otras áreas marinas aisladas como las regiones ártica y antártica, parcialmente aisladas por la corriente ártica

y la corriente circumpolar antártica o las corrientes de deriva del viento del oeste respectivamente, podrían suponer ciertas islas faunísticas (Cenedese *et al.* 2021). Del mismo modo, grandes áreas oceánicas afectadas por las mismas grandes corrientes como el Indo-Pacífico o las regiones del Atlántico Sur podrían presentar un mayor grado de relación entre las especies que las habitan (Vinogradova 1979, Potts 1983, Bachraty *et al.* 2009).

Teniendo en cuenta estas relaciones físico-biológicas, ciertos estudios basados en afinidades de la fauna fósil han documentado la colonización de los fondos marinos mediterráneos por organismos bentónicos a través del Estrecho de Gibraltar desde aguas profundas del NE Atlántico, apoyando la antigua relación entre estas dos áreas marinas contiguas (Chimienti *et al.* 2019).

En ciertos casos, el estudio de las afinidades faunísticas puede verse condicionado por la consideración de amplios patrones de distribución atribuidos a algunas categorías taxonómicas que a menudo se consideran cosmopolitas (con distribución circunglobal o mundial) (Pérez *et al.* 2016). Sin embargo, se sabe desde hace mucho tiempo que los taxones cosmopolitas a menudo dependen de especies con tal distribución (Darwin 1872). En otras palabras, esta concepción de cosmopolitismo debe ser corregida, desde que las morfoespecies previamente consideradas como cosmopolitas han sido resueltas como especies complejas por estudios moleculares (García-Cárdenas *et al.* 2019, López-González & Drewery 2022). Así, un género cosmopolita debe entenderse por la presencia de especies de ese género en diferentes áreas biogeográficas a nivel mundial, incluyendo en la mayoría de los casos al menos una región polar (Klautau *et al.* 1999, Zeppilli *et al.* 2011).

Una amplia distribución dada (por ejemplo, el cosmopolitismo) podría ser consecuencia de factores físicos resultantes de cambios en las condiciones ambientales pasadas, como los movimientos de los continentes que habilitaron o aislaron ciertos mares y océanos (Valentine & Moores 1972, Barnes *et al.* 2006), o la formación de grandes corrientes profundas (Steele 1962, Hamilton 1990). Pero

también podría verse potenciado por los rasgos biológicos exhibidos por las **propias especies, especialmente aquellos relacionados con la locomoción o “habilidades de movimiento”** (Musgrave 1909, Levin *et al.* 1994, Davies *et al.* 2001). A pesar de ello, la amplia distribución atribuida a determinadas especies o géneros podría ser, por otra parte, un artefacto resultante de identificaciones erróneas, incluyendo dentro de un mismo taxón organismos morfológicamente similares pero filogenéticamente diferentes. Estos casos son más frecuentes que los registrados en la literatura especializada y en las últimas décadas se han incrementado tras la incorporación de los análisis filogenéticos moleculares (García-Cárdenas *et al.* 2019, López-González & Drewery 2022).

Por el contrario, una distribución restrictiva (por ejemplo, un endemismo) puede ser el reflejo de una adaptación puntual, una reducción drástica de las poblaciones (especies relictas) o un esfuerzo de muestreo sesgado (Leão & Kikuchi 2005, Pérez *et al.* 2016). En la fauna octocoral, varias áreas puntuales presentaron un alto nivel de endemismos como el Ártico, la Antártida, Sudáfrica, Brasil o el Golfo de México (Pérez *et al.* 2016).

Entre los octocorales, se ha considerado que los pennatuláceos (Octocorallia: Pennatulacea) incluyen principalmente especies cosmopolitas (Pérez *et al.* 2016), quizás porque se distribuyen en todos los mares y océanos del mundo, desde aguas poco profundas hasta cerca de los 6.100 m de profundidad (Williams 1990, 2011). Entre las plumas de mar, los géneros más conocidos son actualmente considerados con una distribución circunglobal o mundial, tales como *Anthoptilum*, *Distichoptilum*, *Funiculina*, *Balticina*, *Kophobelemnon*, *Pennatula*, *Umbellula* o *Virgularia* (Williams 2011).

Actualmente, el Orden Pennatulacea contiene más de 200 especies consideradas válidas, distribuidas en 41 géneros y 16 familias (Williams 2015, 2017, García-Cárdenas *et al.* 2019, López-González & Drewery 2022, López-González,

com. per.). Las especies de pennatuláceos han colonizado muchos ambientes marinos bentónicos (como arenas intermareales, fondos lodosos o áreas arenosas), y presentan un pedúnculo musculoso exclusivo para anclarse en estos sedimentos blandos. Una de las características de tener este pedúnculo es el establecimiento de una unión laxa con el sustrato, dando como resultado que estas colonias puedan desprenderse y quedar a la deriva por un tiempo (pudiendo ser arrastradas por las corrientes). Este rasgo biológico no común, nunca observado en otros corales, junto con la producción de larvas lecitotróficas capaces de sobrevivir hasta 30 días y viajar largas distancias ayudados por los sistemas de corrientes dominantes (Chia & Crawford 1973, Tyler *et al.* 1995) puede considerarse competencias **biológicas (o “habilidades de movimiento de la especie”)** que podrían ser favorables a extender la distribución biogeográfica de estas especies. Además de estos rasgos biológicos, un análisis del tiempo de divergencia publicado recientemente sugirió que, a pesar de que los pennatuláceos son uno de los grupos octocorales más especializados, tienen un origen antiguo cercano del Cretácico Inferior, hace ~144 Ma (García-Cárdenas *et al.* 2020, Goedert *et al.* 2022). Este período de existencia (junto con las "habilidades de movimiento" expuestas anteriormente) podría interpretarse como un período de tiempo suficientemente largo para lograr una diversificación grande/extensa que incluye grandes patrones de distribución biogeográfica. Como sugirió Williams (2011), el potencial de dispersión es indudablemente de fundamental importancia con respecto a los patrones de rangos geográficos restringidos *versus* extensos.

A pesar de que los pennatuláceos son ampliamente conocidos (Ellis 1764, Kölliker 1870, Kükenthal 1915), pocas contribuciones se han ocupado de sus patrones biogeográficos alrededor del mundo, destacando el intento previo de comprender la distribución geográfica de las plumas de mar realizado por Williams (1992, 1995) o aportes biogeográficos localizados (Murillo *et al.* 2016, Ruiz-Pico *et al.* 2017, Bastari *et al.* 2018). En la última década, Williams (2011) ofreció una visión global de la diversidad y distribución del Orden Pennatulacea, resumiendo el conocimiento surgido en décadas pasadas.

La arquitectura colonial y el tipo de anclaje al sustrato hacen que los pennatuláceos se vean directamente afectados por las corrientes oceánicas profundas (Williams 2011). Como resultado, asociar las competencias de dispersión de estas especies con la naturaleza del cambio ambiental (como las corrientes) podría proporcionar información interesante sobre la distribución de estas comunidades bentónicas.

El objetivo del presente estudio es ofrecer (1) una distribución biogeográfica global del Orden Pennatulacea en la actualidad, incluyendo los géneros y especies descritos más recientemente; (2) intentar explorar la composición faunística de los pennatuláceos entre diferentes ecorregiones a lo largo de los océanos del mundo, y (3) identificar áreas de puntos calientes de diversidad. Finalmente, se realizarán algunas observaciones sobre el antiguo y discutido lecho original hipotético de corrales marinos.

6.2 Materiales y métodos

Una revisión exhaustiva de la literatura sobre los registros de las especies de pennatuláceos consideradas válidas a nivel mundial (incluidas las descripciones originales y otros documentos que proporcionaron revisiones taxonómicas útiles, comentarios e información adicional sobre la distribución de la especie, así como bases de datos como el portal WoRMS www.marinespecies.org) se ha llevado a cabo con el objetivo de crear una matriz completa de datos de presencia/ausencia de especies de plumas de mar utilizando ecorregiones de todo el mundo (ver más abajo).

Los criterios empleados para la elaboración de esta matriz pretenden minimizar el sesgo inherente a la comparación de resultados de diferentes fuentes (Carver 1991). Excluimos de la matriz todos los materiales no identificados a nivel de especie, así como aquellos referentes a identificaciones dudosas o especímenes

tentativamente asignados a una especie sin fuerte confianza por parte del autor (ver Discusión). Además, actualizamos la información de distribución de cada taxón con base a los hallazgos más recientes (por ejemplo, Li *et al.* 2021, López-González & Drewery 2022).

6.2.1 Ecoregiones y zonación batimétrica

La delimitación de las ecoregiones se basó principalmente en la propuesta proporcionada por Spalding *et al.* (2007), como Ecoregiones Marinas del Mundo con algunas modificaciones (Figura 6.1): el área correspondiente al Atlántico Norte se subdividió en regiones occidental, oriental, templada y tropical para reflejar más claramente el grado de relación o aislamiento, ya que es una de las zonas más estudiadas desde el siglo XVIII. Por lo tanto, principalmente según Spalding *et al.* (2007), se consideraron las siguientes dieciséis ecoregiones (Fig. 6.1): AR, región ártica; NES, mares del norte de Europa; LU, lusitania; ME, Mar Mediterráneo (incluido el Mar Negro); NWA, Atlántico Noroccidental (incluido el Atlántico Noroccidental templado frío y cálido); NP, Pacífico norte templado (incluido el Pacífico nororiental y noroccidental templado, frío y cálido); TWA, Atlántico occidental tropical (incluido el Atlántico noroccidental tropical y la plataforma del norte de Brasil); TEA, Atlántico Oriental Tropical; TSAM, América del Sur Templada; TEP, Pacífico Oriental Tropical; EIP, Indo-Pacífico Oriental; TSA, África Meridional Templada; WIP, Indo-Pacífico Occidental; CIP, Indo-Pacífico Central; TA, Australasia Templada; y SO, Océano Austral (incluida la región antártica).

Para las comparaciones batimétricas entre y dentro de cada ecoregión, se consideraron los siguientes límites batimétricos, siguiendo la bien definida anomalía de gravedad 'efecto de borde' inmediatamente hacia el mar a 200 m de profundidad y el 'alto exterior' coincidente con la profundidad de 3.000 m, descrita en los estudios sobre demarcaciones de márgenes continentales (ver Hansen 1975, Sibuet 1979, Billett 1991, Emig 2004, Pavel *et al.* 2013, entre otros). Estas zonas batimétricas fueron 0-200 m (plataforma, S), 200-3.000 m (batial, B) y 3.000-

6.000 m (abisal, A). También se exploraron comparaciones adicionales según el número de especies de cada zonación batimétrica.

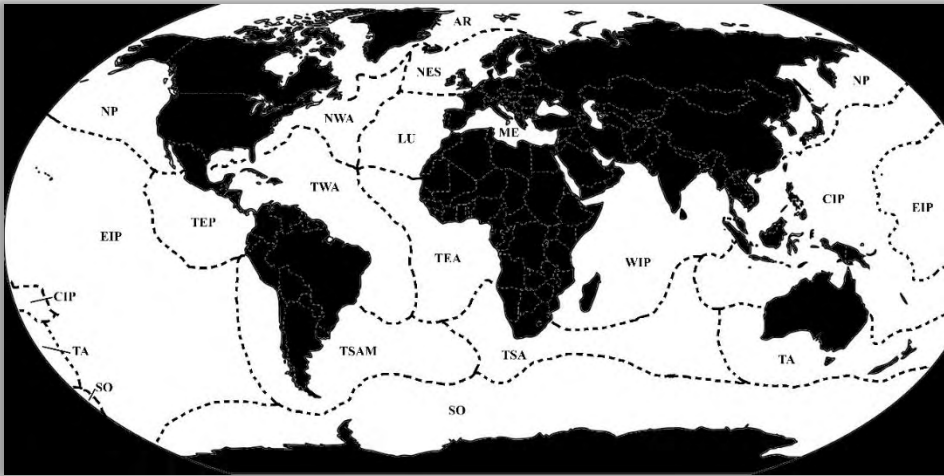


Figura 6.1. Ecorregiones biogeográficas consideradas en este estudio: AR, región ártica; NES, mares del norte de Europa; LU, lusitania; ME, Mar Mediterráneo (incluido el Mar Negro); NWA, Atlántico Noroccidental (incluido el Atlántico Noroccidental templado frío y cálido); NP, Pacífico norte templado (incluido el Pacífico nororiental y noroccidental templado, frío y cálido); TWA, Atlántico occidental tropical (incluido el Atlántico noroccidental tropical y la plataforma del norte de Brasil); TEA, Atlántico Oriental Tropical; TSAM, América del Sur Templada; TEP, Pacífico Oriental Tropical; EIP, Indo-Pacífico Oriental; TSA, África Meridional Templada; WIP, Indo-Pacífico Occidental; CIP, Indo-Pacífico Central; TA, Australasia Templada; y SO, Océano Austral (incluida la región antártica). Las líneas discontinuas negras representan los límites teóricos entre regiones. Adaptado de Spalding *et al.* (2007).

6.2.2 Estudio biogeográfico

Como aproximación preliminar se calculó la riqueza de especies (S) para cada ecorregión y zona batimétrica (diversidad alfa) (Clarke & Warwick 1998, Magurran 2004), así como la diversidad beta o aproximación comparativa entre ecorregiones (y zonas batimétricas) que abarcan áreas geográficas más grandes. Tras ello, el estudio biogeográfico se realizó desde dos perspectivas: el análisis de composición faunística para cada ecorregión considerando la categoría de distribución zoogeográfica asignada a cada especie de pluma de mar según su distribución

geográfica conocida, y el análisis de la afinidad faunística entre ecorregiones a partir de la distribución geográfica y batimétrica conocida de las especies de penatuláceos (Medel & López-González 1996, 1998).

Composición faunística

El estudio de composición faunística (o afinidades zoogeográficas) se basó en asignar una categoría zoogeográfica a cada especie de pluma de mar según las ecorregiones en las que ha sido reportada (Medel & López-González 1996, 1998), y se agrupan en 4 grandes clases (Tabla S6.1), siguiendo algunas consideraciones resumidas por Williams (2011): (1) Endemismo, cuando la especie solo está presente en una sola ecorregión (por ejemplo, si una especie solo se registró en el mar Mediterráneo, este endemismo se abrevia como ME), (2) Distribución amplia (WD), cuando la especie está presente en dos o más ecorregiones dentro de uno o más océanos (por ejemplo, una distribución amplia en el océano Atlántico, abreviada como WDA, podría incluir combinaciones de ecorregiones como NES, LU, ME, TEA y TSA); (3) Cosmopolitismo (CO), cuando la especie putativa se registra en todos o casi todos los océanos, incluida en la mayoría de los casos al menos una región polar (por ejemplo, una especie mencionada en una combinación de ecorregiones distantes como NES, LU, ME, NWA, NP, TSA, WIP y TA, se consideraba cosmopolita); (4) Otra Distribución, una especie se consideró dentro de la **categoría “otra distribución” cuando estando presente en más de una ecorregión** no ha sido incluida en ninguna de las categorías anteriores (Tabla S6.1). Las categorías zoogeográficas fueron confrontadas con las ecorregiones en una nueva matriz cuyo análisis determinó el contenido y porcentajes de endemismos, distribuciones amplias, cosmopolitismos y otras distribuciones para cada ecorregión.

Afinidad faunística

Se utilizó la matriz de datos de presencia/ausencia para obtener una matriz de similitud (matriz triangular) entre ecorregión+batimetría utilizando el índice de similitud Sørensen (Sørensen 1948, Demey *et al.* 2011, Soto Àngel & Peña Cantero 2017).

Se realizó un análisis de conglomerados (enlace aglomerativo jerárquico por promedio de grupo) para determinar posibles agrupaciones entre ecorregiones. Se utilizaron los siguientes parámetros de Simprof: 10.000 permutaciones para el perfil medio, 10.000 permutaciones de simulación y un nivel de significación del 5 % (Clarke & Warwick 1994). Las relaciones resultantes según el índice utilizado se representaron mediante dos dendrogramas.

Afinidad entre géneros basada en la distribución geográfica y batimétrica

Finalmente, la matriz de datos de distribución de especies se condensó a nivel de género y se transpuso para tratar de detectar agrupaciones de géneros con distribución geográfica y batimétrica similar.

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando los paquetes de software PRIMER 6 (v.6.1.6) (Clarke & Gorley 2006) y PAST (v 3.21) (Hammer *et al.* 2001).

6.3 Resultados

En el presente estudio biogeográfico se utilizó un total de 220 especies de pennatulacean distribuidas en 41 géneros y 16 familias a lo largo de las ecorregiones enumeradas anteriormente (Tabla S6.2). Sin embargo, es necesario señalar en este apartado que, no se considerará la descripción de patrones geográficos y batimétricos a nivel de familia, ya que la sistemática de las plumas de mar se encuentra actualmente en revisión y de poco servirían nuestros posibles comentarios o conclusiones en este sentido (ver también Discusión).

El género con más especies fue *Pteroeides* (29 spp.), seguido de *Virgularia* (18 spp.), *Cavernularia* (15 spp.), *Stylatula* (11 spp.), *Lituaria* y *Pennatula* (10 spp. cada una) (Tabla S6.3). Por un lado, la mitad de los géneros conocidos (20 de los 41 géneros, 48 % del total) incluye solo 36 especies (~16 %, una media de 1,8 spp. por género). Por el contrario, solo 6 géneros (~15% del total) incluyeron

casi la mitad de las especies descritas (43%, una media de 15,6 spp. por género)
(ver Tabla S6.3).

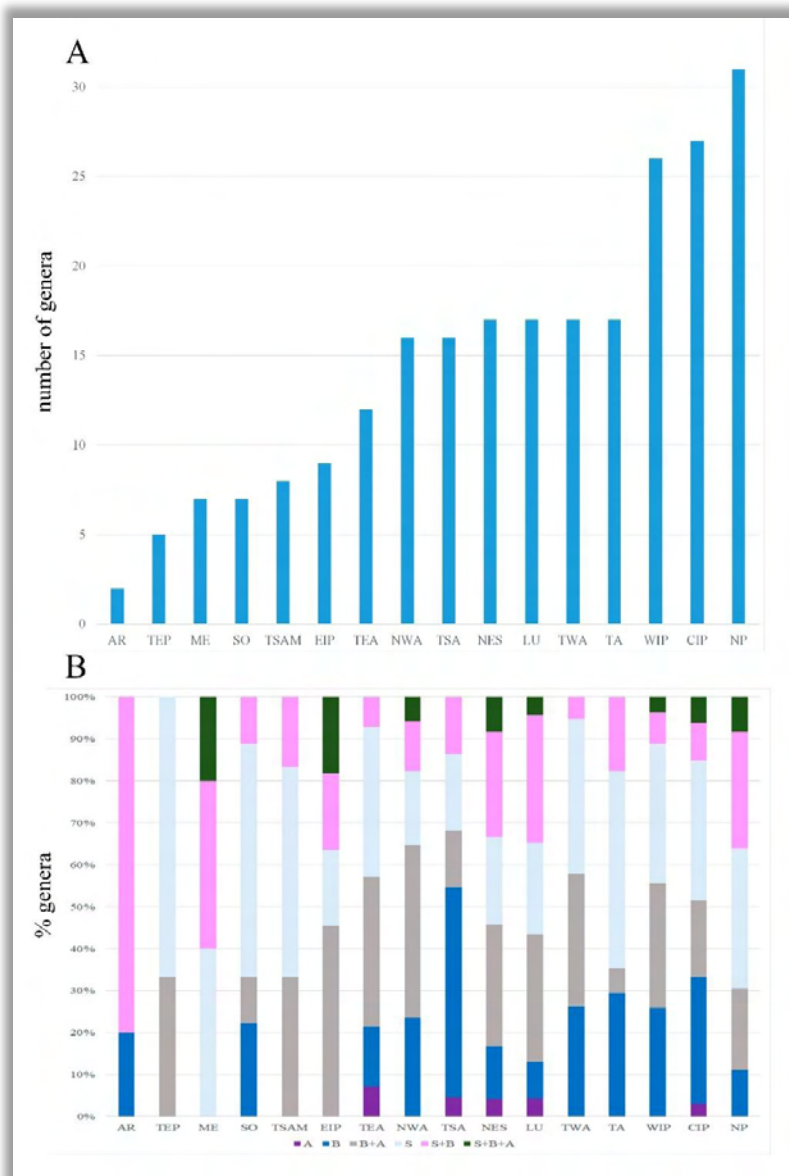


Figura 6.2. Ecoregiones y distribución batimétrica de géneros de plumas de mar. Categorías: S-Shelf (<200m), B-Bathyal (200-3000m), A-Abyssal (3000-6000 m).

6.3.1 Ecoregiones y distribución batimétrica

Los géneros de plumas de mar estuvieron presentes en todas las ecorregiones consideradas aquí (ver Fig. 6.2, Tabla S6.2). Las ecorregiones con el mayor número de géneros observados (>25 géneros) fueron NP (31 géneros), CIP (27 géneros) y WIP (26 géneros); mientras que los que presentaron los valores más bajos (< 10 géneros) fueron AR (2 géneros), TEP (5 géneros), ME (7 géneros), SO (7 géneros), TSAM (8 géneros) y EIP (9 géneros). (Fig. 6.2A). Considerando la distribución batimétrica dentro de cada ecorregión (como porcentaje del total), observamos que aquellas ecorregiones con mayor número de géneros presentan principalmente una distribución en aguas poco profundas (S), seguida por una distribución batial (B) y abisal (B + A). Mientras que las ecorregiones con los valores más bajos presentaron principalmente una distribución en aguas poco profundas (S) y plataforma-batial (S+B) (Fig. 6.2B).

Las comparaciones dentro de cada rango batimétrico mostraron que las ecorregiones con los valores más altos de géneros de aguas poco profundas (>15 géneros) fueron NP (25 géneros) y CIP (16 géneros), mientras que aquellas con los valores más bajos (<5 géneros) fueron AR, EIP y TSAM (4 géneros cada uno) (Fig. 6.3A). A profundidades batiales (200-3.000 m), las ecorregiones TSA y CIP tuvieron los valores más altos (> 20 géneros), mientras que las ecorregiones con los valores más bajos fueron ME, TEP y EIP (< 5 géneros) (Fig. 6.3B). Finalmente, las ecorregiones con valores más altos en batimetría abisal fueron CIP y TSA (> 9 géneros), mientras que SO y TWA fueron las ecorregiones con valores más bajos (un género cada una). La única ecorregión sin ningún género abisal fue el Ártico (AR) (Fig. 3C).

Con respecto a la distribución batimétrica global de los diferentes géneros (Tabla S6.3), en los tres géneros con mayor cantidad de especies, el componente de aguas poco profundas es dominante. En el género *Pteroeides* el 97% de sus

€

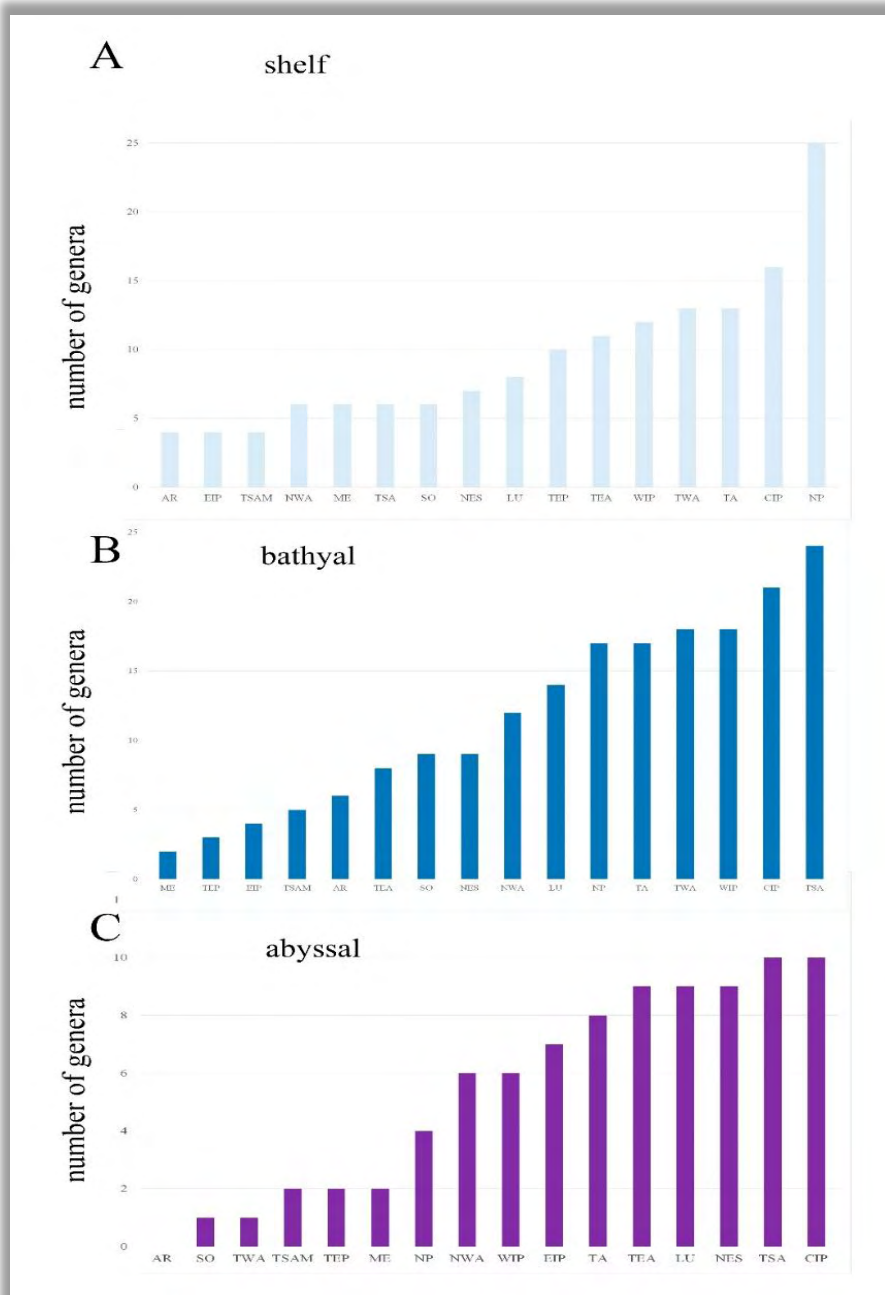


Figura 6.3. – Riqueza de géneros en cada ecorregión y nivel batimétrico. Consulte la Tabla 6.1 para ver las abreviaturas.

cies de *Virgularia* y *Cavernularia* (83% y 93%, respectivamente). Los géneros *Lituaria* (10 spp.), *Actinoptilum* (1 sp.), *Cavernulina* (3 spp.), *Crassophyllum* (2 spp.), *Malacobelemnion* (2 spp.) y *Sarcoptilus* (5 spp.) muestran una distribución restringida a la plataforma continental. Cuatro géneros (de una o dos especies) se han reportado exclusivamente desde zonas batiales, *Chunella*, *Amphiacme*, *Alloptilella*, y *Gyrophyllum*. Solo el género *Porcupinella* (2 spp.) es exclusivamente abisal. Los géneros de plumas de mar *Kophobelemnion*, *Protoptilum*, *Balticina*, *Callbelemnion* y *Funiculina* incluyen al menos una especie reportada desde la distribución batimétrica completa aquí analizada (S+B+A).

6.3.2 Ecorregiones y distribución batimétrica de las especies de pennatuláceos.

Las especies de plumas de mar estuvieron presentes en todas las ecorregiones consideradas aquí (ver Figs. 6.1, 6.4 Tabla S6.2). Las ecorregiones con el mayor número de especies reportadas (> 50 spp. cada una) fueron CIP (79 spp.), NP (59 spp.) y WIP (57 spp.); mientras que los de valores más bajos (< 10 spp.) fueron AR (5 spp.), TEP (7 spp.), SO (10 spp.) y ME (10 spp.) (Fig. 6.4A). Entre las tres ecorregiones con más especies citadas anteriormente, el rango batimétrico más común fue exclusivo de plataforma (S), seguido de lejos por B y B+A (Fig. 6.4B). Mientras que esas ecorregiones menos especiadas mostraron sus especies distribuidas en un menor número de zonas batimétricas [ya sea exclusivas (S, B, A) o concatenadas (por ejemplo, S+B o B+A)], siendo dominadas principalmente por las especies de plataforma (S), seguida de S+B (Fig. 6.4B).

Las comparaciones entre ecorregiones dentro del mismo rango batimétrico (Figura 6.5) revelaron que: 1) las tres ecorregiones más especiadas en la zona de plataforma (>35 spp) son CIP (59 spp.), NP (46 spp.) y WIP (38 spp.), contrario a lo observado en AR, TEP, SO y EIP (≤ 6 spp.) (Fig. 6.5A); 2) considerando solo la zona batial, las ecorregiones con mayor número de especies (>22 spp.) fueron NP (30 spp.), WIP (27 spp.) y NES (24 spp.), mientras que AR, TSAM, TEP y SO

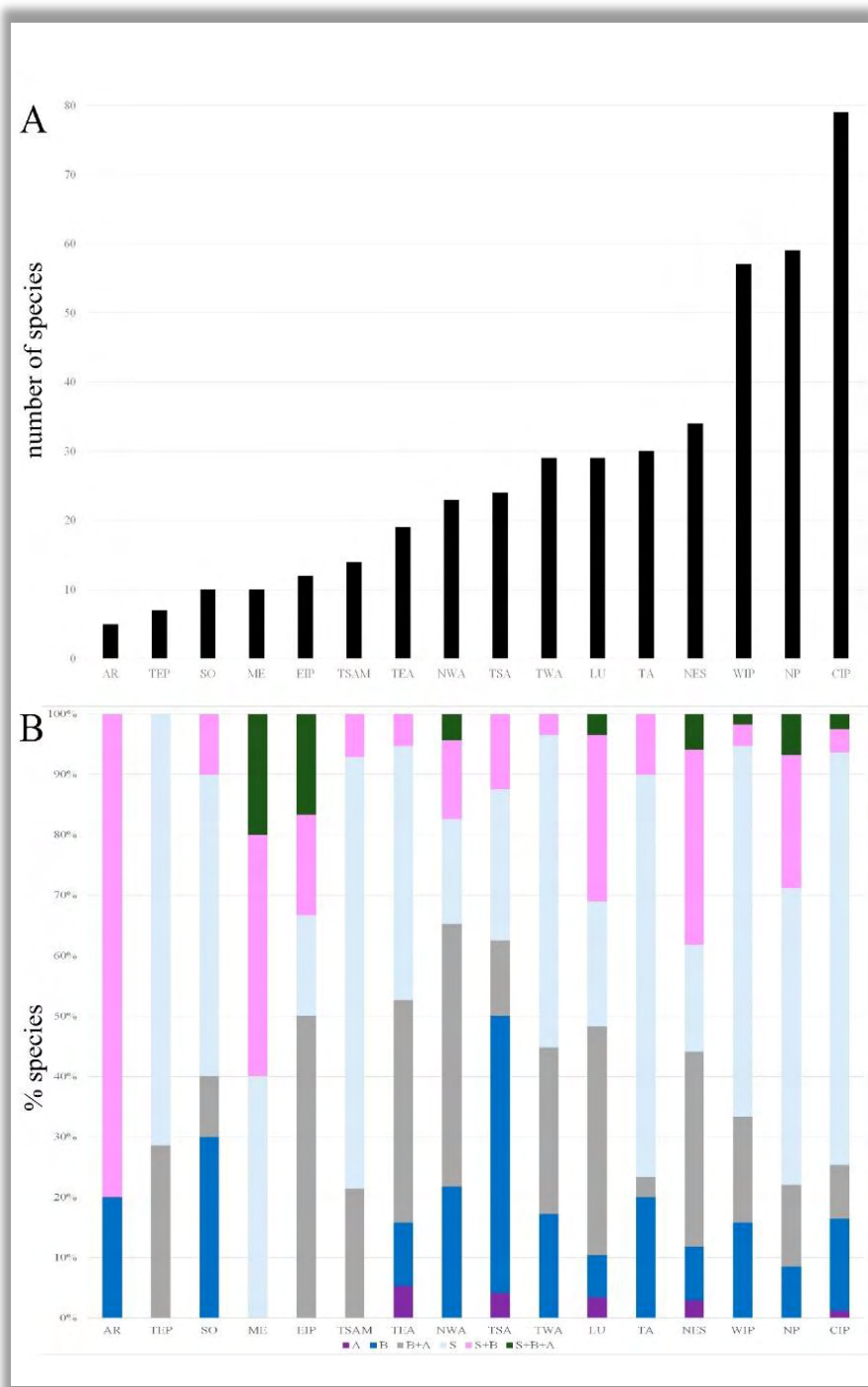


Figura 6.4. – Ecorregiones y batimetría. Distribución batimétrica global de las especies de pennatuláceos. Categorías: S-Shelf (<200m), B-Bathyal (200-3000m), A-Abysal (3000-6000 m).

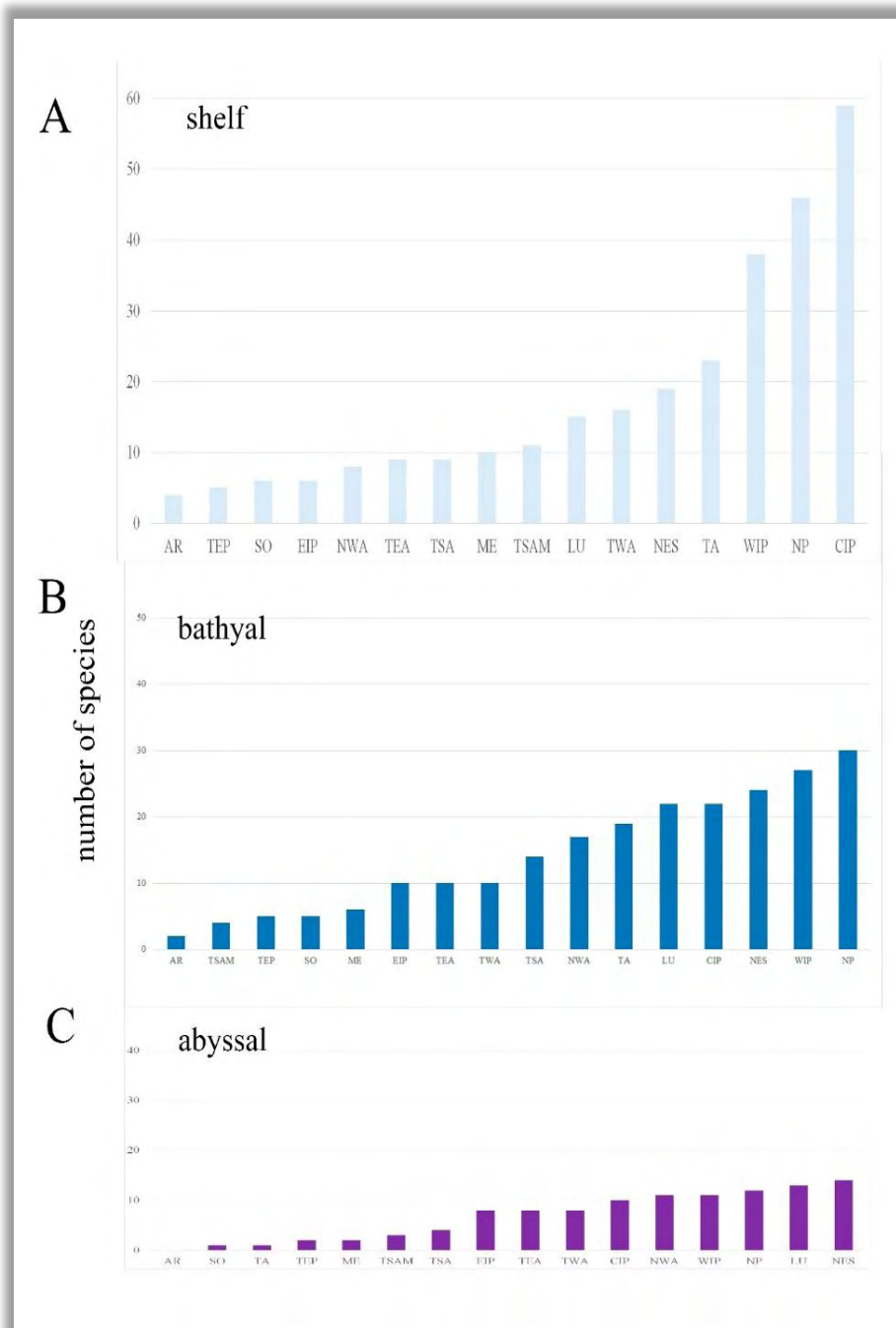


Figura 6.5. – Índice de riqueza específica (S) en cada ecorregión y nivel batimétrico. Consulte la Tabla 1 para ver las abreviaturas.

spp.), LU (13 spp.) y NP (12 spp.), solo el Ártico (AR) no tubo especies abisales, mientras que SO y TA tenían solo una especie cada uno (Fig. 6.5C).

En general, el número de especies de plumas de mar fue claramente mayor en la plataforma continental (165 spp., 131 de ellas exclusivas) que en batial (86 spp., 29 exclusivas) y abisal (31 spp., 3 exclusivas). En cuanto a distribuciones batimétricas más amplias, 29 spp. mostraron un amplio rango batimétrico entre 0-3,000 m (S+B); 23 spp. se registraron entre 200-6.000 m (B+A); y solo se han registrado 5 especies de todas las zonas batimétricas (S+B+A) (ver Tablas S6.2, S6.3): *Balticina californica*, *Calibelemnon symmetricum*, *Funiculina quadrangularis*, *Kophobelemnon stelliferum* y *Protoptilum cyaneum*.

6.3.3 Composición faunística

Se consideró *a priori* un total de 30 categorías zoogeográficas según la posible distribución geográfica de las especies de plumas de mar a lo largo de las ecorregiones consideradas, aisladas o combinadas (ver Tablas S6.1, S6.2).

La mayoría de las ecorregiones mostraron algunas especies endémicas (porciones circulares en azul en la Figura 6.6), excepto en el Indo-Pacífico Oriental (EIP), el Atlántico Noroccidental (NWA) y el Ártico (AR). El mayor porcentaje de endemidad se encontró en los océanos del Sur (SO, 60 %), seguido del Atlántico occidental tropical (TWA, 45 %), América del Sur templada e Indo-Pacífico central (TSAM y CIP, 43 %) y la región de Australasia (AT, 37%). Los mares semicerrados como el Mediterráneo mostraron un 10%, muy superior a la ecorregión vecina lusitana (3%) pero cercana a los mares del norte de Europa (NES, 12%). Entre las 13 ecorregiones con especies endémicas, 11 tenían un porcentaje de endemidad >50% en especies de plataforma, siendo ME, LU, TEP y TEA 100% (Tabla S6.5).

Todas las ecorregiones excepto el Ártico presentaron algunas especies de amplia distribución (coloreadas en naranja). Los porcentajes más altos de distri-

buciones amplias se encontraron en el Pacífico oriental tropical (TEP, 71 %), seguido del Indo-Pacífico occidental (WIP) y el Atlántico noroccidental (NWA) (65 % y 61 %, respectivamente). El Ártico (AR) y el Océano Austral (SO) mostraron especies de amplia distribución como se define aquí.

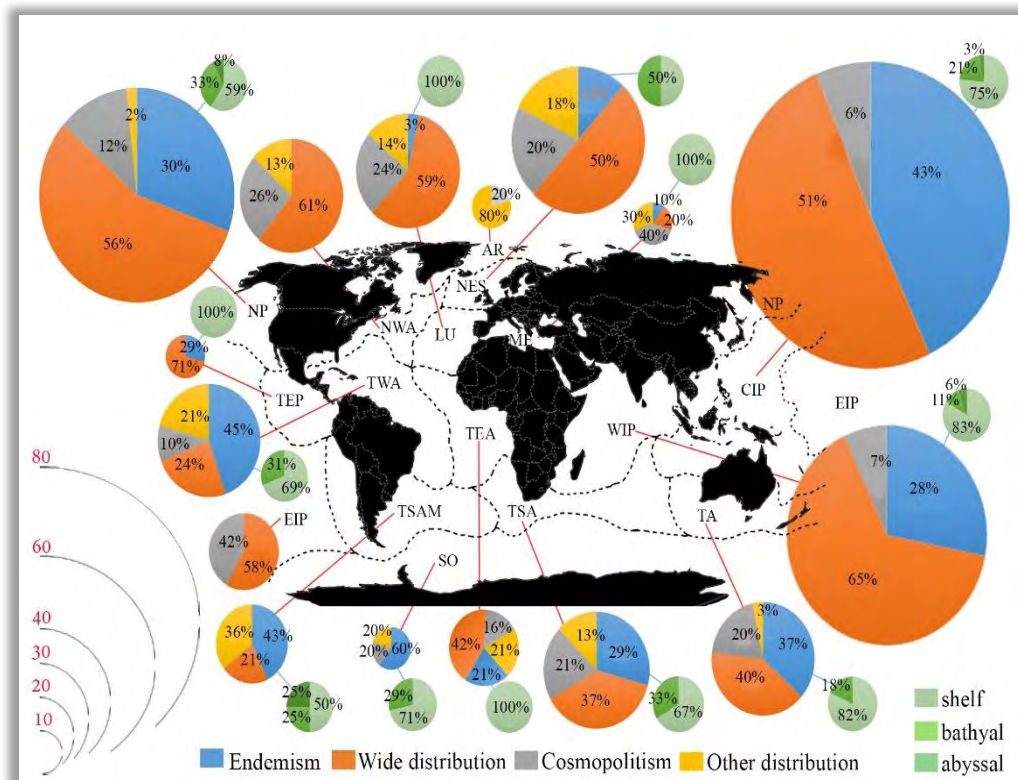


Figura 6.6. – Resultado del estudio de composición faunística. Los diagramas representan el porcentaje de endemismos (azul), distribución amplia (naranja), cosmopolitismo (gris) y otra distribución (amarillo) de cada ecorregión. El tamaño de los gráficos es proporcional al número de especies en cada ecorregión. Dentro de cada endemismo, se indica su batimetría.

La mayoría de las ecorregiones mostraron algún caso de cosmopolitismo (coloreado en gris), excepto el Pacífico oriental tropical (TEP) y América del Sur templada (TSAM). Los mayores porcentajes de cosmopolitismo se encontraron

en el Mar Mediterráneo (ME, 40%), seguido del Indo-Pacífico Oriental (EIP, 42%) (ver Fig. 6.6).

6.3.4 Afinidad faunística entre ecorregiones

En general, el análisis de conglomerados utilizando el índice de Sørensen sobre la distribución de especies a lo largo de las ecorregiones (Figura 6.7) mostró patrones de agrupación relativamente pobres (la mayoría de las relaciones entre 20% y 70% de similitud).

Cuando se utiliza un límite de similitud del 70% destacaron algunas combinaciones de ecorregiones-zonas batimétricas. Por un lado, las regiones de plataforma y batial del Mar Mediterráneo (S_ME+B_ME); las plataformas de Lusitania y Mares del Norte de Europa (S_LU+S_NES); y la plataforma y la región batial del Ártico (S_AR+B_AR). Por otro lado, la zona batial y abisal del Indo-Pacífico Oriental (A_EIP+B_EIP) y la abisal del Indo-Pacífico Central (A_CIP); la zona batial del Atlántico Noroccidental, Lusitania y Mares del Norte (B_LU+B_NWA+B_NES); la zona abisal de esta misma región atlántica (A_LU+A_NWA+A_NES); las zonas batial y abisal de Sudamérica Templada (TSAM A+B); y las zonas batial y abisal del Pacífico Oriental Tropical (TEP A+B). Estas relaciones observadas en el dendrograma pueden verse afectadas por una combinación de originalidades regionales/batimétricas y la identificación de taxones putativos ampliamente distribuidos.

Las faunas de plumas de mar de la plataforma mediterránea (S) y zona batial (B) son bastante similares (bajo el límite de similitud anterior), mientras que la fauna abisal es diferente, relativamente más relacionada con la zona batial de Australasia templada (ver Discusión). En cuanto a las regiones polares, A_AR (sin ninguna especie de pluma de mar registrada) está muy separada de S_AR-B_AR (>80 % de similitud), mientras que todas las zonas batimétricas del Océano Austral se reúnen solo con un ~10 % de similitud, siendo S_SO el más diferente y B_SO y A_SO con ~33% de similitud (ver Discusión). Esto significa que, bajo un

80% de similitud, las zonas de plataforma y batial en el Ártico pueden considerarse una sola unidad faunística, sin plumas de mar en la zona abisal; mientras que en el Océano Austral, cada zona batimétrica representa una unidad faunística diferente, todas ellas con al menos una especie.

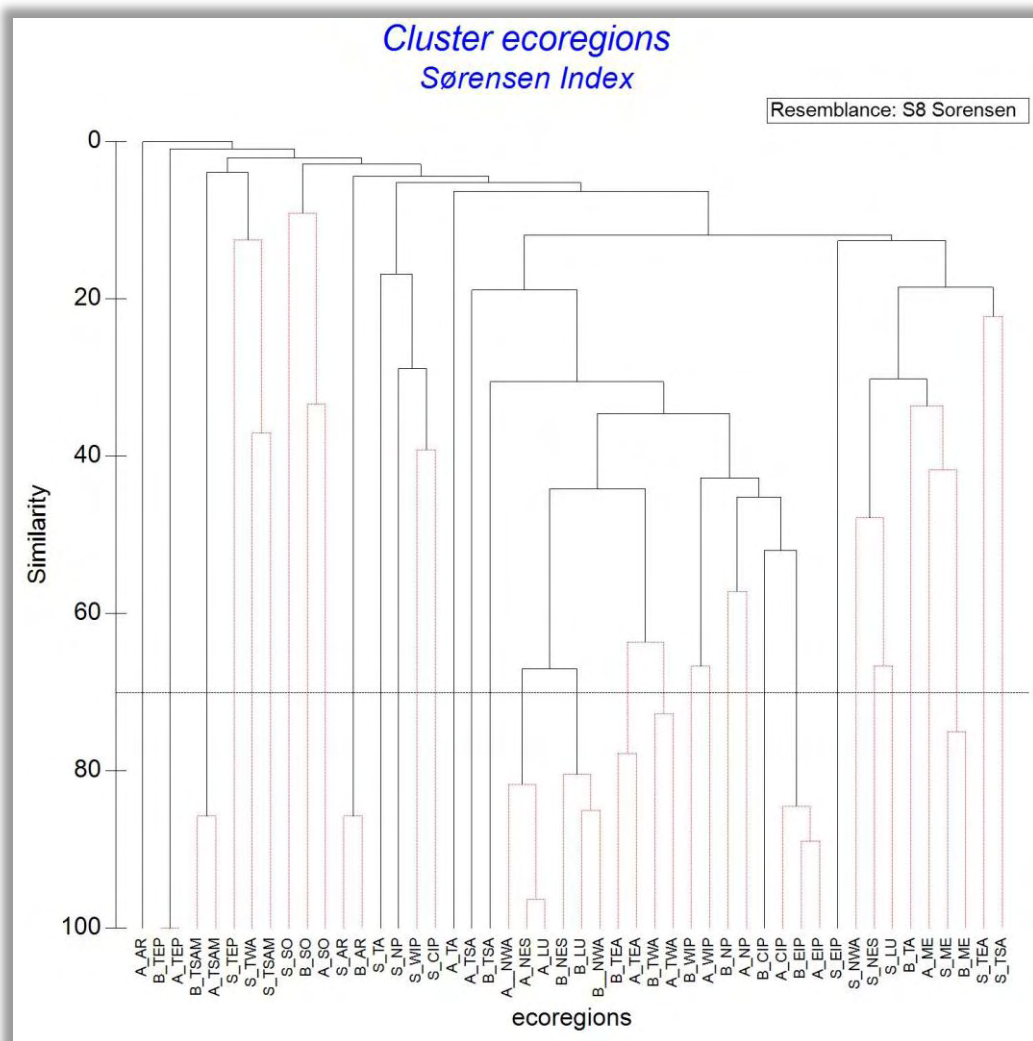


Figura 6.7. – Análisis de conglomerados que clasifica las ecorregiones consideradas *a priori* en función de la distribución de las especies de plumas de mar (Tabla S6.2) y el Índice de similitud de Sørensen. Se indica la zona batimétrica en cada ecorregión: S_ = plataforma; B_ = batial; A_ = abisal. Se indica el límite de similitud del 70%

6.3.5 Afinidad entre géneros basada en la distribución geográfica y batimétrica

En un tratamiento similar al desarrollado para las afinidades faunísticas, cuando se analiza la distribución geográfica y batimétrica de los géneros, la mayoría de las agrupaciones mostraron poca similitud (Figura 6.8)

Para estar de acuerdo con comparaciones previas (ver arriba), cuando se usa un límite de similitud del 70% se detectan los siguientes agrupamientos: (1)

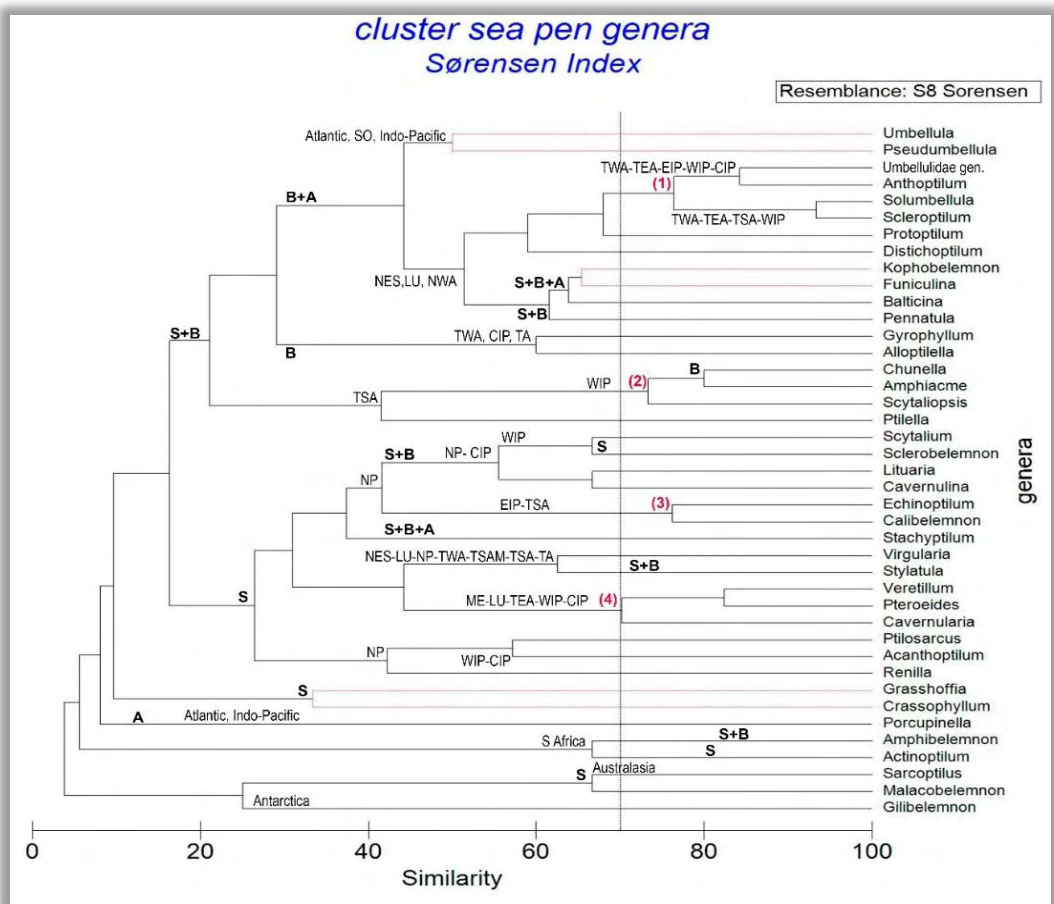


Figura 6.8. – Dendrograma resultante del análisis de similitud basado en el índice de Sørensen y utilizando todos los géneros descritos. Se indica la zona batimétrica en cada eco-región: S_{__} = plataforma; B_{__} = batial; A_{__} = abisal. Se indica el 70% de los límites de similitud.

Umbellulidae gen.-*Anthoptilum-Solubellula-Scleroptilum* [compartiendo las zonas batiales y abisales del Atlántico Norte (NES-LU-NWA-TWA-TEA) e Indo-Pacífico occidental (WIP)]; (2) *Chunella-Amphiacme-Scytaliopsis* [compartiendo plataforma y zonas batiales del Atlántico Sur Tropical (TSA) y el Indo-Pacífico Occidental (WIP)]; 3) *Echinoptilum-Calibelemnon* [compartiendo plataforma y zonas batiales del Atlántico Sur Tropical (TSA) y el Indo-Pacífico Oriental (EIP)]; y 4) *Veretillum-Pteroeides-Cavernularia* [compartiendo plataforma del Mediterráneo y el Atlántico Oriental Tropical (ME-LU-TEA) y el Indo-Pacífico Occidental y Central (WIP-CIP)] (Figura 6.8).

Por el contrario, algunos géneros fueron aislados, correspondiendo en la mayoría de los casos a géneros monotípicos o una distribución restringida de sus especies o (ver Discusión). Por ejemplo, el género monoespecífico *Gilibelemnon* endémico de la Antártida o el género abisal *Porcupinella* (2 spp.) distribuido en el Atlántico y el Indo-Pacífico central.

6.4 Discusión

Es necesario mencionar que el estudio biogeográfico en plumas de mar implica una serie de limitaciones en la obtención de los conjuntos de datos confiables, estas pueden deberse a un esfuerzo de muestreo incompleto (limitaciones geográficas o batimétricas) (Marshall 1979; Williams 1992), e incluso algunas características biológicas inherentes a las especies, como una distribución irregular (Birke-land 1974; Lopes *et al.* 2012; Ruiz-Pico *et al.* 2017) o la capacidad de enterramiento bajo estrés físico tales como la proximidad de artes de muestreo (Pavans & Buisson 1965; Levin *et al.* 1994; Chimienti *et al.* 2018; Ambroso *et al.* 2013, 2021). Otro impedimento para los estudios biogeográficos surge del origen de la información, incompleto o impreciso, especialmente notorio en materiales antiguos descritos y reportados (especialmente aquellos anteriores a los años 50 del

siglo pasado). Algunas de estas especies se erigieron sobre la base de un solo espécimen (por ejemplo, K lliker 1872), y los términos generales que se utilizaron para los datos de localidad (por ejemplo, "Atlántico", "Pacífico" o "profundo") son relativamente frecuentes (ver K lliker 1870, 1872, Broch 1910, Kükenthal 1915, entre otros).

A pesar de estas limitaciones, la información obtenida a partir de los estudios biogeográficos ofrece un amplio enfoque sobre el patrón de distribución de las especies de plumas de mar, ampliando nuestro conocimiento previo (Williams 2011). Como se vio antes, se han encontrado pennatuláceos en todos los océanos, desde las zonas polares hasta las ecuatoriales, y desde las zonas someras hasta las profundidades abisales (Broch 1910, Kükenthal 1915, Williams 1995, 2011).

Williams (2011) consideró un total de 35 géneros y al menos 203 especies válidas, y mostró que aproximadamente el 54% de estos géneros tienen una distribución geográfica amplia, siendo el 46% restante geográficamente restringido [*Ptilosarcus* (W América, Pacífico), *Gilibelemnion* (Antártida), *Porcupinella* (Atlántico norte), *Sarcoptilus* (Australia meridional, Indo-Pacífico), *Crassophyllum* (África oriental, Atlántico Norte-Mediterráneo), *Amphibelemnion* y *Actinoptilum* (África meridional, Atlántico-Índico), *Scytaliopsis* y *Amphiacme* (África oriental, Indo -Pacífico)] (Williams 2011). En el presente estudio (basado en la distribución de 41 géneros y 220 especies) el porcentaje de distribución amplia o cosmopolita aumenta hasta el 92,7 % (80,5 % de distribución amplia y 12,2 % cosmopolita), mientras que solo 3 géneros monotípicos (apenas presentes en una sola ecorregión) pueden ser estrictamente considerados endémicos (*Actinoptilum*, *Gilibelemnion*, *Amphibelemnion*), representando solo el 7.3% (Tabla S6.4).

De acuerdo con Williams (2011), los géneros *Anthoptilum*, *Distichoptilum*, *Funiculina*, *Kophobelemnion* y *Pennatula* pueden considerarse cosmopolitas. Sin embargo, no es lo mismo la asignación de la categoría cosmopolita a un género dado por tener numerosas especies (y que cada una podría ser endémica de una determinada ecorregión) presentes en muchas de las ecorregión consideradas,

que aquellos casos en los que la asignación de cosmopolita se derive de la presencia de una especie hoy considerada cosmopolita. Esto ocurre con algunas de las especies tipo de los géneros mencionados anteriormente (*A. grandiflorum*, *D. gracile*, *K. stelliferum*, *F. quadrangularis* y *P. phosphorea*). Es probable que los múltiples registros de un nombre de especie dado, reportados por todo el mundo puedan estar respaldados por similitudes morfológicas en lugar de diferencias filogenéticas confiables, como se reveló, por ejemplo, en *Pennatulula phosphorea* (García-Cárdenas *et al.* 2019).

Estudios previos han sustentado que los límites de profundidad que reflejaban los cambios faunísticos generales desde el borde de la plataforma (200 m) hasta la zona abisal (6.000 m), presentan la barrera de los 3.000 m como inicio de la fauna abisal (Hansen 1975, Sibuet 1979, Billett 1991). La falta de consistencia global en tales patrones faunísticos, sugeriría que los procesos que estructuran la diversidad a lo largo de la batimetría son probablemente diferentes (Olabarria 2006). Las faunas de plumas de mar de las zonas profundas (B+A) del Atlántico tropical, Índico y Pacífico presentaron frecuentemente una mayor similitud entre ellas que con sus respectivas zonas de plataforma (Fig. 6.7). Los sistemas de corrientes y las condiciones ambientales de las plataformas podrían aislar posibles interconexiones con estos fondos marinos profundos (Almada *et al.* 2001, Gille *et al.* 2004, Mortensen *et al.* 2008). Esta falta de conectividad podría estar detrás del alto grado de endemismo ocurrido en la plataforma continental (100 de las 220 spp., ver Tabla S6.2, S6.5).

En nuestro estudio, solo en ciertas ecorregiones (como el Mar Mediterráneo y el Océano Ártico) se mostró asociación entre la plataforma y la fauna batial (rango 0-3.000 m), mientras que las zonas abisales se aislaron en el análisis. Por ejemplo, la plataforma abisal del Ártico (A_AR) se caracterizó por la ausencia de especies, pero el Mediterráneo abisal (A_ME) se caracteriza por la presencia de

dos supuestas especies cosmopolitas (*Funiculina quadrangularis* y *Kophobelemnon stelliferum*) reportadas en muchas ecorregiones diferentes y en el completo rango batimétrico (Mastrototaro *et al.* 2013, Bastari *et al.* 2018, Pierdomenico *et al.* 2018, Chimienti *et al.* 2019a,b).

Tradicionalmente, las plumas de mar se consideran especies de aguas profundas (ver Kölliker 1872, Kükenthal 1915, entre otros), sin embargo, en este estudio, 165 de las 220 especies (~75%) se pueden encontrar viviendo en áreas de plataforma, mientras que 86 spp. (~39%) y solo 31 spp. (~14%) habitan fondos batiales y abisales, respectivamente (ver Tabla S6.3). La reducción de la diversidad al aumentar la profundidad está de acuerdo con otros estudios en varios grupos faunísticos (por ejemplo, isópodos en Svavarsson *et al.* 1993; o hexacorales en Riemann-Zürneck 1998; entre otros).

En el caso del Mar Mediterráneo, se trata de una ecorregión joven, que comenzó a formarse hace unos 5,3 millones de años cuando un pronunciado estrecho se abrió al Atlántico inundando las cuencas occidentales, que estaban casi secas (García-Castellanos *et al.* 2009, Sutton *et al.* 2017, Real *et al.* 2021). A pesar de las diferencias en el número de especies registradas en el Mediterráneo en comparación con las áreas cercanas (LU o NES) (Fig. 6.6), la fauna mediterránea de plataforma más batial parece estar moderadamente relacionada con las aguas europeas atlánticas de plataforma (S_LU+S_NES) (~ 30% de similitud en la Fig. 6.7) [Nótese aquí que la zona batial de Australasia (B_TA) también aparece cerca del Mediterráneo, esto se debe a la presencia de las especies cosmopolitas *K. stelliferum*, *P. phosphorea* y *F. quadrangularis*]. Puede considerarse que la colonización de la cuenca mediterránea por elementos atlánticos una vez abierto el Estrecho de Gibraltar tras la crisis del Messiniense (Loget & Van Den Driessche 2006) se puede observar en el aislamiento de elementos templado-tropicales hoy considerados endemismos emblemáticos, como *Astroides calycularis*, género monotípico estrechamente relacionado con otros géneros africanos tropicales de

Dendrophylliidae (Zibrowius 1995, Goffredo *et al.* 2010) o el pennatuláceo del Mediterráneo oriental *Crassophyllum thessalonicae*, cuyo único congénere existente, *Crassophyllum cristatum*, habita en fondos de aguas poco profundas de Guinea a Angola (Vafidis & Koukouras 1991, 1994, Fryganiotis *et al.* 2011, Tixier-Durivault 1961).

La distribución de los tres géneros de la plataforma *Veretillum*, *Pteroeides* y *Cavernularia* parece tener una similitud relativamente alta (Fig. 6.8) y puede discutirse en un marco hipotético que involucre al antiguo mar de Tethys (Rögl 1997, Hrbek & Meyer 2003, Bialik *et al.* 2019). Las especies de estos tres géneros están presentes en el Atlántico oriental tropical, Lusitania y Mediterráneo por un lado, así como en el Indo-Pacífico central y occidental (Fu *et al.* 1999, Williams 1989, 1995, Williams *et al.* 2012). Estas dos masas de agua estuvieron conectadas por el Tethys hasta que se cerró el "Corredor Trans-Tethyan", y con ello la conexión con el Mediterráneo (hace aprox. 14-13 Ma) (Rögl 1997, Hrbek & Meyer 2003, Bialik *et al.* 2019). Por esto, es razonable que los géneros (al menos los caracteres morfológicos hoy reconocidos como de estos géneros) ya estuvieran presentes antes del cierre de Tethys, y posteriormente evolucionaron de forma independiente, y diversificaron en diferentes especies en ambas principales masas de aguas. Además, como se ha comentado anteriormente, el cierre del Estrecho de Gibraltar y la desecación del Mediterráneo eliminarían potencialmente estos elementos pennatuláceos Tethys de esta cuenca. La posterior apertura del Estrecho de Gibraltar daría lugar a la estrecha relación entre la fauna de plumas de mar de las regiones mediterránea y lusitánica (Sampaio *et al.* 2019, Chimienti *et al.* 2019a). Sin embargo, la existencia de taxones de cnidarios relacionados entre los cañones del Mediterráneo Noroccidental del Golfo de León y el Golfo de Vizcaya sugieren que la influencia de las conexiones de Paratethys (por todo el norte de la península ibérica) todavía está presente, y que la posible fauna relictas de Tethys podría haber sobrevivido a la crisis de Messiniensis, cerca de las principales aportaciones

asociadas a los ríos más importantes (Rögl 1997, Gili *et al.* 1998, 2000, Bitner *et al.* 2013, van Baak *et al.* 2016).

En cuanto al origen hipotético de las plumas marinas, los primeros estudios relevantes consideraron a los pennatuláceos como un grupo originado en aguas profundas, debido a que la mayoría de las especies descritas en ese momento eran profundas y estructuralmente más simples, como Funiculinidae y Kophobelemnidae, que se encuentran en el mares de Europa y Atlántico Norte (Kölliker 1870, Wilson 1883). Sin embargo, autores posteriores propusieron un origen en aguas poco profundas (Koch 1878, Kükenthal & Broch 1911), y una posterior diversificación hacia las profundidades (Hickson 1937, Williams 1992). Su argumento se basaba principalmente en el hecho de que los pennatuláceos estructuralmente más simples (tradicionalmente incluidos en la familia Veretillidae) eran especies de aguas poco profundas y se localizaron como los primeros taxones divergentes en los cladogramas. Los primeros análisis moleculares (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013) descartaron el argumento tradicional que consideraba las morfologías estructuralmente más simples como las más primitivas.

Hickson (1916) afirmó que el conocimiento de la fauna global de pennatuláceos aún era imperfecto para avanzar con certeza en la resolución del posible origen de este particular grupo octocoral, aunque sugirió el archipiélago malayo como un candidato potencial. Hoy, más de un siglo de expediciones y descripciones de decenas de nuevos taxones, este último tema sigue siendo aún una incógnita, aunque nuestros análisis de diversidad y distribución batimétrica por ecoregiones también sugieren que la plataforma del Indo-Pacífico Central sería una de las mejores posibilidades en este respecto (ver Fig. 6.6), donde uno de los puntos calientes más importantes de biodiversidad, el triángulo de coral, es comúnmente reconocido (Veron *et al.* 2009, 2011).

6.5 Agradecimientos

Esta investigación fue financiada parcialmente por los proyectos españoles REN2001-4929-E/ANT (LAMPOS, ANT XIX/5), POL2006-06399/CGL (CLIMANT, ANT XXIII/8), LIFE07/NAT/E/000732 LIFE+INDEMARES (INDEMARES-Cap de Creus, INDEMARES-Alborán e INDEMARES-Chica) y CONICYT-PCHA/Doctorado Nacional/2017–21170438 (NFM). El estudio de los ejemplares antárticos y la concepción final de este trabajo se han realizado en el marco del proyecto CTM2017-83920-P (DIVERSICORAL) financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad de España.

6.6 Referencias

- Ambroso S., Dominguez-Carrió C., Grinyó J., López-González P.J., Gili J.M., Purroy A., Madurell T. 2013. In situ observations on withdrawal behaviour of the sea pen *Virgularia mirabilis*. *Marine Biodiversity*, 43(4): 257-258.
- Ambroso S., Grinyó, J., Bilan, M., & Puig, P. 2021. Extremely rapid withdrawal behaviour of the sea pen *Protoptilum cf. carpenteri* in the deep Mediterranean. *Marine Biodiversity*, 51(6), 1-5.
- Almaça C. 1985. Evolutionary and zoogeographical remarks on the Mediterranean fauna of brachyuran crabs. In *Mediterranean marine ecosystems* (pp. 347-366). Springer, Boston, MA.
- Almada V. C., Oliveira R. F., Gonçalves E. J., Almeida A. J., Santos R. S., Wirtz, P. (2001). Patterns of diversity of the north-eastern Atlantic blennioid fish fauna (Pisces: Blenniidae). *Global Ecology and Biogeography*, 10(4), 411-422.
- Bachraty C., Legendre, P., & Desbruyeres, D. (2009). Biogeographic relationships among deep-sea hydrothermal vent faunas at global scale. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 56(8), 1371-1378.
- Barnes, D. K., Hodgson, D. A., Convey, P., Allen, C. S., & Clarke, A. (2006). Incursion and excursion of Antarctic biota: past, present and future. *Global Ecology and Biogeography*, 15(2), 121-142.
- Bastari A., Pica D., Ferretti F., Micheli F., Cerrano C. 2018. Sea pens in the Mediterranean Sea: habitat suitability and opportunities for ecosystem recovery. *ICES Journal of Marine Science*. 75(5): 1722-1732.
- Bersch M. 1995. On the circulation of the northeastern North Atlantic. *Deep-Sea Research*. 42: 1583-1607.
- Bialik, O. M., Frank, M., Betzler, C., Zammit, R., & Waldmann, N. D. (2019). Two-step closure of the Miocene Indian Ocean Gateway to the Mediterranean. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Billet D.S.M. 1991. Deep-sea holothurians. *Oceanogr. Marine Biology. An Annual Review*. 29: 259-317.
- Bitner, M. A., Lozouet, P., & Cahuzac, B. (2013). Upper Oligocene (Chattian) brachiopod fauna from the Aquitaine Basin, southwestern France and its paleoenvironmental implications. *Geodiversitas*, 35(3), 579-606.
- Broch H. 1910. Anthozoa (Nachtrag): Pennatuliden. In Schultze, L. Zoologische und anthropologische Ergebnisse einer Forschungsreise im westlichen und zentralen Südafrika, 1903-1905. 4. Systematik und Tiergeographie. XIII. Denkschriften der Medicinisch-naturwissenschaftlichen Gesellschaft zu Jena. 16:229-235.
- Carlgren O. 1946. Ceriantharia, Zoantharia and Actiniaria. Report on the scientific results of the **"Michael Sars" North Atlant, Deep-sea Exped, 1910.** (eds) Grieg J., Bergen Museum. Vol. V: 1-27.
- Castro C.B., Medeiros M.S. 2001. Brazilian Pennatulacea (Cnidaria: Octocorallia). *Bull. Biol. Soc. Wash.* 10: 140-159.
- Carver, S. J. (1991). Integrating multi-criteria evaluation with geographical information systems. *International Journal of Geographical Information System*, 5(3), 321-339.
- Cenedese, Claudia and Gordon, Arnold L.. "ocean current". *Encyclopedia Britannica*, 21 Jul. 2021, <https://www.britannica.com/science/ocean-current>. Accessed 11 February 2022.
- Chen, G., Li, Y., & Chen, X. (2007). Species diversity of fishes in the coral reefs of South China Sea. *Biodiversity Science*, 15(4), 373.
- Chia F.S., Crawford B.J. 1973. Some observations on gametogenesis, larval development and substratum selection of the sea pen *Ptilosarcus guerneyi*. *Marine Biology*. 23: 73-82.
- Chimienti G., Angeletti L., Mastrototaro F. 2018. Withdrawal behaviour of the red sea pen *Pennatula rubra* (Cnidaria: Pennatulacea). *The European Zoological Journal*, 85(1), 64-70.
- Chimienti, G., Bo, M., Taviani, M., & Mastrototaro, F. 2019a. 19 occurrence and biogeography of mediterranean cold-water corals. In *Mediterranean cold-water corals: Past, present and future* (pp. 213-243). Springer, Cham.
- Chimienti G., Di Nisio A., Lanzolla A.M., Andria G., Tursi A., Mastrototaro F. 2019b. Towards non-invasive methods to assess population structure and biomass in vulnerable sea pen fields. *Sensors*. 19(10): 2255.
- Clarke K.R., Gorley R.N. 2006. *Primer*. PRIMER-e, Plymouth.
- Clarke K.R. Warwick R.M. 1994. *Changes in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Natural Environmental Research Council, Plymouth, UK. 234 pp.
- Clarke KR, Warwick RM. Quantifying structural redundancy in ecological communities. *Oecologia*. 1998; 113: 278-289.
- Darwin C.R. 1872. *The Origin of Species: By Means of Natural Selection Or the Preservation of Favored Races in the Struggle for Life* (Vol. 1). Modern library.
- Davies R., Cartwright J., Pike J., Line C. 2001. Early Oligocene initiation of North Atlantic Deep Water formation. *Nature*. 410: 917-920.
- Demey, J. R., Pla, L., Vicente-Villardón, J. L., Di Rienzo, J., & Casanoves, F. (2011). Medidas de distancia y similitud. Valoración y análisis de la diversidad funcional y su relación con los servicios ecosistémicos, 384, 47-59.
- Ellis J. 1764. An account of the sea pen, or *Pennatula phosphorea* of Linnaeus; likewise a description of a new species of sea pen, found on the coast of South-Carolina, with observations on

- sea-pens in general. In a letter to the honourable Coote Molesworth, Esq; M.D. and F.R.S. from John Ellis, esq; F.R.S. and member of the Royal Academy of Upsal. Phil. Trans. R. Soc. Lond. 53: 419-435. <https://doi.org/10.1098/rstl.1763.0054>
- Emig C.C., Geistdoerfer P. (2004).- The Mediterranean deep-sea fauna: historical evolution, bathymetric variations and geographical changes.- Carnets de Géologie / Notebooks on Geology, Maintenon, Article 2004/01 (CG2004_A01_CCE-PG)
- Fabricius K., Alderslade P. 2001. Soft corals and sea fans - a comprehensive guide to the tropical shallow-water genera of the Central-West Pacific, the Indian Ocean and the Red Sea. Townsville, Australia: Australian Institute of Marine Science. 264 pp.
- Fryganiotis K., Antoniadou, C., Chintiroglou, C., & Vafidis, D. (2011). Redescription of the Mediterranean endemic sea-pen *Crassophyllum thessalonicae* (Octocorallia: Pteroeidae). Marine Biodiversity Records, 4.
- Fu, X., Schmitz, F. J., & Williams, G. C. (1999). **Malayenolides A– D, Novel Diterpenes from the Indonesian Sea Pen *Veretillum malayense***. Journal of natural products, 62(4), 584-586.
- García-Cárdenas F.J., Drewery J., López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870, and description of *Ptilella grayi* n. sp. from NE Atlantic (Octocorallia, Pennatulacea). Scientia Marina. 83(3), 261-276.
- García-Cárdenas F.J., Núñez-Flores M., López-González P.J. 2020. Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). Sci. Mar. 84(4): 317-330.
- García-Castellanos D., Estrada F., Jiménez-Munt I., Gorini C., Fernández M., Vergés J., De Vicente R. 2009. Catastrophic flood of the Mediterranean after the Messinian salinity crisis. Nature, 462(7274): 778-781.
- Gili J. M., Bouillon, J., Pagès, F., Palanques, A., Puig, P., & Heussner, S. (1998). Origin and biogeography of the deep-water Mediterranean Hydromedusae including the description of two new species collected in submarine canyons of Northwestern Mediterranean. Scientia Marina, 62(1-2), 113-134.
- Gili J. M., Pagès, F., Bouillon, J., Palanques, A., Puig, P., Heussner, S., ... & Monaco, A. (2000). A multidisciplinary approach to the understanding of hydromedusan populations inhabiting Mediterranean submarine canyons. Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers, 47(8), 1513-1533.
- Gille S. T., Metzger, E. J., & Tokmakian, R. (2004). Seafloor topography and ocean circulation. Naval research lab Stennis space center MS Oceanography div.
- Gladenkov A.Y. Oleinik A.E. Marinkovich L., Barinov B.B. 2002. A Refined Age for the Earliest Opening of Bering Strait. Palaeogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol. 183: 321-328.
- Goffredo S., Gasparini, G., Marconi, G., Putignano, M. T., Pazzini, C., & Zaccanti, F. (2010). Gonochorism and planula brooding in the Mediterranean endemic orange coral *Astroides calycularis* (Scleractinia: Dendrophylliidae). Morphological aspects of gametogenesis and ontogenesis. Marine Biology Research, 6(5), 421-436.
- Hamilton, P. (1990). Deep currents in the Gulf of Mexico. Journal of Physical Oceanography, 20(7), 1087-1104.
- Hammer Ø., Harper D.A.T., Ryan P.D. 2001. PAST: Paleontological Statistics Software Package for Education and Data Analysis. Palaeontologia Electronica. 4(1): 1-9.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Hansen B. 1975. Systematics and biology of the deepsea holothurians. Galathea Report: (13)1-262
- Hickson S.J. 1916. The Pennatulacea of the Siboga Expedition, with a general survey of the order. Siboga Expeditie Monographs 14, Livr. 77: 1-265.
- Hickson S.J. 1937. The Pennatulacea. Scientific Reports. Scientific Reports of the John Murray Expedition, 1933-1934. 4(5): 109-130.
- Hrbek, T., & Meyer, A. (2003). Closing of the Tethys Sea and the phylogeny of Eurasian killifishes (Cyprinodontiformes: Cyprinodontidae). *Journal of Evolutionary Biology*, 16(1), 17-36.
- Jaccard, P. (1908). Nouvelles recherches sur la distribution florale. *Bull. Soc. Vaud. Sci. Nat.*, 44, 223-270.
- Jungclaus, J. H., Haak, H., Latif, M., & Mikolajewicz, U. (2005). Arctic–North Atlantic interactions and multidecadal variability of the meridional overturning circulation. *Journal of climate*, 18(19), 4013-4031.
- Klautau, M., Russo, C. A., Lazoski, C., Boury-Esnault, N., Thorpe, J. P., & Solé-Cava, A. M. (1999). Does cosmopolitanism result from overconservative systematics? A case study using the marine sponge *Chondrilla nucula*. *Evolution*, 53(5), 1414-1422.
- Koch G. von. 1878. Notiz über die Zooide von Pennatula. *Zoologischer Anzeiger*. 1: 103-104.
- Kölliker R.A. 1869-72. Anatomisch-Systematische Beschreibung der Alcyonararien. I. Die Pennatuliden. *Abh. Senckenb. Naturforsch. Ges.* 7–8: 1-458.
- Kölliker R.A. 1872. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Pennatulidenstammes nebst allgemeinen Betrachtungen zu Descendenzlehre. Christian Winter, Frankfurt am Main, 87 pp.
- Kruskal J.B. 1964. Nonmetric Multidimensional Scaling: A Numerical Method. *Psychometrika*. 2: 115-129.
- Kükenthal W. 1915. Pennataria. *Das Tierreich*. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin. 43:1-132.
- Kükenthal W., Broch H. 1911. Pennatulacea. *Wissenschaftliche Ergebnisse der deutschen Tiefsee-Expedition "Valdivia"*. 13(2): 113-576.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the northwestern Pacific Ocean. *Mol. Phylogenet. Evol.* 131: 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.032>
- Leão, Z. M., & Kikuchi, R. K. (2005). A relic coral fauna threatened by global changes and human activities, Eastern Brazil. *Marine Pollution Bulletin*, 51(5-7), 599-611.
- Levin L.A., Leithold E.L., Gross T.F., Huggett C.L., DiBacco C. 1994. Contrasting effects of substrate mobility on infaunal assemblages inhabiting two high-energy settings on Fieberling Guyot. *Journal of Marine Research*. 52(3): 489-522.
- Li, Y., Zhan, Z., & Xu, K. (2021). Establishment of *Alloptilella splendida* gen. et sp. nov. and resurrection of *Scytalium veneris* (Thomson & Henderson, 1906), two sea pens (Cnidaria: Pennatulacea) from seamounts in the tropical Western Pacific. *Journal of Oceanology and Limnology*, 39(5), 1790-1804.
- Loget, N., & Van Den Driessche, J. (2006). On the origin of the Strait of Gibraltar. *Sedimentary Geology*, 188, 341-356.
- López-González PJ, Drewery J. 2022. When distant relatives look too alike: a new family, two new genera and a new species of deep-sea Umbellula-like sea pens (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea). *Invertebr Syst*. DOI: 10.1071/IS21040.

- López-González, P. J. (2021). *Scytalium herklotsi* sp. nov. (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea), the first Atlantic species in the genus *Scytalium* Herklots, 1858. *Marine Biodiversity*, 51(4), 1-16.
- Madsen F.J. 1961. On the zoogeography and origin of the abyssal fauna in view of the knowledge of Porcellanasteridae. *Galathea 2 - Report. Scientific Results of The Danish Deep-Sea Expedition. Round the World 1950-52. Copenhagen. 4: 177-218.*
- Magurran AE. *Measuring biological diversity.* John Wiley & Sons. Blackwell Science Ltd. 2004.
- Mastrototaro, F., Maiorano, P., Vertino, A., Battista, D., Indennitate, A., Savini, A., ... & D'Onghia, G. (2013). A facies of *Kophobelemnon* (Cnidaria, Octocorallia) from Santa Maria di Leuca coral province (Mediterranean Sea). *Marine Ecology*, 34(3), 313-320.
- McFadden C.S., France S.C., Sánchez J.A., Alderslade P. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 41: 513-27.
- Medel M.D., López-González P.J. 1996. Updated catalogue of the Hydrozoans from the Iberian Peninsula and Balearic Islands with remarks on zoogeography and affinities. *Scientia Marina*. 60(1): 183-209.
- Medel M.D., López-González P.J. 1998. Distribution patterns in Atlantic hydroids. *Zoologische Verhandelingen*. 155-168.
- Menzies R.J., George R.Y., Rowe G.T. 1973. *Abyssal Environment and Ecology of the world oceans.* John Wiley. New York. 488 pp.
- Mironov A.N. 2006. Echinoids from seamounts of the north-eastern Atlantic; onshore/offshore gradients in species distribution. *Biogeography of the North Atlantic seamounts*. 96-133.
- Mortensen P.B., Buhl-Mortensen L., Gebruk A.V., Krylova E.M. 2008. Occurrence of deep-water corals on the Mid-Atlantic Ridge based on MAR-ECO data. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 55(1-2): 142-152.
- Murillo F.J., Kenchington E., Beazley L., Lirette C., Knudby A., Guijarro J. 2016. Distribution modelling of sea pens, sponges, stalked tunicates and soft corals from research vessel survey data in the Gulf of St. Lawrence for use in the identification of significant benthic areas. *Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences* 3170. 132 pp.
- Musgrave E.M. 1909. Experimental observations on the organs of circulation and powers of locomotion in pennatulids. *Quarterly Journal of Microscopical Science*. 54: 443-482.
- Olabarria C. 2006. Faunal change and bathymetric diversity gradient in deep-sea prosobranchs from Northeastern Atlantic. *Biodiversity and Conservation*. 15(11): 3685.
- Pavans de Ceccatty M., Buisson B. 1965. Reciprocal behavior of the rachis and peduncle in colonies of *Veretillum cynomorium* Pall. *Am. Zool.* 5: 531-535.
- Pavel Jilinski, Max A. Meju, Sergio L. Fontes, 2013. Demarcation of continental-oceanic transition zone using angular differences between gradients of geophysical fields, *Geophysical Journal International*, Volume 195, Issue 1, October 2013, Pages 276–281,
- Potts, D. C. (1983). Evolutionary disequilibrium among Indo-Pacific corals. *Bulletin of Marine Science*, 33(3), 619-632.
- Rahmstorf, S. (2002). Ocean circulation and climate during the past 120,000 years. *Nature*, 419(6903), 207-214.

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Real, R., Gofas, S., Altamirano, M., Salas, C., Báez, J. C., Camiñas, J. A., ... & Flores-Moya, A. (2021). Biogeographical and macroecological context of the Alboran Sea. In *Alboran sea-ecosystems and marine resources* (pp. 431-457). Springer, Cham.
- Rex M.A., McClain C.R., Johnson N.A., Etter R.J., Allen J.A., Bouchet P. Warén A. 2005. A Source-Sink Hypothesis for Abyssal Biodiversity. *The American Naturalist*. 165(2): 16
- Riemann-Zürneck K. 1998. How sessile are sea anemones? A review of free-living forms in the actiniaria (Cnidaria: Anthozoa). *Marine Ecology*. 19: 247-261.
- Ríos C., Erika M., Américo M. 2010. Estructura de la comunidad macrofaunística bentónica en la boca oriental del estrecho de magallanes, chile austral. *Anales Instituto Patagonia (Chile)*. 38(1): 83-96.
- Risaro, J., Williams, G. C., Pereyra, D., & Lauretta, D. (2020). *Umbellula pomona* sp. nov., a new sea pen from Mar del Plata Submarine Canyon (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *European Journal of Taxonomy*, 720, 121-143.
- Rögl, F. (1997). Palaeogeographic considerations for Mediterranean and Paratethys seaways (Oligocene to Miocene). *Annalen des Naturhistorischen Museums in Wien. Serie A für Mineralogie und Petrographie, Geologie und Paläontologie, Anthropologie und Prähistorie*, 279-310.
- Rudels, B., & Quadfasel, D. (1991). Convection and deep water formation in the Arctic Ocean-Greenland Sea system. *Journal of Marine Systems*, 2(3-4), 435-450.
- Ruiz-Pico S., Serrano A., Punzón A., Altuna Á., Fernández-Zapico O., Velasco F. 2017. Sea pen (Pennatulacea) aggregations on the northern Spanish shelf: distribution and faunal assemblages. *Scientia Marina*. 81(3): 413-423.
- Sampaio Í., Freiwald, A., Mora, F. P., Menezes G., & Carreiro-Silva, M. (2019). Census of Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) of the Azores (NE Atlantic) with a nomenclature update. *Zootaxa*, 4550(4), 451-498.
- Scheltema R.S. 1989. Planktonic and non-planktonic development among prosobranch gastropods and its relationship to the geographic range of species. *European Marine Biology Symposium*. 23:183-188.
- Shannon C.E. 1948. A mathematical theory of communication. *Bell Syst. Tech. J.* 27: 379-423, 623-656.
- Shepard R.N. 1962. The analysis of proximities: multidimensional scaling with an unknown distance function. *Psychometrika*. 27: 125-140, 219-246.
- Sibuet M. 1979. Distribution and diversity of asteroids in Atlantic abyssal basins. *Sarsia* 64: 85-91.
- Simpson, E. H. 1949. Measurement of diversity. *Nature* 163: 688.
- Smith, W. H., & Sandwell, D. T. (1997). Global sea floor topography from satellite altimetry and ship depth soundings. *Science*, 277(5334), 1956-1962.
- Sørensen T 1948. A method of establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on similarity of species content, and its application to analyses of the vegetation on Danish Commons *Biologiske skrifter/Det Kongelige Danske Videnskabernes Selskab*, 5 (1948), pp. 1-34
- Spalding M.D., Fox H.E., Allen G.R., Davidson N., Ferdaña Z.A., Finlayson M.A.X., ... , Martin K.D. 2007. Marine ecoregions of the world: a bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*: 57(7): 573-583.

- Steele, J. H., Barrett, J. R., & Worthington, L. V. (1962, November). Deep currents south of Iceland. In *Deep Sea Research and Oceanographic Abstracts* (Vol. 9, No. 11-12, pp. 465-474). Elsevier.
- Soto Ángel, J. J., & Peña Cantero, Á. L. (2017). A new piece in the puzzle of the Antarctic Biogeography: What do benthic hydroids tell us about the Scotia Arc affinities?. *Polar Biology*, 40(4), 863-872.
- Sutton, T. T., Clark, M. R., Dunn, D. C., Halpin, P. N., Rogers, A. D., Guinotte, J., ... & Heino, M. (2017). A global biogeographic classification of the mesopelagic zone. *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers*, 126, 85-102.
- Svavarsson J., Stromberg J.O. Brattegard T. 1993. The Deep-Sea Asellote (Isopoda, Crustacea) Fauna of the Northern Seas: Species Composition, Distributional Patterns and Origin. *Journal of Biogeography*. 20(5): 537-555.
- Tixier-Durivault, A. (1961). *Crassophyllum cristatum* n. gen. et n. sp., type d'un genre de Pteroeidae (Pennatulacea). **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle**, 33, 428-433.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. **Bulletin du Muséum national d'histoire naturelle, Paris. (2)37(4):705-716.**
- Tyler P.A., Bronsdon S.K., Young C.M., Rice A.L. 1995. Ecology and gametogenic biology of the genus *Umbellula* (Pennatulacea) in the North Atlantic Ocean. *International Review of Hydrobiology*. 80(2): 187-199.
- UNEP World Conservation Monitoring Centre, & Census of Marine Life on Seamounts (Programme). Data Analysis Working Group. (2006). Seamounts, deep-sea corals and fisheries: vulnerability of deep-sea corals to fishing on seamounts beyond areas of national jurisdiction (No. 183). UNEP/Earthprint.
- Valentine, J. W., & Moores, E. M. (1972). Global tectonics and the fossil record. *The Journal of Geology*, 80(2), 167-184.
- Vafidis D., & Koukouras, A. (1991). *Crassophyllum thessalonicae* sp. n. (Octocorallia, Pennatulacea), from the Aegean Sea. *Zoologica scripta*, 20(3), 201-205.
- Vafidis D, Koukouras A., Voultsiadou- Koukoura E. 1994. With a check list of the Mediterranean species: new information, faunal comparisons. In *Annales de l'Institut oceanographique* (Vol. 70, No. 2, pp. 217-229).
- van Baak, C. G., Stoica, M., Grothe, A., Aliyeva, E., & Krijgsman, W. (2016). Mediterranean-Paratethys connectivity during the Messinian salinity crisis: The Pontian of Azerbaijan. *Global and Planetary Change*, 141, 63-81.
- Veron, J. E., Devantier, L. M., Turak, E., Green, A. L., Kininmonth, S., Stafford-Smith, M., & Peterson, N. (2009). Delineating the coral triangle. *Galaxea, Journal of Coral Reef Studies*, 11(2), 91-100.
- Veron, J. C. E., DeVantier, L. M., Turak, E., Green, A. L., Kininmonth, S., Stafford-Smith, M., & Peterson, N. (2011). The coral triangle. In *Coral reefs: an ecosystem in transition* (pp. 47-55). Springer, Dordrecht.
- Vinogradova, N. G. (1979). The geographical distribution of the abyssal and hadal (ultra-abyssal) fauna in relation to the vertical zonation of the ocean. *Sarsia*, 64(1-2), 41-50.
- Warwick RM, Clarke KR. 1995. New 'biodiversity' measures reveal a decrease in taxonomic distinctness with increasing stress. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 1995; 129: 301-305.**

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

- Williams, G. C. (1989). The pennatulacean genus *Cavernularia* Valenciennes (Octocorallia: Veretillidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 95(4), 285-310.
- Williams G.C. 1990. The Pennatulacea of southern Africa (Coelenterata, Anthozoa). *Ann. S. Afr. Mus.* 99: 31-119
- Williams G.C. 1992. Biogeography of the octocorallian coelenterate fauna of southern Africa. *Biol J Linn Soc.* 46(4): 351-401.
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE.* 6(7), e22747.
- Williams G.C. 2015. A new genus and species of pennatulacean octocoral from equatorial West Africa (Cnidaria, Anthozoa, Virgulariidae). *Zookeys.* 546: 39-50.
- Williams G.C. 2017. The genus *Grasshoffia* with the description of a new deep-water species from northern Philippines (Octocorallia: Pennatulacea: Virgulariidae). *Proceedings of the California Academy of Sciences.* 4(64): 95-105
- Williams, G. C., Hoeksema, B. W., & van Ofwegen, L. P. (2012). A fifth morphological polyp in pennatulacean octocorals, with a review of polyp polymorphism in the genera *Pennatula* and *Pteroeides* (Anthozoa: Pennatulidae). *Zoological Studies*, 51(7), 1006-1017.
- Wilson E.B. 1883. The development of *Renilla*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.* 174: 723-815.
- Wilson G.D.F. 1999. Some of the Deep-Sea Fauna Is Ancient. *Jan H. Stock Memorial Issue. Crustaceana.* 72 (8): 1019-1030.
- Wilson G., Desai A.A., Sim D.A., Gruber M.A., Lester P.J. 2014. The association between invasive *Lantana camara* and seedlings/saplings of a plant community in Mudumalai Tiger Reserve, India. *Journal of Tropical Ecology.* 30(6): 551-563.
- Zeppilli, D., Vanreusel, A., & Danovaro, R. (2011). Cosmopolitanism and biogeography of the genus *Manganonema* (Nematoda: Monhysterida) in the deep sea. *Animals*, 1(3), 291-305.
- Zibrowius, H. (1995). The “Southern” *Astroides calycularis* in the Pleistocene of the northern Mediterranean—An indicator of climatic changes (Cnidaria, scleractinia). *Geobios*, 28(1), 9-16.**

6.7 Material Suplementario

Tabla S6.1. Categorías zoogeográficas resultantes de la disposición de las ecorregiones. Azul, endemismo; naranja, distribución amplia; gris, cosmopolitismo; amarillo, otras distribuciones. Consulte la Tabla 1 para ver las abreviaturas de las ecorregiones.

Clases	Cat. zoogeográficas	Abbr.	Ecorregiones
Endemismo	Lusitanian region	LU	LU
	Northern European Seas	NES	NES
	Northwest Atlantic	NWA	NWA
	Temperate North Pacific	NP	NP
	Tropical Western Atlantic	TEA	TEA
	Tropical Eastern Pacific	TEP	TEP
	Temperate Southern Africa	TSA	TSA
	Western Indo-Pacific	WIP	WIP
	Eastern Indo-Pacific	EIP	EIP
	Mediterranean Sea	ME	ME
	Temperate South America	TSAM	TSAM
	Tropical Western Atlantic	TWA	TWA
	Arctic region	AR	AR
	Southern Oceans	SO	SO
Australasia region	AU	TA	
Indo-Central Pacific	CIP	CIP	
Wide Distribution (WD)	WD Atlantic	WDA	NES+LU+ME+TEA+TSA; NES+LU+ME+NWA; NES+LU+NWA+TWA; NES+LU+NWA; NES+LU+TEA; NES+LU+NWA+TWA+TEA; NWA+TWA+TSAM
	WD Indo-Pacific	WDIP	WIP+CIP; EIP+WIP+CIP; WIP+TA; CIP+TA; WIP+CIP+TA; NP+WIP; NP+CIP; NP+CIP+TA; NP+WIP+CIP; NP+WIP+CIP+TA; NP+EIP; NP+EIP+WIP+CIP+TA;
	WD Indo-Pacific and Atlantic	WDIPA	NES+LU+NP+WIP; NWA+NP+TWA+TSAM+WIP+CIP; NP+TWA+EIP+CIP; NP+EIP+TSA+WIP+CIP; NES+LU+NWA+NP+TWA+TEA+TSA+WIP; NES+LU+NWA+TWA+TEA+TSA+WIP; NES+LU+NWA+TWA+TEA+EIP+WIP+CIP; TSA+WIP; TSA+WIP+CIP;

	WD Pacific and Atlantic	WDPA	TSAM+TEP; NP+TSAM+TEP; NES+LU+NWA+TA; NP+TEA; NES+LU+NWA+NP;
	WD in Southern Oceans	WSO	TA+SO; TSA+SO
Cosmopolitanism	Cosmopolitan	CO	AR+NES+LU+ME+NWA+TWA+TEA+TSA+TA; NES+LU+ME+NWA+NP+TSA+WIP+TA; NES+LU+NWA+NP+TWA+TEA+EIP+WIP+CIP; NES+LU+NWA+NP+EIP+TSA+CIP+TA; NES+LU+ME+NP+TA+SO; NES+LU+NWA+NP+TWA+TEA+EIP+TSA+WIP+CIP+TA; NES+LU+ME+NWA+NP+EIP+TSA+CIP+TA; NP+EIP+WIP+CIP+SO
Other Distribution	Atlantic American	A	TWA+TSAM
	Arctic-Atlantic region	AA	AR+NES; AR+NES+LU+TSA
	Arctic-Pacific region	APR	AR+NP
	Eastern Atlantic	EA	TEA+TSA
	Eastern Atlantic + Mediterranean	EAM	ME+TEA; NES+LU+ME; LU+ME+TEA
	Northern Atlantic	NA	NES+NWA; NES+LU
	Southern Atlantic	SA	TWA+TEA
	Eastern Pacific	EP	NP+TEP

Tabla S6.3. Distribución batimétrica de especies de pennatulacean por/por géneros

Género	N spp	S	S+B	S+B+A	B	B+A	A
<i>Pteroeides</i>	29	28	1				
<i>Virgularia</i>	18	15	3				
<i>Cavernularia</i>	15	14	1				
<i>Stylatula</i>	11	7	3		1		
<i>Lituaria</i>	10	10					
<i>Pennatula</i>	10	3	4		3		
<i>Acanthoptilum</i>	8	7	1				
<i>Kophobelemnnon</i>	8	2	1	1	2	2	
<i>Sclerobelemnnon</i>	8	7			1		
<i>Umbellula</i>	8	1			3	3	1
<i>Renilla</i>	7	6	1				
<i>Scytalium</i>	7	4	2		1		
<i>Echinoptilum</i>	6	2	1		3		
<i>Protoptilum</i>	6			1	1	4	
<i>Veretillum</i>	6	5	1				
<i>Balticina</i>	5		2	1		2	
<i>Calibelemnnon</i>	5	2	1	1	1		
<i>Sarcoptilus</i>	5	5					
<i>Anthoptilum</i>	4				2	2	
<i>Pseudumbellula</i>	4				1	3	
<i>Ptilella</i>	4		2		2		
<i>Alloptilella</i>	3				3		
<i>Funiculina</i>	3		1	1		1	
<i>Sclerumbellula</i>	3	1				2	
<i>Stachyptilum</i>	3	2				1	
<i>Cavernulina</i>	3	3					
<i>Crassophyllum</i>	2	2					
<i>Grasshoffia</i>	2	1			1		
<i>Gyrophyllum</i>	2				2		
<i>Malacobelemnnon</i>	2	2					
<i>Porcupinella</i>	2						2
<i>Ptilosarcus</i>	2	1	1				
<i>Actinoptilum</i>	1	1					
<i>Amphiacme</i>	1				1		
<i>Amphibelemnnon</i>	1		1				
<i>Chunella</i>	1				1		
<i>Distichoptilum</i>	1					1	
<i>Gilibelemnnon</i>	1		1				
<i>Scleroptilum</i>	1					1	
<i>Scytaliopsis</i>	1		1				
<i>Solumbellula</i>	1					1	
41	220	131	29	5	29	23	3

Tabla S6.4. Distribución de géneros de pennatulacean en cada categoría zoogeográfica

GÉNEROS	Otra Distribución						ENDEMISMOS										AMPLIA DISTRIBUCIÓN					Total spp.									
	SA	A	AA	APR	EA	EAM	EP	NA	CO	LU	AR	AT	AU	CIP	ME	NES	NP	TEA	TEP	TSA	TSAM		TWA	Endem.	WDA	WDIP	WDIPA	WDPA	WIP	WSO	wd.
<i>Acanthoptilum</i>													1			4						3	1							0	8
<i>Actinoptilum</i>																			1				1							0	1
<i>Alloptilella</i>												1	1										1	1						0	3
<i>Amphiacme</i>																							0		1					1	1
<i>Amphibelemnon</i>																			1				1							0	1
<i>Anthoptilum</i>								1				1			1								1			1				1	4
<i>Balicina</i>				1											1								1	1	1		1			1	5
<i>Calibelemnon</i>													1		1							1	1		1	1				1	5
<i>Cavernularia</i>					1								2		2	2		3				1		3		1	1			1	15
<i>Cavernulina</i>													1					1				1		1						1	3
<i>Chunella</i>																							0		1					1	1
<i>Crassophyllum</i>															1		1						1							0	2
<i>Distichoptilum</i>								1															0							0	1
<i>Echinoptilum</i>													4										1		2					1	6
<i>Funiculina</i>								1								1							1			1				1	3
<i>Gilibelemnon</i>												1											1							0	1
<i>Grasshoffia</i>														1									1	1						1	2
<i>Gyrophyllum</i>																							0	1	1					1	2
<i>Kophobelemnon</i>						1		1			1		1			1							1	1		1		1		1	8

<i>Malacobelemnon</i>																						1		1					1	2		
<i>Pennatula</i>				1			1			1				1								1	2	3		1			1	10		
<i>Porcupinella</i>												1											1	1						1	2	
<i>Protoptilum</i>												1											1	4			1			1	6	
<i>Pseudumbellula</i>														1				2				1		1						1	4	
<i>Pterocides</i>				1			1					8		1	1								1		9		9			1	29	
<i>Prilella</i>						1									1							1	1	1						1	4	
<i>Prilosarcus</i>					1											1							1							0	2	
<i>Renilla</i>	1																		3			1	1			2				1	7	
<i>Sarcoptilus</i>												5											1							0	5	
<i>Sclerobelemnon</i>													3										1	1	3		1			1	8	
<i>Scleroptilum</i>																							0		1					1	1	
<i>Sclerumbellula</i>	1																					1	1		1					1	3	
<i>Scytaliopsis</i>																							0		1					1	1	
<i>Scytalum</i>													2									1	1	4						1	7	
<i>Solumbellula</i>																							0		1					1	1	
<i>Stachyprilum</i>						1										1							1		1					1	3	
<i>Stylatula</i>	1						1									3		1	1	3		1							1	1	11	
<i>Umbellula</i>			1						1	2													1		1	1	1	1	1	1	1	8
<i>Veretillum</i>												2											1	1	3		1			1	6	
<i>Virgularia</i>	1	1										2		1	1		1	1				1	1	7		1	1		1	18		
Total general	1	3	1	1	1	3	3	2	5	1	1	6	0	4	1	5	8	4	2	7	6	3	34	11	49	7	6	16	2	32	220	

Tabla S6.5. Número de especies endémicas en cada zona batimétrica por ecorregión

ENDEMISM	NES	LU	ME	NP	TWA	TEA	TSAM	TEP	TSA	WIP	CIP	TA	SO	TOTAL
S	2	1	1	16	9	4	4	2	6	15	26	9	5	100
B	2	0	0	9	4	0	2	0	3	2	7	2	2	33
A	0	0	0	2	0	0	2	0	0	1	1	0	0	6

García-Cárdenas, F.J.
Tesis Doctoral

7 CONSIDERACIONES FINALES

La presente tesis doctoral desarrolla a través de un enfoque multidisciplinar varios aspectos relevantes de la Biología, interconectando disciplinas como la genética, la taxonomía, la histología, la bioestadística, la ecología, y la morfología.

Nuestro material de estudio se ha centrado en el Orden de octocorales estructuralmente más complejo y filogenéticamente más reciente, las plumas de mar (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea) (McFadden *et al.* 2006, Williams *et al.* 2012). Las plumas de mar han sido halladas en todos los océanos del mundo, en un amplio rango batimétrico que abarca desde la zona intermareal hasta las grandes profundidades abisales (Kükenthal & Broch 1910, 1911, Kükenthal 1915, Williams 2011). Son habitantes de fondos blandos, siendo capaces de colonizar una gran variedad de ambientes marinos, como llanuras arenosas intermareales, lodos o fangos, plataformas continentales, pendientes y llanuras abisales, incluso se han descrito recientemente adaptaciones a sustratos rocosos (Williams & Alderslade 2011).

Influencia del progreso lineal

A partir del siglo XVIII (Linneo y coetáneos) se extendió la idea de que todas las formas de seres vivos **constituían una especie de “gran cadena” o “escala”, desde los más sencillos estructuralmente hasta los más complejos (Linnaeus 1758)**. Esta idea también se ha visto reflejada en la ordenación en la que habitualmente se han descrito los diferentes grupos de pennatuláceos, y que va desde las formas más simples consideradas las más primitivas (Veretillidae), hasta las formas más complejas consideradas las más derivadas (Pennatulidae) (Williams 1997, López-González & Williams 2002). Esta seriación o continuidad lineal de los organismos que atiende sólo un punto de vista morfológico es en realidad más una herramienta práctica carente de fondo o intencionalidad filogenética.

Uno de los retos a los que se enfrentó la Cladística fue seleccionar adecuadamente en función a las premisas el grupo externo del estudio (*outgroup*), que debía ser el grupo afín más cercano. Este es uno de los posibles criterios usados para establecer la polaridad en los estados de un carácter, y determinar así la posición relativa de los estados entre primitivos y derivados (Hennig 1966, Wiley *et al.* 1991). Los cladogramas resultantes, que se basan en caracteres morfológicos y proponen hipotéticas relaciones jerárquicas entre taxones, siguen teniendo su utilidad (como únicas hipótesis disponibles) en muchos grupos en los que la morfología es la única fuente de información (Hennig 1966, Lipscomb 1998). En penatuláceos, los primeros análisis cladistas basados en caracteres morfológicos estableciendo polaridades y utilizando el criterio de complejidad estructural son los de Williams (1992), continuados hasta principios del presente siglo (Williams 1997, Pérez & Ocampo 2001, López-González & Williams 2002). A partir de entonces, la irrupción de información molecular en este grupo inicia las propuestas de hipótesis filogenéticas, que hoy día, se siguen debatiendo (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013, García-Cárdenas *et al.* 2020). Además de la selección del *outgroup*, la Cladística se enfrentó a una serie de limitaciones e inconvenientes para establecer clasificaciones, como el reconocimiento de la existencia de homoplasias, que identificarían agrupaciones tradicionales como no naturales (Williams 1997). Las homoplasias (como, por ejemplo, la presencia de hojas polipíferas en plumas de mar) se pusieron claramente de manifiesto con la aplicación de los primeros análisis moleculares en el grupo, aunque, ciertamente, la posibilidad de que algunas expresiones morfológicas no tuvieran un origen común ya fuera advertida por algunos autores casi un siglo antes (ver Hickson 1916: 34).

La incongruencia entre las agrupaciones tradicionales procedentes de los análisis cladísticos basados en caracteres morfológicos (Williams 1992, 1995) y las agrupaciones procedentes del análisis de secuencias de ADN (McFadden *et al.* 2006, Dolan *et al.* 2013, Kushida & Reimer 2019, García-Cárdenas *et al.* 2019, 2020, López-González 2021, López-González & Drewery 2022), no son siempre

fáciles de interpretar y son aun ampliamente no resueltas, mostrando frecuentemente que el recorrido morfológico debe haber sido mucho más extenso que los escasos taxones actualmente existentes.

Las plumas de mar han sido consideradas un grupo que incluye especies principalmente profundas y frecuentemente cosmopolitas (Williams 2011, Pérez *et al.* 2016). Aunque ciertamente las especies de plumas de mar pueden presentar una distribución geográfica amplia, son pocas, apenas cinco de las más de 200 especies consideradas hasta el momento válidas, las que rigurosamente podrían ser potencialmente consideradas cosmopolitas (Williams 2011), y sobre ellas se cierne la sombra de la ausencia de confirmación molecular (o mejor delimitación de la variabilidad morfológica), ya que podríamos estar simplemente ante morfoespecies (= especies morfológicas). Por otro lado, los casos de endemismos son bastante frecuentes (Mortensen *et al.* 2008, Williams 2011, Pérez *et al.* 2016).

Evolución del pensamiento sobre el origen de las plumas de mar

Los primeros estudios relevantes otorgaron a las plumas de mar un origen profundo, debido a que la mayoría de las especies descritas hasta entonces eran de profundidad (mares europeos y noratlántico) y estructuralmente más simples, hipotetizando que su amplia distribución sería una consecuencia de múltiples orígenes a partir de formas prototípicas profundas (como *Archyptilum*) (Kölliker 1870: 449, 1872). Algunos autores posteriores, sin embargo, respaldaron directa o indirectamente un origen somero, y una posterior radiación hacia las profundidades (Koch 1878, Kükenthal 1915, Hickson 1937, Williams 1992, 1997, entre otros). Esta hipótesis se basó en que los pennatuláceos estructuralmente más simples (formas radiales), considerados los taxones y simetrías basales, son principalmente de aguas someras. Este patrón de diversificación ya ha sido defendido en otros grupos zoológicos (Carlgrén 1946, Menzies *et al.* 1973, Scheltema 1989,

Wilson 1999, Gladenkov *et al.* 2002, Rex *et al.* 2005, Mironov *et al.* 2006, entre otros).

Ente los géneros más frecuentes (y diversos) hallados en aguas someras, destacan *Veretillum*, *Cavernularia*, *Pteroeides* y *Virgularia*, cuya distribución abarca desde el Mediterráneo, Atlántico templado, hasta el Indo-Pacífico (Williams 1995, Williams 2011). Los recientes estudios genéticos que incluyen algún representante de estos géneros (Kushida & Reimer 2019) soportan una alta afinidad entre ellos, siendo emplazados en el clado molecular I. Este hecho concuerda con los resultados que obtuvimos en nuestro estudio filogenético. Hickson (1937) ya sugirió que las aguas someras del Indo-Pacífico, en concreto el Archipiélago Malayo, incluyendo **el llamado “triángulo de los corales” (considerado como una zona de especiación para muchas especies de corales, Veron *et al.* 2009, 2011)**, sería un buen candidato para emplazar el posible origen de las plumas de mar.

Actualmente, las reconstrucciones filogenéticas no proporcionan una respuesta clara al origen y morfología de los primeros pennatuláceos, debido al limitado número de especies analizadas molecularmente y, a la escasa resolución a nivel basal de los árboles propuestos, no quedando claro qué taxón es el primero en divergir y, por tanto, ejemplificaría de forma más fiable aspectos morfológicos y biogeográficos del ancestro del linaje (ver McFadden *et al.* 2006, Kushida & Reimer 2019, García-Cárdenas *et al.* 2020).

Nuestro conocimiento sobre la distribución de la fauna global de pennatuláceos es aún bastante incompleta siendo las afinidades propuestas tentativas iniciales para tratar de acercarnos a estas cuestiones. En los análisis realizados en esta memoria, la hipótesis más probable sobre el origen de los pennatuláceos parece estar ligada a las aguas someras del Indo-Pacífico, pero reconociendo que, la alternativa basada en un origen profundo no puede ser, por el momento, descartada.

Referencias

- Bayer F.M. 1956. Octocorallia. In: Moore, R.C. ed. Treatise on invertebrate paleontology. Part F. Coelenterata, 166-231. (Lawrence: Geological Society of America and the University of Kansas Press).
- Bayer F.M. 1959. Octocorals from Surinam and the adjacent coast of South America. Studies on the Fauna of Suriname and other Guyanas. 3(1): 1-43.
- Bayer F.M. 1961. The Shallow-water Octocorallia of the west Indian region - A manual for marine biologists. Martinus Nijhoff, The Hague, Netherlands. 373 pp.
- Dolan E., Tyler P.A., Yesson C., Rogers A.D. 2013. Phylogeny and systematics of deep-sea sea pens (Anthozoa: Octocorallia: Pennatulacea). Molecular Phylogenetics and Evolution. 69(3): 610–618.
- García-Cárdenas F.J., Drewery J, López-González P.J. 2019. Resurrection of the sea pen genus *Ptilella* Gray, 1870 and description of *Ptilella grayi* n. sp. from the NE Atlantic (Octocorallia, Pennatulacea). Sci Mar. 83(3):261–276
- García-Cárdenas F.J., Núñez-Flores M., López-González P.J. 2020. Molecular phylogeny and divergence time estimates in pennatulaceans (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). Scientia Marina. 84(4): 317-330.
- Hennig W. 1966. Phylogenetic Systematics. (University of Illinois Press: Urbana, Illinois).
- Herklots J.A. 1858. Notices pour servir à l'étude des polypiers nageurs ou pennatulidés.** Bijdragen tot de Dierkunde. 7:1–31.
- Kölliker R.A. 1872. Morphologie und Entwicklungsgeschichte des Pennatulidenstammes nebst allgemeinen Betrachtungen zu Descendenzlehre. Christian Winter, Frankfurt am Main. 87 pp.
- Kükenthal W. 1914. Zur Systematik der Umbelluliden. Zoologischer Anzeiger. 43(13):630-632.
- Kükenthal W. 1915b. Pennataria. Das Tierreich. Verlag von R. Friedländer und Sohn, Berlin, 43: 1–132.
- Kükenthal W., Broch H. 1910. System und Stammesgeschichte der Seefedem. Zool. Anz. 36: 222–230.
- Kükenthal W., Broch H. 1911. Pennatulacea. Wissenschaftliche Ergebnisse der deutschen Tiefsee-Expedition "Valdivia". 13(2): 113–576.
- Kushida Y., Reimer J.D. 2019. Molecular phylogeny and diversity of sea pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea) with a focus on shallow water species of the north-western Pacific Ocean. Molecular Phylogenetics and Evolution. 131, 233-244. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.10.032>
- Linnaeus C. 1758. Systema naturae. Editio decima, reformata 1: 1–824. Salvii, Holmiae.
- Lipscomb D. 1998. Basics of cladistic Analysis. Weintraub Program in Systematics & Department of Biological Sciences George Washington University. Washington D.C. 1-75.
- López-González P.J. 2021. *Scytalium herklotsi* sp. nov. (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea), the first Atlantic species in the genus *Scytalium* Herklots, 1858. Mar Biodivers. 51(4):1–16.

- López-González P.J., Drewery J. 2022. When distant relatives look too alike: a new family, two new genera and a new species of deep-sea Umbellula-like sea pens (Anthozoa, Octocorallia, Pennatulacea). *Invertebr Syst.* 36(3):199-225. DOI: 10.1071/IS21040.
- López-González P.J., Williams G.C. 2002. A new genus and species of sea pen (Octocorallia: Pennatulacea: Stachyptilidae) from the Antarctic Peninsula. *Invertebrate Systematic.* 16: 919–929.
- López-González P.J., Williams G.C. 2011. A new deep-sea pennatulacean (Anthozoa: Octocorallia: Chunellidae) from the Porcupine Abyssal PLAIN (NE Atlantic). *Helgolands Marine Research.* 65(3): 309.
- McFadden C.S., France S.C., Sánchez J.A., Alderslade P. 2006. A molecular phylogenetic analysis of the Octocorallia (Cnidaria: Anthozoa) based on mitochondrial protein-coding sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 41: 513–27.
- Pérez C.D., Ocampo F.C. 2001. Cladistic analysis of the pennatulacean genus *Renilla* Lamarck, 1816 (Coelenterata, Octocorallia). *Journal of Natural History.* 35(2): 169-173.
- Rondelet G. 1554-1555. *Libri de piscibus marinis, in quibus verae piscium effigies expressae sunt.* Lugduni, apud Matthiam Bonhomme.
- Tixier-Durivault A. 1965. Quelques octocoralliaires australiens. *Bulletin du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris.* (2) 37(4): 705-716.
- Wiley E.O., Siegel-Causey D., Brooks D.R., Funk V.A. 1991. *The complete cladist: a primer of phylogenetic procedures* (Vol. 19). Lawrence, Kansas: Museum of Natural History, University of Kansas.
- Williams G.C. 1992. Biogeography of the octocorallian coelenterate fauna of Southern Africa. *Biological Journal of the Linnean Society.* 46: 351-401.
- Williams G.C. 1995. Living genera of sea pens (Coelenterata: Octocorallia: Pennatulacea): illustrated key and synopses. *Zoological Journal of the Linnean Society.* 113(2): 93–140.
- Williams G.C. 1997. Preliminary assessment of the phylogeny of Pennatulacea (Anthozoa: Octocorallia), with a reevaluation of Ediacaran frond-like fossils, and a synopsis of the history of evolutionary thought regarding the sea pens. *Proceedings of the Sixth International Conference on Coelenterate Biology.* 497-509.
- Williams, G. C. 1999. *Index Pennatulacea: Annotated bibliography and indexes of the sea pens (Coelenterata: Octocorallia) of the world 1469-1999.* *Proceedings of the California Academy of Sciences*, (2).
- Williams G.C. 2011. The Global Diversity of Sea Pens (Cnidaria: Octocorallia: Pennatulacea). *PLoS ONE.* 6(7), e22747.
- Williams G.C., Alderslade P. 2011. Three new species of pennatulacean octocorals with the ability to attach to rocky substrata (Cnidaria: Anthozoa: Pennatulacea). *Zootaxa.* 3001: 33-48.
- Williams G.C., Hoeksema B.W., van Ofwegen L.P. 2012. A fifth morphological polyp in pennatulacean octocorals, with a review of polyp polymorphism in the genera *Pennatula* and *Pteroeides* (Anthozoa: Pennatulidae). *Zoological Studies.* 51(7): 1006-1017.

8 CONCLUSIONES

Los estudios llevados a cabo en la presente Tesis Doctoral, han permitido extraer las siguientes conclusiones:

(1) Se ha obtenido una filogenia del orden Pennatulacea con una alta cobertura taxonómica y molecular, caracterizando en la mayoría de los casos tres marcadores (dos mitocondriales y uno nuclear) para 22 especies pertenecientes a 11 de los 16 géneros descritos. En este análisis se pone de manifiesto el carácter no natural de muchas de las agrupaciones basadas en similitudes morfológicas (por ejemplo los subórdenes Subselliiflorae/ Sessiliflorae, o las agrupaciones familiares Pennatulidae, Virgulariidae, o Umbellulidae, entre otras).

(2) Además, la aportación de un árbol filogenético calibrado ofrece datos sobre cuándo podría haber sido el origen de las plumas de mar (periodo Cretácico Inferior, ~ 144 Ma) así como cuándo habrían surgido las principales agrupaciones o clados.

(3) Tras la detección de situaciones polifilética en la filogenia realizada, un estudio integrado morfológico y molecular se recupera el género *Ptilella* Gray 1870, reuniendo una serie de especies y morfologías que durante casi un siglo han estado incluidas en el género-tipo *Pennatula*. Este hecho, condujo también a la re-descripción del género *Pennatula*.

(4) Los análisis moleculares, y los detalles micro- y macromorfológicos estudiados en las especies atribuibles al género *Ptilella* una vez diferenciada de *Pennatula*, han permitido la descripción de una nueva especie para la ciencia del Atlántico Noreste, *Ptilella grayi*.

(5) Se ha aportado un nuevo enfoque sobre cómo abordar la variabilidad morfológica de las colonias, no sólo entre individuos, sino dentro de una misma colonia, aplicando hipótesis y métodos utilizados hasta ahora sólo en plantas.

(6) Este novedoso estudio concluye que las plantas terrestres y los pennatuláceos, comparten una forma similar de distribuir la variación fenotípica en estructuras homólogas reiteradas. Esto, abre la puerta a multitud de hipótesis que ya se han estudiado en plantas y que podrían ahora ser planteadas en plumas de mar y otros organismos modulares.

(7) El estudio del esfuerzo reproductor en la especie de aguas someras *Pteroeides spinosum* en el Mediterráneo, incrementa nuestro conocimiento sobre la diferente distribución en la producción de gametos dentro de la colonia, la diferenciación entre la cohorte de ovocitos que se emitirá y aquella que queda en la colonia como reserva en escaso estado de desarrollo. *Pteroeides spinosum* muestra una alta capacidad para emitir gametos, pudiendo una colonia de ~14 cm emitir hasta ~30.000 ovocitos.

(8) Ampliando la línea de trabajo anterior, se realiza un estudio comparado del esfuerzo reproductor entre clases de tamaño, que finalmente se transfieren a clases de edad (a través del análisis de los anillos de crecimiento). El estudio se realizó con material de la especie *Anthoptilum murrayi* procedente de aguas profunda de Islandia. Este tratamiento nos permitirá establecer relaciones entre la tasa de crecimiento de las colonias y la producción de gametos. Los individuos más jóvenes y pequeños presentaban una mayor tasa de crecimiento y menor contenido reproductivo, que las colonias de mayor longitud y edad. Colonias a partir de 119 mm y una edad ~6 años, ya podían contribuir con hasta ~2.000 ovocitos a la población estudiada, que muestra una proporción de sexos 1:1.

(9) Finalmente, el estudio biogeográfico ofrece visión amplia y actualizada sobre la diversidad y distribución global de las plumas de mar en su conjunto. Además, se puede concluir que las delimitaciones entre las ecorregiones inicialmente consideradas **no responden a la verdadera distribución de “faunas” de pennatuláceos**, por lo que se deberían considerar nuevas ecorregiones donde se tenga en consideración cada piso batimétrico.

(10) Las conexiones entre el Índico y el Mediterráneo-Atlántico (corredor Thetys) o entre el actual golfo de Vizcaya y el golfo de León (Parathetys) pueden estar detrás de la distribución disyunta de grupos de especies de pennatuláceos. Además, los patrones de riqueza específica a lo largo de las ecorregiones sugieren el Indo-Pacífico como uno de los candidatos más probables en el origen de los pennatuláceos.