



CENTRO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS
DEL NOROESTE, S.C.

Programa de Estudios de Posgrado

RESPUESTA TRANSCRIPTÓMICA DEL CORAL *Porites*
panamensis EN LAS CERCANÍAS DE UN CAMPO
HIDROTHERMAL EN EL GOLFO DE CALIFORNIA

T E S I S

Que para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Uso, Manejo y Preservación de los Recursos Naturales
(Orientación en Biotecnología)

P r e s e n t a

Erick Xavier Treviño Balandra

La Paz, Baja California Sur, marzo de 2020

ACTA DE LIBERACIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B. C. S., siendo las 12:00 horas del día 04 del Mes de marzo del 2020, se procedió por los abajo firmantes, miembros de la Comisión Revisora de Tesis avalada por la Dirección de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S. C., a liberar la Tesis de Grado titulada:

"Respuesta transcriptómica del coral *Porites panamensis* en las cercanías de un campo hidrotermal en el Golfo de California"

Presentada por el alumno:

Erick Xavier Treviño Balandra


Aspirante al Grado de MAESTRO EN CIENCIAS EN EL USO, MANEJO Y PRESERVACIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES CON ORIENTACIÓN EN Biotecnología

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron su **APROBACIÓN DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA



Dr. Eduardo F. Balart Páez
Co-Director de Tesis



Dr. Michael E. Hellberg
Co-Director de Tesis



Dr. David A. Paz García
Co-Tutor



Dr. Fausto Valenzuela Quiñones
Co-Tutor



Dra. Gracia Alicia Gómez Anduro,
Directora de Estudios de Posgrado y Formación de Recursos Humanos

Conformación de Comités

Comité Tutorial

Dr. Eduardo F. Balart Páez

Co-Director de Tesis

Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.

Dr. Michael E. Hellberg

Co-Director de Tesis

Louisiana State University

Dr. David A. Paz García

Co-Tutor de Tesis

CONACyT - CIBNOR

Dr. Fausto Valenzuela Quiñones

Co-Tutor de Tesis

CONACyT - CIBNOR

Comité Revisor de Tesis

Dr. Eduardo F. Balart Páez

Dr. Michael E. Hellberg

Dr. David A. Paz García

Dr. Fausto Valenzuela Quiñones

Jurado de Examen

Dr. Eduardo F. Balart Páez

Dr. Michael E. Hellberg

Dr. David A. Paz García

Suplente

Dr. Fausto Valenzuela Quiñonez

Resumen

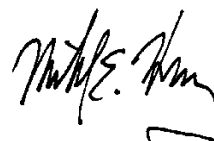
Los corales son organismos de vida sésil conocidos por conformar arrecifes, considerados como los ecosistemas más productivos del planeta. Gracias a la relación simbiótica con dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae que mantienen a lo largo de su ciclo de vida, algunas especies, como *Porites panamensis*, son capaces de colonizar ambientes limitantes para el desarrollo, desde sitios donde la disponibilidad de recursos es nula hasta ambientes extremos como lo son manantiales y ventilas hidrotermales. Dado que las condiciones imperantes en estos sistemas son similares a los escenarios de variabilidad y cambio climático pronosticados (IPPC-NOAA-NASA), resulta relevante determinar los mecanismos genéticos responsables de la supervivencia coralina. En el presente estudio se documentan dichos mecanismos en el coral *Porites panamensis* en las cercanías de un campo hidrotermal en el Golfo de California. Se determinó: I) la variabilidad en las condiciones fisicoquímicas imperantes en el campo hidrotermal; II) la identidad genética del holobionte (*P. panamensis* y *Cladocopium sp*) en el campo hidrotermal; y III) la respuesta transcriptómica en función de la temporada y el aporte hidrotermal. Se recolectaron muestras de agua (n=8) y tejido (n=40) en Bahía Concepción en dos localidades: Punta Bárbara (sitio con afluencia hidrotermal) y el Requesón (condición control) en verano (Ago-2017) e invierno (Ene-2018). Análisis químico-proximales fueron realizados a las muestras de agua para determinar salinidad (UPS), pH ($-\log[H^+]$), Acidez (CO_3^{2-} mg/L), alcalinidad ($CaCO_3$ mg/L), concentración de nitritos (NO_2 μ M) y sulfatos (SO_4 mg/L). La transición temporal se caracterizó por cambios de temperatura ($8.9 \pm 0.5^\circ$ C) y disponibilidad de nitritos (0.6 ± 0.05 NO_2 μ M). La influencia del aporte hidrotermal resultó en 3 condiciones semejantes a los pronósticos de cambio climático: *Low* (condiciones actuales), *Mid* (condiciones en 2050) y *High* (condiciones en 2100); caracterizados por presentar mayor temperatura, acidez, salinidad y disponibilidad de nitrógeno en la columna de agua. Se realizaron amplificaciones por PCR de las regiones ND1 del hospedero

(*P. panamensis* mtDNA) y *PsbA* del simbionte (*Cladocopium* sp - chlDNA). Estimaciones por Máxima Verosimilitud determinaron la presencia de 2 linajes de *P. panamensis* (n=24, 5 haplotipos) y 1 de *Cladocopium* Clado C (n=10). Los productos de secuenciación (7.2×10^9 lecturas) se ensamblaron en un meta-transcriptoma *DeNovo* con una extensión de 1.68×10^5 transcritos. Durante la transición temporal (verano 2017 - invierno 2018) se documentó la regulación de 12,671 genes expresados diferencialmente (DEGs). Los cambios de temperatura y eutrofización se relacionan con procesos de desarrollo celular (H1D, PPIA, CNFNB, ATLA, TBB1, EEF1A, EIF3C), digestión (TRY7 y DUOX2) y metabolismo energético (MLT7, COX1, NDU4A, ALAD, THIM, 5NT3A). Se presentan los patrones de expresión en las distintas condiciones del campo hidrotermal: *Low* (4089 DEGs), *Mid* (8029 DEGs) y *High* (4092 DEGS) respecto a la condición control (*Ctrl*). En *Low* se observó regulación en la síntesis de proteínas (RL5, UBIQP, RuVB2, TAF2, MYOF) y desarrollo embrionario (TBX20, TIE1, 4ET); En *Mid* regulación del metabolismo antioxidante (WECH, SVBP, TWIH, HSP70, TE1) y transporte de iones (CYBP, ATPB1, PCR2); y en *High* regulación del transporte de lípidos (CRYM, SZT2, OSBL9, NGP, CO2A1, RUXGO). Se concluye que el holobionte *P. panamensis* y *Cladocopium* sp. presenta atributos que le permiten aclimatarse a distintos regímenes de estrés.

Palabras clave: *Porites panamensis*, campo hidrotermal, transcriptómica, cambio climático, aclimatación.



Vo.Bo. Dr. Eduardo F. Balart Páez
Co-Director de Tesis



Vo.Bo. Dr. Michael E. Hellberg
Co-Director de Tesis

Summary

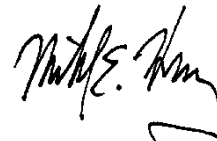
Corals are sessile life organisms known for shaping reefs, considered as most productive ecosystems on the planet. Thanks to the symbiotic relationship with dinoflagellates of the Symbiodiniaceae family throughout their life cycle, some species, such as *Porites panamensis*, can colonize limiting environments for development, from sites where the availability of resources is nil to extremes such springs and hydrothermal vents. Since the prevailing conditions in these systems are like the predicted scenarios of climate change and variability (IPPC-NOAA-NASA), it is relevant to determine the genetic mechanisms responsible for coral survival. In this study, these mechanisms are documented in the *Porites panamensis* populations close to hydrothermal activity in the Gulf of California. We determined: I) the variability in the physicochemical conditions surrounding the *P. panamensis* communities in the hydrothermal field; II) Genetic identity of the holobiont (*P. panamensis* and *Cladocopium* sp) in the hydrothermal field; III) Transcriptomic response related to seasonal transition and the hydrothermal activity. Samples of water (n = 8) and tissue (n = 40) were collected in Bahía Concepción in two locations: Punta Bárbara (site with hydrothermal inflow) and El Requesón (control condition) in summer (Aug-2017) and winter (Jan -2018). Proximal analyses were performed on water samples to determine salinity (UPS), pH ($-\log[H^+]$), Acidity (CO_3^{2-} mg/L), alkalinity (CaCO₃ mg/L), nitrite (NO₂ μM) and sulphates (SO₄ mg/L) concentrations. The temporal transition was characterized by changes in temperature (8.9 ± 0.5 ° C) and nitrite availability (0.6 ± 0.05 NO₂ μM). The influence of the hydrothermal contribution resulted in 3 conditions like climate change forecasts: *Low* (current conditions), *Mid* (conditions in 2050) and *High* (conditions in 2100); characterized by higher temperature, acidity, salinity and nitrogen availability in the water column. PCR amplicons of the host ND1 (*P. panamensis* mtDNA) and symbiont PsbA (*Cladocopium* sp-chlDNA) were performed. Estimates by Maximum Likelihood determined the presence of 2 lineages of *P. panamensis* (n = 24, 5 haplotypes) and 1 of *Cladocopium* Clade C (n = 10). The sequencing products (7.2×10^9 readings) were assembled into a *DeNovo* metatranscriptome with an extension of 1.68×10^5

transcripts. Seasonal transition regulated the expression of 12,671 genes (DEGs), temperature and eutrophication changes were related to cell growth processes (H1D, PPIA, CNFNB, ATLA, TBB1, EEF1A, EIF3C), digestion (TRY7 and DUOX2) and energy metabolism (MLT7, COX1, NDU4A, ALAD, THIM, 5NT3A). The expression patterns in the different hydrothermal field conditions are presented: *Low* (4089 DEGs), *Mid* (8029 DEGs) and *High* (4092 DEGs), each condition with the *Ctrl* effect depleted. The effect of *Low* condition regulated the protein synthesis (RL5, UBIQP, RuVB2, TAF2, MYOF) and embryonic development (TBX20, TIE1, 4ET); *Mid* regulation of antioxidant metabolism (WECH, SVBP, TWIH, HSP70, TE1) and ion transport (CYBP, ATPB1, PCR2); and *High* regulation of lipid transport (CRYM, SZT2, OSBL9, NGP, CO2A1, RUXGO). It is concluded that the holobiont *P. panamensis* and *Cladocopium sp* may express attributes that acclimatization to different stress regimes.

Keywords: *Porites panamensis*, hydrothermal field, transcriptomics, climate change, acclimatization.



Vo.Bo. Dr. Eduardo F. Balart Páez
Co-Director de Tesis



Vo.Bo. Dr. Michael E. Hellberg
Co-Director de Tesis

Dedicatoria

A mi madre Rocío Balandra Sánchez

A mi padre Francisco Treviño Cassani

A Irma, Maru, Iliana, Francisco B. S., Alejandro T. C., Elena B. S. † y

Francisco B. Z. †

A mis amigos

Agradecimientos

Al consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por las becas No. 634503 para estudios de posgrado y No. 291250 para realizar una estancia de investigación en el extranjero.

Al Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR) por ofrecerme una matrícula en el programa de Maestría en Ciencias en el Uso, Manejo y Preservación de los recursos Naturales, infraestructura, y facilidades para el desarrollo de mi investigación.

A Louisiana State University (LSU) por ofrecerme un espacio en su institución durante mi visita.

A mis asesores

Eduardo F. Balart Páez por darme la oportunidad de desarrollar investigación en CIBNOR y por su asesoría en el que hacer científico. Michael E. Hellberg por permitirme realizar parte de mi investigación en LSU y hacer del “HellHole” un segundo hogar en Baton Rouge. David A. Paz-García por todos los consejos, guías, reuniones, proyectos, oportunidades y retos que han enriquecido mi formación profesional. Y a Fausto Valenzuela Quiñonez por sus comentarios y aportes a lo largo del desarrollo del proyecto.

Al Laboratorio de Necton y Ecología de Arrecifes del CIBNOR y a sus integrantes, por contribuir en toda la logística y colecta de muestras del presente estudio.

Al Laboratorio Virtual Integrativo para la Biodiversidad Genómica Marina y a sus integrantes por sus aportes en laboratorio, reuniones de trabajo y logístico en el proyecto. Gracias a Sofia, Andrea P., Francisco, Erick, Iris, Ricardo, Andrea L., Karla y David L.

Al Laboratorio Hell Hole de Michael E. Hellberg y a sus integrantes por el apoyo en la logística del proyecto. Gracias a Alicia Reigel, Mark Duhon, Gabi Ayad, Anna Luchessi y Aninha.

Al Laboratorio de Buceo y Embarcaciones del CIBNOR, especialmente a Enrique Calvillo, Jorge Angulo, y a Mario Cota.

Al Laboratorio de Genómica Funcional y Evolutiva de ARNs Regulatorios y a sus integrantes por los múltiples cursos y asesorías a lo largo del proyecto.

A Noemi Bocanegra Castillo por el apoyo en laboratorio y asesoría a lo largo del proyecto.

Al Laboratorio de Cómputo del CIBNOR, especialmente al Lic. En Comp. Horacio Sandoval Gómez

Al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad del CINVESTAD-Irapuato, especialmente a la Dra. Selene Lizbeth Fernández por la asesoría en el trabajo bioinformático.

A mi familia y seres queridos por ser motivo de nuevas aspiraciones, ir más lejos y, sobre todo, de ser feliz.

A mis amigos en la Paz: Abril, Alan, Alejandro, Azucena, Dilan, Fabian, Francisco, Hugo, Isabel, Jorge, Sofia y Sol.

A mis Amigos en el resto de México Carlos, Facundo, Hugo, Israel, Nataly, Olivia y Xavier.

A Verónica Mar por los momentos de reflexión y felicidad, los cuales hacen de mí una mejor persona.

Contenido

Resumen	i
Summary	iii
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
Contenido	viii
Lista de figuras	x
Lista de tablas	xii
Anexos	xiii
1 INTRODUCCIÓN	1
1.1 Corales escleractinios	1
1.2 Calentamiento global	2
1.3 Acidificación de los océanos	4
1.4 Ambientes marginales y resiliencia coralina	6
2 ANTECEDENTES	7
2.1 Estrés por aumento en la temperatura.....	7
2.2 Estrés por acidez	8
2.3 Módulos transcriptómicos detonados por estímulos ambientales	9
3 JUSTIFICACIÓN	10
4 HIPÓTESIS	11
5 OBJETIVOS	12
5.1 Objetivo general.....	12
5.2 Objetivos Particulares	12
6 MATERIALES Y MÉTODOS	13
6.1 Área de estudio.....	13
6.2 Caracterización del campo hidrotermal.....	14
6.3 Determinación de linajes (hospedero y simbiote)	16
6.4 Respuesta transcriptómica.....	17
6.4.1 Preparación de librerías	17
6.4.2 Análisis bioinformático.....	18
7 RESULTADOS	19

7.1	Caracterización del campo hidrotermal.....	19
7.2	Identidad genética.....	22
7.2.1	Hospedero.....	22
7.2.2	Simbionte	23
7.3	Respuesta transcriptómica.....	24
7.3.1	Expresión en función de la temporada	25
7.3.2	Expresión en función del aporte hidrotermal	28
8	DISCUSIÓN	33
8.1	Caracterización del campo hidrotermal.....	33
8.2	Identidad genética.....	35
8.3	Respuesta transcriptómica.....	36
8.3.1	Respuesta en función de la variación temporal	36
8.3.2	Respuesta en función del aporte hidrotermal	38
9	CONCLUSIONES	40
10	LITERATURA CITADA	41
11	ANEXOS	60

Lista de figuras

Figura 1. Diagrama de la estructura anatómica de un coral. A la izquierda se esquematiza un pólipo y las comunidades de zooxantelas presentes, a la derecha se aprecian las capas de tejido (Epidermis y Gastrodermis) y las zooxantelas alojadas en las células del Hospedero (Modificado de LaJeunesse *et al.*, 2012).

Figura 2. Inicio (izquierda) y conclusión (derecha) de un evento de blanqueamiento en un arrecife coralino (AIMS).

Figura 3. Disminución en la densidad del esqueleto calcáreo en condiciones normales y de acidez. Procesos moleculares implicados en la deposición de CaCO_3 (Izquierda) y cortes transversales de esqueletos en distintas condiciones de acidez (modificado de Tambutté *et al.*, 2015).

Figura 4. Área de estudio en Bahía Concepción (punto verde). Ubicación de Punta Bárbara (punto rojo) donde se encuentra el campo hidrotermal y El Requesón (Punto azul) como localidad control.

Figura 5. Similitud entre los pronósticos de cambio climático a finales de siglo y las condiciones presentes en el campo hidrotermal de Punta Bárbara. A) Pronósticos de cambio climático y el efecto en especies de coral constructoras de arrecife (modificado de Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007); B) recolecta de muestras en las condiciones ambientes en el campo hidrotermal que coinciden con A ($CA = Low$, $AdCB = Mid$, y $AsC = High$) y el sitio control (*Ctrl*).

Figura 6. A) Particionamiento Alrededor de Medoides con 3 agrupaciones, los colores representan la temporada (invierno-verano) y la letra la condición de la muestra (*Ctrl*, *Low*, *Mid* y *High*); B) Gráfico de cargas (loadings) del sistema de Componentes Principales por variable, el color del eigenvector representa el porcentaje de contribución al sistema de componentes.

Figura 7. Análisis químico proximal entre el requesón (*Ctrl*) y las condiciones del campo hidrotermal (*Low*, *Mid* y *High*). Se muestran mediciones de concentración de nitritos, acidez (carbonatos) y temperatura entre invierno (izquierda) y verano (derecha).

Figura 8. A) Reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud del hospedero *P. panamensis* en función de la región ND1-ADNmt con valores de soporte por Bootstrap, el color de cada ramificación refleja la composición por haplotipos; B) haplotipos presentes en El Requesón; Y C) haplotipos presentes en el campo hidrotermal.

Figura 9. Reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud del simbionte *Cladocopium*, en función de la región del mini círculo *PsbA^{ncr}* (Modelo F81 + G). En cada nodo se muestra el valor de soporte por Bootstrap. El Color de cada ramificación refleja la composición por haplotipos.

Figura 10. Genes expresados diferencialmente (DEGs) entre la temporada (invierno y verano) y las condiciones del campo hidrotermal. En azul se representa el número DEGs sobre-expresados y de rojo los sub-expresados.

Figura 11. Genes expresados diferencialmente en función de la transición temporal verano-invierno. A) Gráfico de dispersión (MA-plot) donde los puntos rojos representan los DEGs con un FRD <0.05. B) Heatmap con ordenamiento jerárquico entre individuos (columnas) y DEGs significativos (filas).

Figura 12. Genes expresados diferencialmente en función del aporte hidrotermal en 3 condiciones diferentes (FRD <0.05). A) MA-plot *Low_Ctrl*, B) MA-plot *Mid_Ctrl*, C) MA-plot *High_Ctrl* y D) Heatmap con ordenamiento jerárquico entre individuos (columnas) y DEGs significativos (filas).

Lista de tablas

Tabla I. Respuesta de distintas especies de coral a diversos estímulos en el ambiente. Se indican procesos de sobre-regulación (\uparrow) y sub-regulación (\downarrow) en diferentes rutas metabólicas.

Tabla II. Regulación fenotípica en múltiples condiciones de estrés térmico

Tabla III. Genes expresados diferencialmente en función de la transición temporal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

Tabla IV. Genes expresados diferencialmente en la condición *Low* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

Tabla V. Genes expresados diferencialmente en la condición *Mid* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

Tabla VI. Genes expresados diferencialmente en la condición *High* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

Anexos

Anexo I. Lista de secuencias hospedero (ND1) y simbiote (PsbA) de GenBank.

Anexo II. Análisis químico-proximal realizados a las muestras de agua.

Anexo III. Graficas de barras de error sobre los parámetros ambientales entre temporadas (Verano – Invierno) y condiciones (*Ctrl, Low, Mid* y *High*).

Anexo IV. Análisis de componentes principales de la cuantificación de lecturas total. La forma y color de cada punto indican la temporada y condición del individuo muestreado

1 INTRODUCCIÓN

1.1 Corales escleractinios

Dentro del filo de los cnidarios, los corales pétreos (Anthozoa: Scleractinia) son organismos de vida sésil que se caracterizan por presentar un esqueleto de carbonato de calcio (CaCO_3). Su ciclo de vida se encuentra restringido al estado pólipo, principalmente asociados a sustratos rocosos (Veron, 1995).

Anatómicamente están compuestos por dos capas de tejido: la epidermis en contacto con la columna de agua y el exoesqueleto, y la gastrodermis donde se realizan los procesos de digestión. En el caso de los corales zooxantelados, las células de la gastrodermis albergan comunidades de dinoflagelados simbióticos de la familia Symbiodiniaceae, mejor conocidos como zooxantelas (Brusca *et al.*, 2016) (Fig. 1).

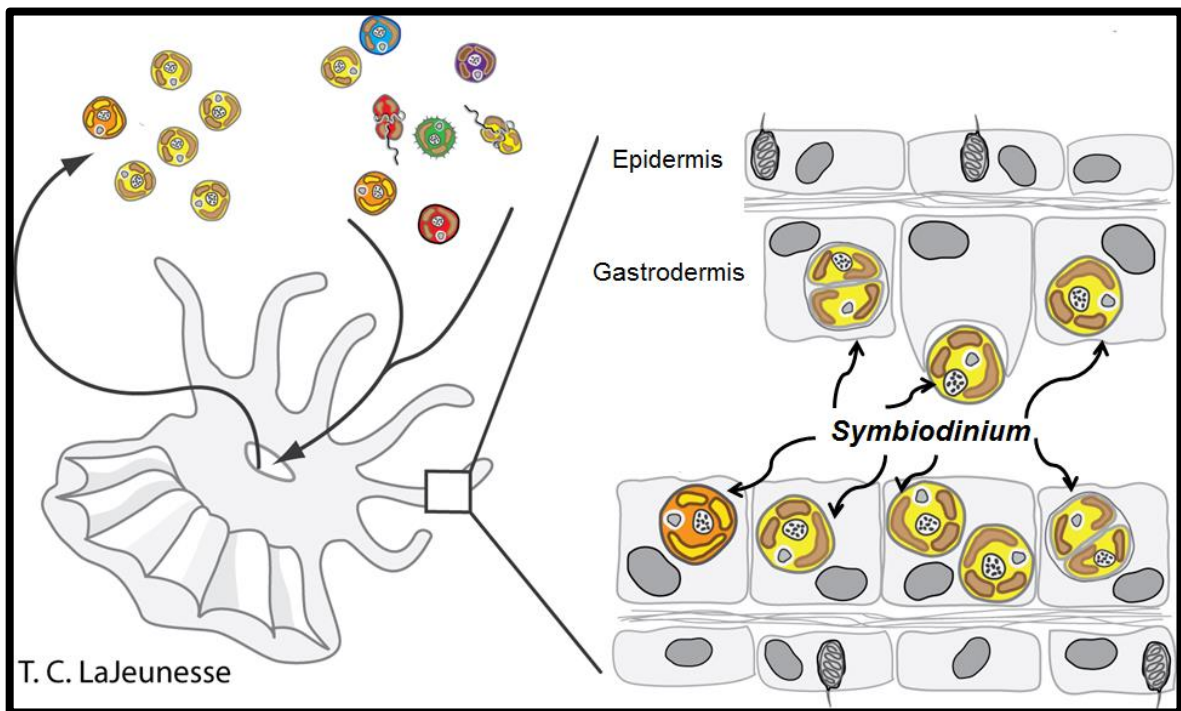


Figura 1. Diagrama de la estructura anatómica de un coral. A la izquierda se esquematiza un pólipo y las comunidades de zooxantelas presentes, a la derecha se aprecian las capas de tejido (Epidermis y Gastrodermis) y las zooxantelas alojadas en las células del Hospedero (Modificado de LaJeunesse *et al.*, 2012).

Las zooxantelas realizan actividad metabólica de manera similar a otros organismos fotosintéticos, a diferencia de que una parte de los productos son traslocados y aprovechados por el hospedero (Muscatine *et al.*, 1984). En contraparte, el hospedero ofrece un medio rico en moléculas orgánicas que son aprovechadas por el simbiote durante los procesos fotosintéticos (Al-Moghrabi *et al.*, 1996). La facultad de mantener los nutrientes dentro del complejo holobionte (hospedero - simbiote) independientemente de su disponibilidad en el medio (Muscatine & Porter, 1977) les ha permitido colonizar la mayoría de los ecosistemas tropicales marinos (Cowen, 1988; Baker, 2003; LaJeunesse *et al.*, 2018).

Los corales pétreos habitan de manera individual o en aglomeraciones coloniales, en estructuras que generalmente conforman parches y arrecifes coralinos. Proliferan en los litorales a largo de la franja ecuatorial, con distribución que se extiende más allá de los trópicos (45° N y 40° S) y de la zona eufótica (>200m de profundidad) (Veron, 2016).

El valor de los servicios ecosistémicos aportados por los arrecifes de coral superan los 3.5×10^5 \$US ha y⁻¹ (Cesar *et al.*, 2003). Estos ecosistemas funcionan como zonas de reproducción, crianza y refugio para más del 50% de la biodiversidad marina del planeta (Allen, 2008), muchas de ellas de interés para el sector pesquero y turístico (McClanahan *et al.*, 2015). Otros servicios ecosistémicos aprovechados por el ser humano son la protección de la franja costera, fijación de carbono y mantenimiento de las redes tróficas (Moberg & Folke, 1999).

A escala global, un estimado del 50% de la cobertura arrecifal coralina se encuentra en algún estado de degradación (Pandolfi *et al.*, 2003) y 1/3 de las especies coralinas se encuentran en riesgo de extinción (Carpenter *et al.*, 2008). De seguir esta tendencia, se pronostica la desaparición de los arrecifes coralinos a final del siglo XXI, producto de los fenómenos del calentamiento global, acidificación y eutrofización de los océanos (Hoegh-Guldberg *et al.*, 2017).

1.2 Calentamiento global

A partir del siglo XIX y hasta la actualidad, la temperatura media de los océanos se ha incrementado en 0.3° C respecto a los últimos 800 millones de años

(Levitus, 2000). El componente más relevante es el incremento en los meses de verano, cuando los máximos de temperatura se prolongan por periodos que rondan entre 3 y 12 semanas (Liu *et al.*, 2003). Durante estos periodos, los corales experimentan la pérdida de tonalidad en el tejido, fenómeno conocido como blanqueamiento (Glynn, 1991) y ocurre por la pérdida zooxantelas y sus pigmentos fotosintéticos (Gates *et al.*, 1992).

El estrés térmico detona una serie de cambios en los atributos fisiológicos del hospedero y la zooxantelas, entre ellos, la producción de radicales libres (Adam-Vizi & Chinopoulos, 2006). Al acumularse, éstos degradan la membrana celular y los productos de las reacciones metabólicas circundantes, (Yakovleva *et al.*, 2009), terminando momentáneamente la relación simbiótica (Dunn *et al.*, 2009) (Fig. 2).



Figura 2. Inicio (izquierda) y conclusión (derecha) de un evento de blanqueamiento en un arrecife coralino (AIMS).

1.3 Acidificación de los océanos

El término acidificación hace referencia a la reducción en el potencial de Hidrógeno (pH) del agua circundante de los océanos, como consecuencia del enriquecimiento dióxido de carbono (CO_2) en la columna de agua (Doney *et al.*, 2009). De manera natural el carbono inorgánico se encuentra disuelto en forma de bicarbonato (HCO_3^- – 90%), carbonato (CO_3^{2-} – 9%) y CO_2 (0.01%) en la columna de agua. Al incrementar la disponibilidad de CO_2 , gran parte de este reacciona con el agua para formar ácido carbónico (H_2CO_3), asociándose en HCO_3^- y H^+ (Millero *et al.*, 2002).

En condiciones de elevadas concentraciones de CO_2 , el transporte de iones requiere de más energía para mantener el funcionamiento celular. En conjunto a una menor disponibilidad de CO_2 , los organismos calcificantes son poco eficientes para capturar y depositar CaCO_3 (Portner *et al.*, 2004), reflejándose en una disminución en las tasas de calcificación (Ries *et al.*, 2014). En el caso de los corales, las estructuras calcáreas circundantes a los sitios de calcificación son afectados por una disminución del CO_3^{2-} , resultando en el desarrollo de esqueletos con menor densidad (Erez *et al.*, 2011; Mollica *et al.*, 2017) (Fig. 3)

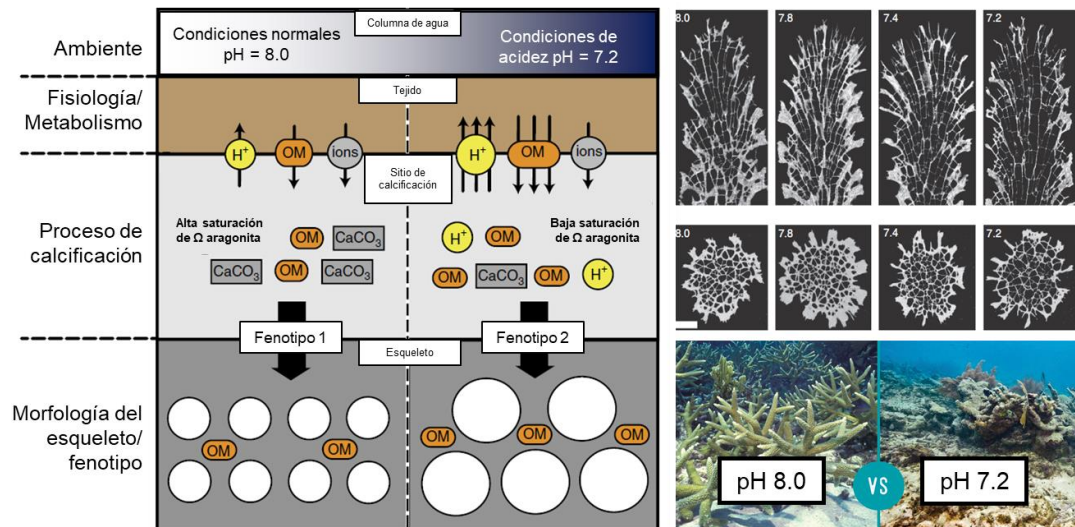


Figura 3. Disminución en la densidad del esqueleto calcáreo en condiciones normales y de acidez. Procesos moleculares implicados en la deposición de CaCO_3 (Izquierda) y cortes transversales de esqueletos en distintas condiciones de acidez (modificado de Tambutté *et al.*, 2015).

Se ha visto que estímulos como variación en la irradiancia (Broecker *et al.*, 1968), eutrofización (Diaz-Pulido *et al.*, 2009) e interacciones con otras especies (Hughes *et al.*, 2007) incrementan la vulnerabilidad del hospedero y simbiote ante eventos de variabilidad y cambio climático (Tabla I).

Tabla I. Respuesta de distintas especies de coral a diversos estímulos en el ambiente. Se indican procesos de sobre-regulación (↑) y sub-regulación (↓) en diferentes rutas metabólicas.

Estímulo	Hospedero	Simbiote	Referencia
Variación en la irradiancia	↓Reservas energéticas ↑Blanqueamiento	↓Productividad	Fitt <i>et al.</i> , 2000 Anthony & Kerswell, 2007
Eutrofización	↑Tasas de alimentación ↓Tasas de calcificación ↓Integridad del tejido	↑Concentración de pigmentos ↑Productividad	Fabricius, 2005 Fabricius, 2011 Weber <i>et al.</i> , 2006
Interacción con tapetes algales	↓Crecimiento del esqueleto ↓Sobrevivencia	No reportado	McCook <i>et al.</i> , 2001
Sedimentación y turbidez	↑Necrosis	No reportado	Pollock <i>et al.</i> , 2014 Nitschke <i>et al.</i> , 2016
Contaminación por metales	↓Tasas de calcificación ↓Crecimiento del esqueleto	↓Productividad	Bielmyer <i>et al.</i> , 2010 Negri & Hoogenboom, 2011

1.4 Ambientes marginales y resiliencia coralina

Se define como marginal aquellos ecosistemas donde la variación imperante de las condiciones representa un estrés de manera natural (Tigerstedt, 1994). Las regiones de transición latitudinal, localidades con fluctuaciones de temperatura y/o acidez, y sitios extremófilos son limitantes para el desarrollo de corales escleractinios (Kleypas *et al.*, 1999).

Las comunidades coralinas en ambientes marginales presentan fenotipos cercanos a los límites fisiológicos, producto de procesos de aclimatación y/o adaptación (Van-Oppen *et al.*, 2015). Además, se ha documentado que la configuración entre ciertas especies de hospedero y simbiote pueden resultar en holobiontes tolerantes (Berkelmans & Van-Oppen, 2008; Howells *et al.*, 2012). Los ambientes marginales presentan gran similitud a los pronósticos más drásticos de variabilidad climática (IPCC, 2014). Al estudiar las condiciones imperantes y las comunidades aledañas en estos sistemas, es posible determinar una respuesta certera de la biota ante los escenarios de cambio climático venideros (Camp *et al.*, 2018).

P. panamensis es un coral masivo asociado con los simbiositos *Symbiodinium* del clado C (LaJeunesse *et al.*, 2008). Es una especie endémica del Pacífico Oriental, se encuentran entre los 0.5 y 30 metros de profundidad, restringida a rangos de temperatura entre los 18° y 32° C (Norzagaray-López *et al.*, 2014). Recientemente se ha documentado la presencia del coral *P. panamensis* en la zona de descarga de una ventila hidrotermal somera en el Golfo de California, con cobertura coralina en condiciones de acidez y en sustratos con temperatura que rebasan los 60° C (Oporto-Guerrero *et al.*, 2016). El presente trabajo busca determinar los mecanismos genéticos que permiten sobrevivir a las comunidades de *P. panamensis* a condiciones de alta temperatura y acidez.

2 ANTECEDENTES

2.1 Estrés por aumento en la temperatura

Los primeros eventos de blanqueamiento coralino fueron documentados en el Pacífico panameño durante El Niño Oscilación del Sur (ENSO) de 1982-83 (Glynn, 1983), con más del 90% de las comunidades afectadas durante la fase cálida (Glynn, 1985; Glynn, 1990). Posteriormente, reportes constantes de blanqueamiento en todo el Pacífico tropical sugirieron que esta respuesta es detonada por el aumento en la temperatura de los océanos, principalmente durante el verano (Hoegh-Guldberg & Smith, 1989; Brown & Suharsono, 1990).

El inicio de un evento de blanqueamiento surge como un incremento anómalo en la temperatura de la columna de agua, mayor al máximo anual ($>0.5^{\circ}\text{C}$) y que puede prolongarse hasta por una temporada completa (3-12 semanas) (Gates, 1990). Durante la anomalía térmica, los corales experimentan un cambio proporcional al incremento en la temperatura (Tabla II), el cual concluye en general con la muerte de las células hospederas (Hoegh-Guldberg, 1999). La mayoría de los mecanismos fisiológicos afectados son producto de daño por estrés oxidativo, cuando la producción y liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) superan el metabolismo antioxidante, tanto del coral como del simbiote (Weis, 2008).

La disminución en las tasas de fotosíntesis bruta, resiliencia de los fotosistemas y productividad primaria refleja que el daño oxidativo afecta 3 procesos fisiológicos principalmente: I) la captación de energía lumínica por las antenas intrínsecas del tilacoide (Warner & Suggett, 2016), II) la producción y regulación de carbono inorgánico disuelto (DIC) en el ciclo de Calvin-Benson (Oakley *et al.*, 2014), y III) reacciones que mantienen en equilibrio los ciclos el nitrógeno y fósforo dentro del holobionte (Ezzat *et al.*, 2016).

Tanto el hospedero como el simbiote son capaces de producir moléculas antioxidantes ante exposiciones prolongadas de estrés térmico (Hawkins *et al.*, 2015; Krueger *et al.*, 2015). No obstante, la producción crónica de ROS y el consecuente daño por per-oxidación a las membranas del simbiosoma pueden

resultar en la pérdida del simbiote, o en la pérdida conjunta con la célula del hospedero (Weis, 2008; Paxton *et al.*, 2013).

Tabla II. Regulación fenotípica en múltiples condiciones de estrés térmico.

Espece (s)	Origen del atributo	Atributo afectado	Referencia
<i>Siderastrea radians</i> <i>Agaricia agaricites</i> & <i>Acropora lamark</i>	Hospedero	Densidad zooxantelas	Warner <i>et al.</i> , 1996
<i>Acropora intermedia</i>	Hospedero	Reservas lipídicas	Kenneth <i>et al.</i> , 2007
<i>Aiptasia</i> sp.	Hospedero	Grosor del ectodérmo	Dunn <i>et al.</i> , 2012
<i>Aiptasia</i> sp.	Hospedero	Grosor del endodérmo	Dunn <i>et al.</i> , 2012
<i>Symbiodinium</i> sp.	Simbionte	Fotosíntesis bruta	Jones <i>et al.</i> , 1998
<i>Symbiodinium bermudense</i>	Simbionte	Productividad	Lesser <i>et al.</i> , 1996
<i>Symbiodinium bermudense</i>	Simbionte	Estrés oxidativo SOD	Lesser <i>et al.</i> , 1996
<i>Monastrea annularis</i>	Simbionte	Integridad del fotosistema	Warner <i>et al.</i> , 1999
<i>Acropora digitifera</i> <i>Pavona decussata</i> , <i>Stylophora pistillata</i> <i>Pocillopora damicornis</i>	Simbionte	Resiliencia	Takashi <i>et al.</i> , 2004

2.2 Estrés por acidez

Junto a un aumento de la temperatura superficial, se ha visto un incremento en la concentración atmosférica de CO₂ (Doney *et al.*, 2009). Los océanos absorben parte del CO₂ atmosférico y lo convierten en ácido carbónico, el cual es deshidratado en H⁺ en iones HCO₂. La columna de agua al acidificarse por el aporte de H⁺, inhibe la precipitación de carbonato de calcio y, por ende, en la formación de estructuras calcáreas en los organismos marinos (Fabricius *et al.*, 2011). Durante la esqueletogénesis, los corales acentúan partículas amorfas de carbonato de calcio en los centros de calcificación (sitios iniciales de la calcificación) (Von Euw *et al.*, 2017; Mass *et al.*, 2017). Una vez que contactan con el esqueleto comienzan a

cristalizarse (De Yoreo *et al.*, 2015), modificando la extensión y densidad del esqueleto.

2.3 Módulos transcriptómicos detonados por estímulos ambientales

Los sistemas vivos responden a su entorno modificando su metabolismo, perfilándose hacia el mantenimiento homeostático. Durante la expresión génica en los procesos de homeostasis y aclimatación, un conjunto de genes es “sobre” y “sub” regulados de manera coordinada ante un estímulo particular, a manera de redes o módulos (Civelek & Lusic, 2014).

Mediante esta aproximación, se ha documentado el patrón de respuestas génicas ante condiciones de estrés en corales, que generalmente finalizan en blanqueamiento. Los principales procesos que se ven modificados son: A) elementos del sistema inmune, B) uso de metabolismo lípido-base, C) síntesis de metaloproteinasas, D) procesos de calcificación, E) Actividad transcripcional, F) Producción de proteínas en estado nativo, G) actividad motora en los microtúbulos, H) Oxido-reducción y I) Receptores de membrana tipo G. (Kenkel & Matz, 2017; Rose *et al.*, 2015; Ruiz-Jones & Palumbi, 2017; Thomas & Palumbi, 2017; Wright *et al.*, 2015).

La presente propuesta busca comprender los procesos moleculares que permiten la supervivencia del coral *Porites panamensis* en la cercanía del campo hidrotermal. Para ello, se busca caracterizar el transcriptoma del coral *P. panamensis* y de su simbiote al centro del Golfo de California, y determinar los mecanismos que son detonados ante el estímulo que la ventila hidrotermal representa.

3 JUSTIFICACIÓN

El Golfo de California es una región limitante para el desarrollo coralino. Presenta condiciones de estrés como fluctuaciones de temperatura, baja disponibilidad de carbonatos y periodos de eutrofización a lo largo de la transición Invierno-Verano.

P. panamensis es una especie dominante en las comunidades coralinas del Golfo de California (Glynn *et al.*, 2016). Su capacidad de aclimatación ante condiciones de estrés, le permite habitar en ambientes limitantes para el desarrollo (Oporto-Guerrero *et al.*, 2018; Lenz & Edmunds, 2017).

Determinar los mecanismos regulatorios involucrados en la supervivencia coralina permitirá un manejo de los arrecifes coralinos en ámbitos de conservación y aprovechamiento antes los escenarios de cambio climático a finales de siglo.

4 HIPÓTESIS

En ambientes marginales, los corales zooxantelados experimentan procesos regulatorios (hospedero – simbiote) ante fenómenos de variabilidad climática. Dicha capacidad permite el desarrollo de comunidades coralinas en condiciones limitantes para el desarrollo, como lo son ventilas hidrotermales. Dado que las comunidades de *P. panamensis* contiguas al campo hidrotermal se encuentran en condiciones de alta temperatura, eutrofización y acidez, se espera la expresión de mecanismos de regulación homeostática (e.g. metabolismo energético, sistema inmune y desarrollo).

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Determinar la respuesta transcriptómica del coral *Porites panamensis* en las cercanías de un campo hidrotermal en la región central del Golfo de California.

5.2 Objetivos Particulares

I) Determinar las características de la columna de agua en el campo hidrotermal

II) Determinar el linaje genético de las comunidades coralinas de *P. panamensis* y *Cladocopium* (hospedero y simbiote) adyacentes al campo hidrotermal.

III) Determinar la respuesta transcriptómica del holobionte en respuesta al cambio temporal

IV) Determinar los mecanismos moleculares del holobionte en respuesta al aporte hidrotermal.

6 MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Área de estudio

El área de estudio se encuentra en Bahía Concepción en la franja occidental del centro del Golfo de California. La región se caracteriza por presentar una marcada estacionalidad con temperaturas máximas de verano de 34° C y mínimas de invierno de 18° C.

Se visitaron dos sitios dentro de la bahía: I) Punta Bárbara (26° 42' 05" N, 111° 51' 50" O) con un régimen hidrotermal de carácter sódicas-cloruradas rico en Si, Ca⁺², Sr⁺², Li⁺² y K⁺ (Leal-Acosta & Prol-Ledesma, 2016); Y II) El Requesón (26° 38' 30" N, 111° 49' 48" W), sitio 8 km al sur (Fig. 4). Se realizaron dos recolectas en cada sitio, durante los meses de septiembre en 2016 (VERANO) y enero 2017 (INVIERNO).

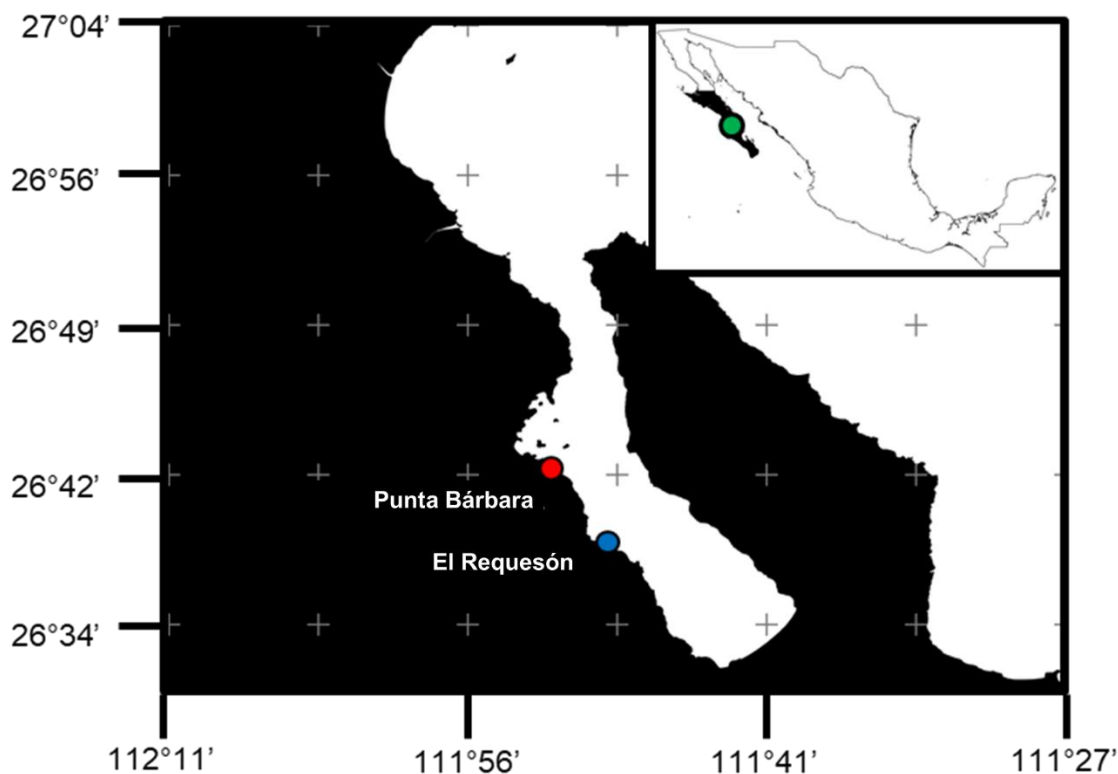


Figura 4. Área de estudio en Bahía Concepción (punto verde). Ubicación de Punta Bárbara (punto rojo) donde se encuentra el campo hidrotermal y El Requesón (Punto azul) como localidad control.

Durante las visitas se trazaron transectos con una extensión de 50 metros de largo hasta 10 metros de profundidad. Se obtuvieron medidas de temperatura del sedimento y la columna de agua adyacente a las comunidades coralinas.

Se determinaron 4 condiciones virtualmente similares a los pronósticos climáticos detallados en la sección 2.1. Se colectaron fragmentos de colonias de *Porites panamensis*, los cuales se fijaron inmediatamente en RNA-later© (Ambion, Merck).

Se colectaron muestras de agua en cada punto/tratamiento del transecto y se resguardaron a -20° C hasta su posterior análisis (Fig. 5). Con ellas se realizaron mediciones de salinidad, pH, acidez, alcalinidad, concentración de nitritos y concentración sulfatos (N=8) (Anexo 2). Los análisis de agua se realizaron en el Laboratorio de Análisis químico proximal de agua del CIBNOR.

6.2 Caracterización del campo hidrotermal

Todos los estadísticos se realizaron por medio del software R-project_v3.6.2 (R-core Team, 2013).

Los datos obtenidos a partir de los análisis de agua fueron estandarizados en logaritmo base 10 (log10). Posteriormente, fueron transformados a una matriz de similitud por distancias Euclidianas y de Mahalanobis, con el fin de obtener la mayor variación posible y determinar el grado de redundancia entre las variables.

Se realizó un análisis de variancia multivariado permutacional (PERMANOVA, per. = 999, método = Mahalanobis) con la paquetería Vegan_2.5 para identificar diferencias entre sitios, temporadas y condiciones. Las agrupaciones más probables se calcularon por el particionamiento alrededor de medoides (PAM) (k = 3, 45% sqrt, método = euclidiano) con la paquetería cluster_v2.1 (Borcard *et al.*, 2018)

Finalmente, se determinó el porcentaje de variación del sistema atribuido a cada variable por el método del análisis de componentes principales (PCA) por medio de la paquetería stats_v3.6.2.

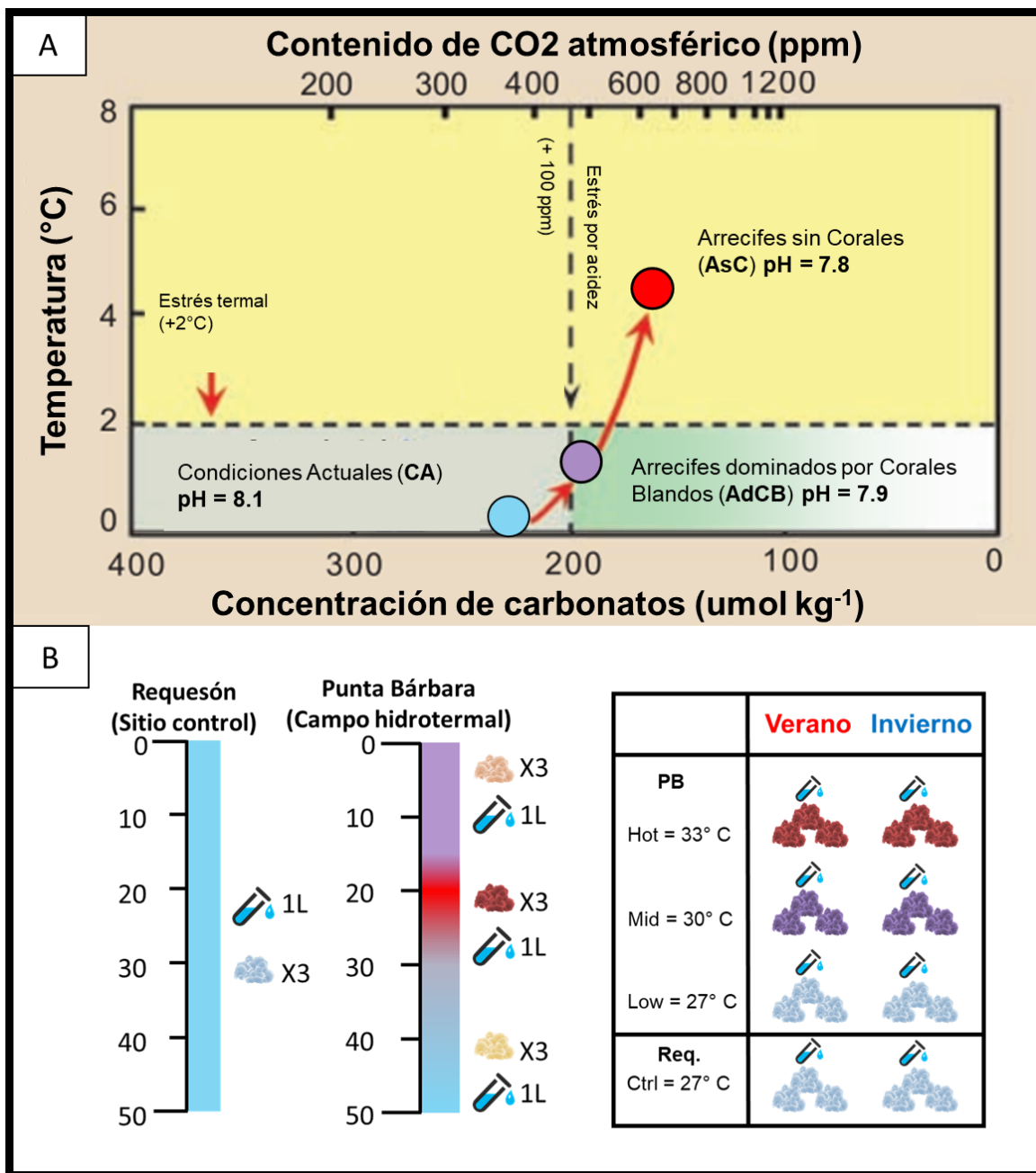


Figura 5. Similitud entre los pronósticos de cambio climático a finales de siglo y las condiciones presentes en el campo hidrotermal de Punta Bárbara. A) Pronósticos de cambio climático y el efecto en especies de coral constructoras de arrecife (modificado de Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007); B) recolecta de muestras en las condiciones ambientales en el campo hidrotermal que coinciden con A (CA = Low, AdCB = Mid, y AsC = High) y el sitio control (Ctrl).

6.3 Determinación de linajes (hospedero y simbiote)

Las muestras de tejido fueron homogeneizadas por medio de disrupción mecánica. Se utilizó el kit DNeasy Blood & Tissue® (QIAGEN) para extraer y purificar el ADN genómico. Posteriormente, se determinó la calidad y cantidad del ADN por medio de espectrofotometría NanoDrop® (Thermo Fisher Scientific) y electroforesis en agarosa.

Para identificar el linaje del hospedero se realizó una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de la región ND-1 (F: CAGGTAACAAAATTGGAGGT, R: AGAGCCAACACACAATAGAA; Paz-García *et al.*, 2016) del ADN mitocondrial, la cual codifica para la NADH-ubiquinona oxidorreductasa cadena 1. Cada reacción de PCR se llevó a cabo en un volumen de 15 µl con 50 ng de ADN, 0.4 mM de cada primer, 2 mM MgCl, 0.3 mM dNTPs, buffer (10 mM Tris-HCl, pH 8.3, 50 mM KCl), 1 unidad de Taq polimerasa (Thermo Fisher Scientific).

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó con las siguientes condiciones: con una desnaturalización inicial de 94° C por 5 min, seguido por 30 ciclos de 95°, 54° y 72° C por periodos de 30, 30 y 75 segundos, respectivamente. Finalmente se realizó el proceso de extensión a 72° C por un periodo de 10 minutos.

Para identificar el linaje del dinoflagelado simbiótico se amplificó parcialmente el mini círculo Psba del ADN del cloroplasto, el cual codifica para las proteínas antena del fotosistema II (F: GCATGAAAGAAATGCA, R: CACAACCTCCC; Moore *et al.*, 2003)

Cada reacción se llevó a cabo en un volumen de 15 µl con 10 ng de ADN, 20 pmol de cada primer, 40 ug de BSA, 150 mM MgCl, 0.1 mM dNTPs, buffer, 1 unidad de Taq Polimerasa (Thermo Fisher Scientific). La PCR comenzó con una desnaturalización a 94° C por 2 min, seguido por 30 ciclos de 94°, 55° y 72° C por periodos de 10, 30 y 120 segundos, respectivamente. Finalmente se realizó el proceso de extensión a 72° C por un periodo de 10 minutos.

Se revisó la calidad de cada cromatograma (trazas) del material de secuenciación con Chromas V10.6® (Technelysium). Se descartaron las trazas de

baja calidad y aquellas en los extremos de los amplicones que incluyeran restos de primer.

Se utilizaron 24 secuencias del Hospedero (ND1) conjunto a 6 genomas mitocondriales de otras especies del género *Porites* para el proceso de alineamiento con MEGAX V10.0.5 (Kumar *et al.*, 2018) (N=30): *P. panamensis* (KJ546638.1), *P. sverdrupi* (KU956960), *P. porites* (NC_008166.1), *P. lutea* (NC_029695.1), *P. lobata* (NC_030186 y KU572435.1).

Respecto al simbiote, se alinearon 10 productos de PCR conjunto a 34 secuencias del marcador PsbA provenientes de distintos linajes de endosimbiontes *Cladocopium* (clado C) (N=44): C1, C31c, C27, C3h y C1e

Se estimó el modelo evolutivo óptimo para cada alineamiento (hospedero y simbiote) con JModelTest (Posada, 2008). Finalmente, se realizaron filogramas por el método de máxima verosimilitud en MEGA y PAUP

6.4 Respuesta transcriptómica

6.4.1 Preparación de librerías

Las muestras de tejido se homogeneizaron por medio de disrupción mecánica, y se utilizó el kit RNeasy MiniKit® (QIAGEN) para la extracción y purificación del RNA total. Posteriormente, se determinó la calidad y cantidad del ARN por medio de espectrofotometría (A260/A280 y 260/230) NanoDrop® (Thermofisher Scientific) y electroforesis en agarosa.

La separación del ARN mensajero (ARNm) se realizó por medio del kitE7490 de aislamiento magnético para mRNA® (NEB). Posteriormente, se llevó a cabo la síntesis de librerías de ADN complementario por medio de la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa reversa (RT-PCR) con el kit E7770 para la preparación de librerías de Illumina Ultra-II® (NEB).

Las librerías se amplificaron conjunto al adaptador universal de Illumina e índices duales (i5 - i7) del kitE6440® (NEB). En total se prepararon 40 librerías (1 librería/ individuo) con índices únicos para ser secuenciadas en conjunto.

Se determinó la integridad de las librerías por medio de electroforesis en bioanalyzer 2000® (Agilent) y fluorometría Qubit3® (NVITROGEN). Las librerías

fueron secuenciadas en 3 líneas en la plataforma HiSeq-4000[®] (Illumina) 150PE (secuencias pareadas forward-reverse) en los laboratorios de NOVOGENE California.

6.4.2 Análisis bioinformático

Una vez obtenidos los productos de secuenciación se descartaron secuencias no deseadas de adaptador, baja calidad ($Q > 30$, Longitud > 80 pb), residuos de la maduración (PolyAAA & PolyTTT) con el software TrimGalore v0.6.2 (modalidad pareadas) (Krueger, 2015). posteriormente se comprobó la calidad con FastQC V0.11.7 (Andrews, 2010).

Una vez concluido el proceso de limpieza, se seleccionaron librerías con la mejor calidad de cada tratamiento y se procedió a realizar un ensamble *De Novo* con Trinity v2.6.6 (Grabherr *et al.*, 2013). Se determinó la calidad del ensamble por medio TrinityStats (Hass *et al.*, 2014) y su extensión por medio de BUSCO (Waterhouse *et al.*, 2017).

Se realizó un índice del transcriptoma y cuantificación (Bootstrap = 100) por el método de pseudo alineamiento con Kallisto V 0.46.2. (Bray *et al.*, 2016). Para el análisis de genes expresados diferencialmente (DE) se utilizó la paquetería de DESeq2 v3.1 (Love *et al.*, 2014) considerando el efecto de la temporada (verano-invierno) y las condiciones (*Ctrl*, *Low*, *Mid* y *High*).

El análisis de expresión diferencial se realizó utilizando dos esquemas de normalización: estabilización de varianza (Huber *et al.*, 2003) y regularización logarítmica (Love *et al.*, 2014). Las isoformas que no tuviesen un patrón de expresión consistente ($FDR < 0.05$) o menores a 3 escalas logarítmicas base 2 (LFC) fueron depuradas de los resultados.

Se obtuvo información sobre: los transcritos (BLASTx - Swiss-Prot), proteínas (BLASTp - Swiss-Prot), dominio de proteínas (HMMER - Pfam), péptidos señal (TMHMM - transcriptoma de referencia), RNA ribosomal (RNAMMER - transcriptoma de referencia). La información recopilada fue anotada con Trinotate a una base de datos SQLite (Bryant *et al.*, 2017).

7 RESULTADOS

7.1 Caracterización del campo hidrotermal

El análisis de particionamiento alrededor de medoides describió el 90% de la variación en el sistema. Se observó un patrón de separación en función del sitio y temporada (Fig. 6A). Diferencias significativas resultaron de la transición temporal ($R^2 = 0.15$, $P < 0.01$), el sitio ($R^2 = 0.13$, $P < 0.01$), la interacción sitio * temporada ($R^2 = 0.15$, $P < 0.05$) y entre las condiciones *Low* * *Mid* * *High* ($R^2 = 0.15$, $P < 0.01$).

Se obtuvieron 3 componentes principales que explicaron el 98% la variación de las condiciones ambientales en el área de estudio (Fig. 6A), asociada a la concentración de nitritos (52%), acidez (28%) y temperatura (10%) (Fig. 6B).

La transición temporal se caracterizó por un patrón de incremento en la concentración de NO_2 y en la temperatura en la columna de agua (Fig. 7).

La concentración de nitritos promedio en invierno fue de $1.2 \mu\text{M}$ comparada con el verano donde los valores en el campo hidrotermal y el sitio control ascendieron a $1.6 \mu\text{M}$ de manera generalizada (Fig.7A)

La diferencia en la temperatura entre temporadas fue de 8.18°C , 20.83°C en invierno y 29.01°C en verano ($W = 0$, $P < 0.01$). En el campo hidrotermal las condiciones *Low* y *Mid* experimentaron un incremento de 7°C , mientras que en la condición *High* el incremento en función de la temporada fue de 4°C (Fig. 7C)

El aporte hidrotermal influenció las condiciones *Mid* y *High* aumentando significativamente la temperatura, carbonatos (acidez) y NO_2 (Fig. 7B). La salinidad y la disponibilidad de sulfatos experimentaron un patrón de incremento similar, aunque no resultó significativo. En contra parte, el pH y la alcalinidad experimentaron un patrón de descenso en el sistema, el cual no resultó significativo (Anexo 1).

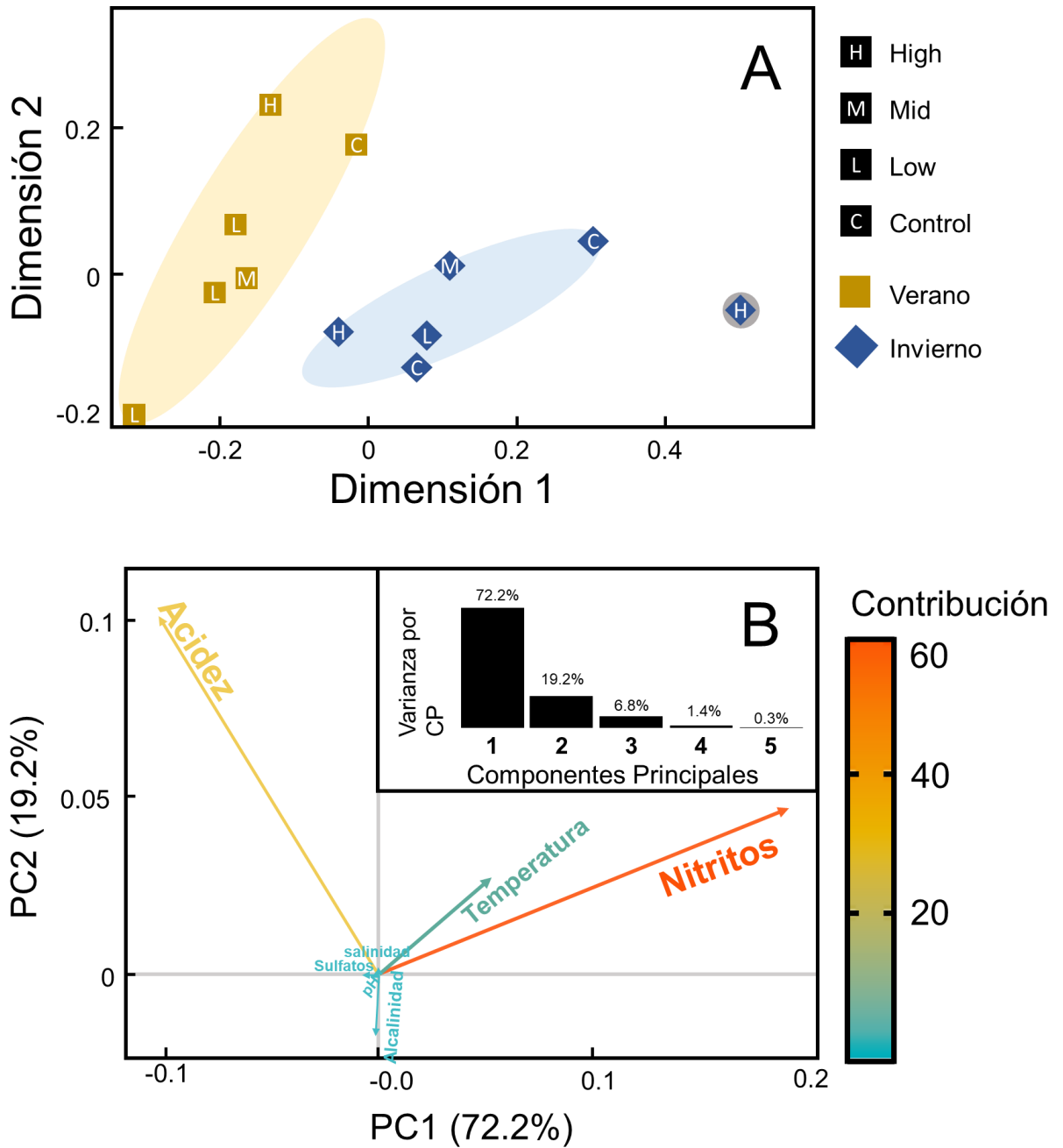


Figura 6. A) Particionamiento Alrededor de Medoides con 3 agrupaciones, los colores representan la temporada (invierno-verano) y la letra la condición de la muestra (*Ctrl*, *Low*, *Mid* y *High*); B) Gráfico de cargas (loadings) del sistema de Componentes Principales por variable, el color del eigenvector representa el porcentaje de contribución al sistema de componentes.

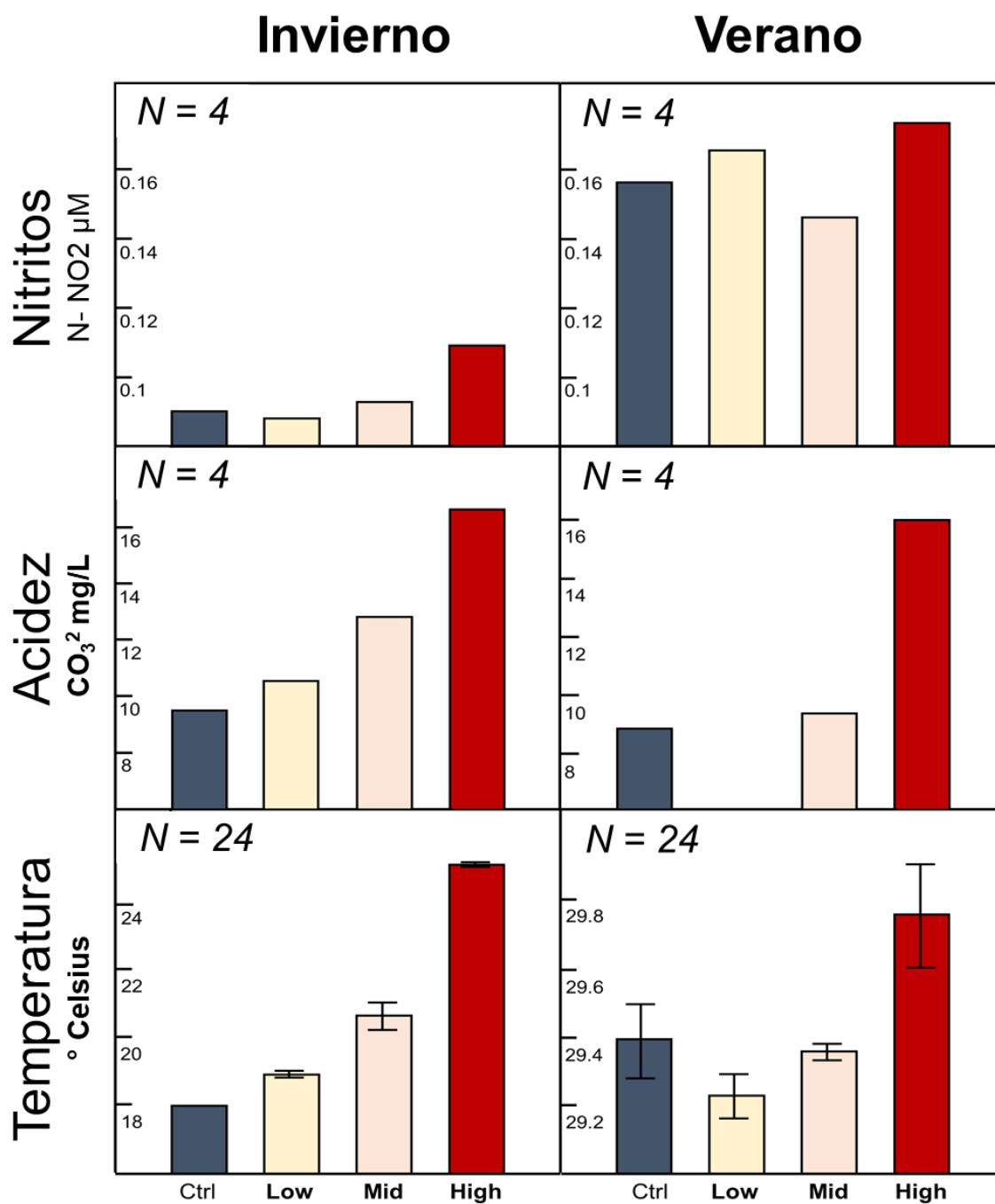


Figura 7. Análisis químico proximal entre el requesón (*Ctrl*) y las condiciones del campo hidrotermal (*Low*, *Mid* y *High*). Se muestran mediciones de concentración de nitritos, acidez (carbonatos) y temperatura entre invierno (izquierda) y verano (derecha).

7.2 Identidad genética

7.2.1 Hospedero

Los individuos *P panamensis* en bahía Concepción pertenecieron a un mismo complejo poblacional, compuesto por 5 haplotipos (I-V).

Los haplotipos I, II y V estuvieron presentes en ambas localidades: I (n = 4) de manera homogénea, II (n = 7) predominante en las condiciones *Low* y *High* del campo hidrotermal, y V (n = 9) dominante en el campo hidrotermal y el Requesón (Fig. 8A).

Dos haplotipos resultaron poco abundantes, III (n = 1) con incidencia única en el Requesón (Fig. 8B) y IV (n = 1) en la condición *High* del campo hidrotermal (Fig. 8C). Signos de politomía en la resolución filogenética impidieron determinar la relación de dos individuos provenientes del campo hidrotermal (569 y 568).

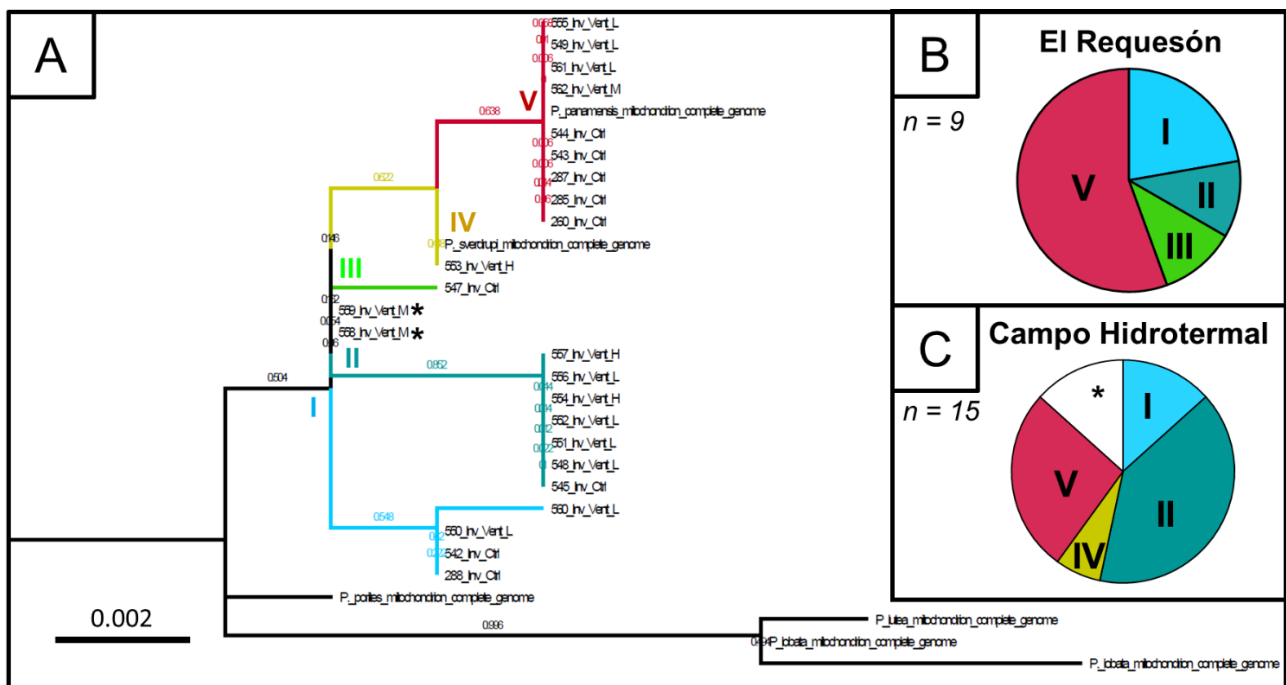


Figura 8. A) Reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud del hospedero *P. panamensis* en función de la región ND1-ADNmt con valores de soporte por Bootstrap, el color de cada ramificación refleja la composición por haplotipos; B) haplotipos presentes en El Requesón; Y C) haplotipos presentes en el campo hidrotermal.

7.2.2 Simbionte

El análisis por máxima verosimilitud demostró la consistencia de un único haplotipo de *Cladocopium* en las comunidades analizadas de *P. panamensis* de Bahía Concepción (Fig. 9).

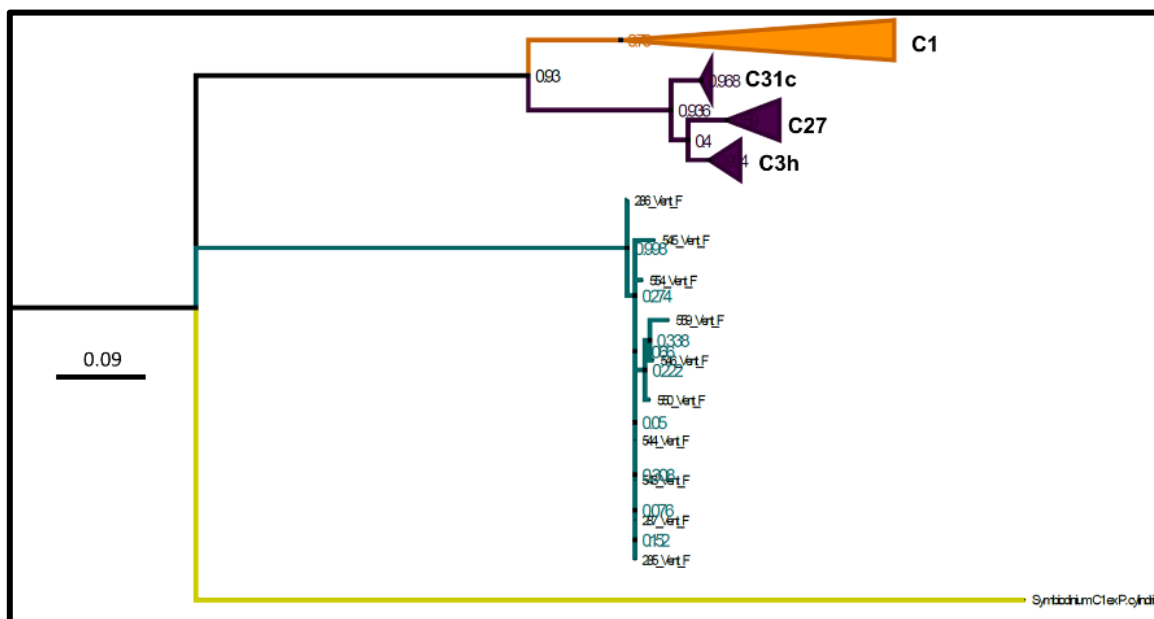


Figura 9. Reconstrucción filogenética por máxima verosimilitud del simbionte *Cladocopium*, en función de la región del mini círculo $PsbA^{ncr}$ (Modelo F81 + G). En cada nodo se muestra el valor de soporte por Bootstrap. El Color de cada ramificación refleja la composición por haplotipos.

7.3 Respuesta transcriptómica

La secuenciación resultó en 2,200 millones de lecturas ($\bar{X} = 30.4 \times 10^6$ r/librería). El ensamble *DeNovo* en Trinity consistió en $>1.68 \times 10^5$ transcritos (Nt50 = 416) y 1.41×10^5 unigenes (Ng50 = 353).

Se identificó la presencia del 98% de los ortólogos universales de metazoarios en el transcriptoma, de 978 ortólogos 779 resultaron completos, 178 fragmentados y 21 ausentes.

Las interacciones más relevantes resultaron en función de la temporada (verano-invierno) y las condiciones presentes en el campo hidrotermal (*Low*, *Mid* y *High*) respecto al control (*Ctrl*) (Fig. 10).

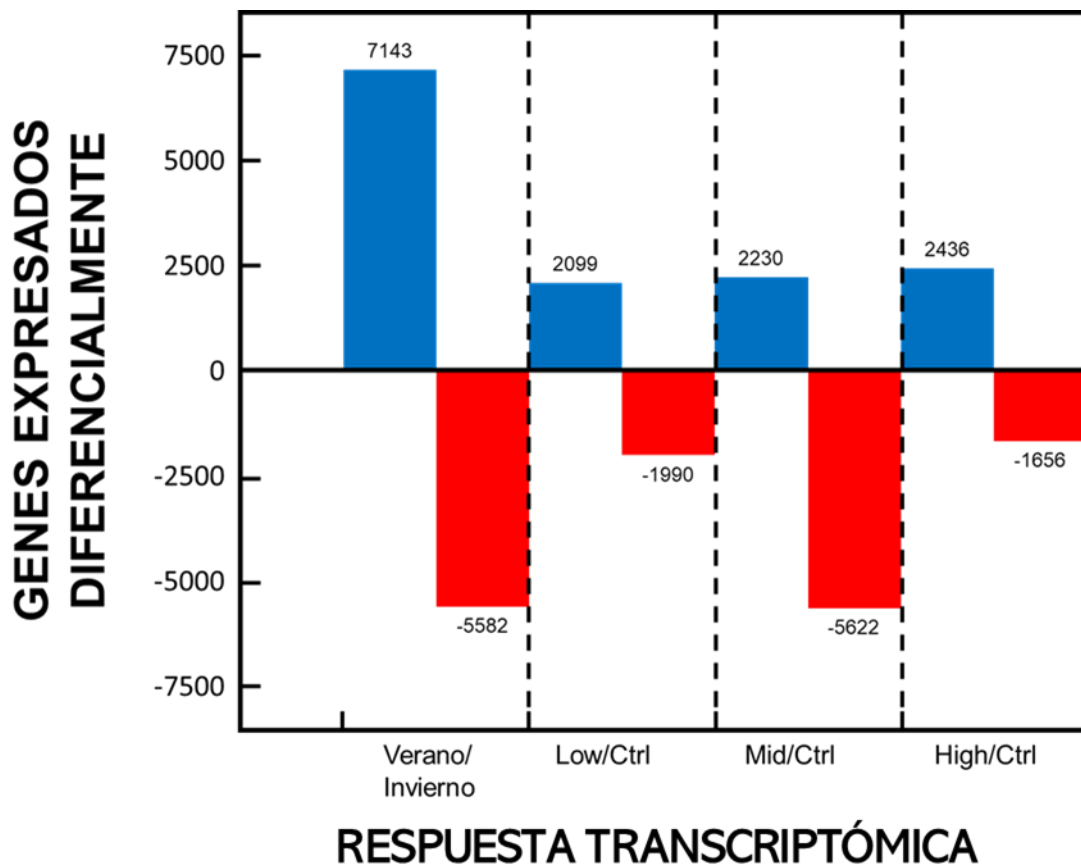


Figura 10. Genes expresados diferencialmente (DEGs) entre la temporada (invierno y verano) y las condiciones del campo hidrotermal. En azul se representa el número DEGs sobre-expresados y de rojo los sub-expresados.

7.3.1 Expresión en función de la temporada

Se documentó la expresión diferencial de 12,725 genes (DEGs), 7143 sobre-expresados y 5582 sub-expresados ($LFC > 3$, $LFC < -3$) durante la transición verano 2017 a invierno 2018 (Fig. 11). Se recopiló la anotación funcional del 68.47% de las secuencias con las bases de datos de GenBank, Uniprot, Kegg, GO y egglog.

Se sobre-expresaron 733 DEGs relacionados con procesos moleculares de la membrana citoplasmática, 718 al citoplasma, 701 del núcleo, 446 del citosol, 332 de la mitocondria, 132 de los microtúbulos y 110 de los ribosomas. Los genes con mayor sobre-regulación fueron PR40A, H1D, TRY7, MLT-7, PPIA, CNFNB, ATLA1, TBB1, GDS1A, COX1.

En contra parte, 655 DEGs fueron sub-regulados en procesos de la membrana citoplasmática, 523 del citoplasma, 267 del núcleo, 219 del citosol, 110 ribosomales, 66 de la mitocondria y 41 de la actividad ribosomal. Los genes más sub-regulados fueron NDU4A, ALAD, THIM, RS12, DDX24, DUOX2, EFMT4, EIF3C, 5NT3A y GBRG4. (tabla 3).

Los procesos moleculares afectados en función de la transición temporal verano-invierno fueron: síntesis de porfobilinogeno, unión del complejo de la proteasoma, la interacción con iones de zinc y calcio, actividad de la acetil-CoA, síntesis ribosomal, síntesis de ATP, maduración del ARN, actividad oxidativa y síntesis de peróxido (NADPH), actividad de diversas metiltransferasas y actividad de canales iónicos activados por glicina.

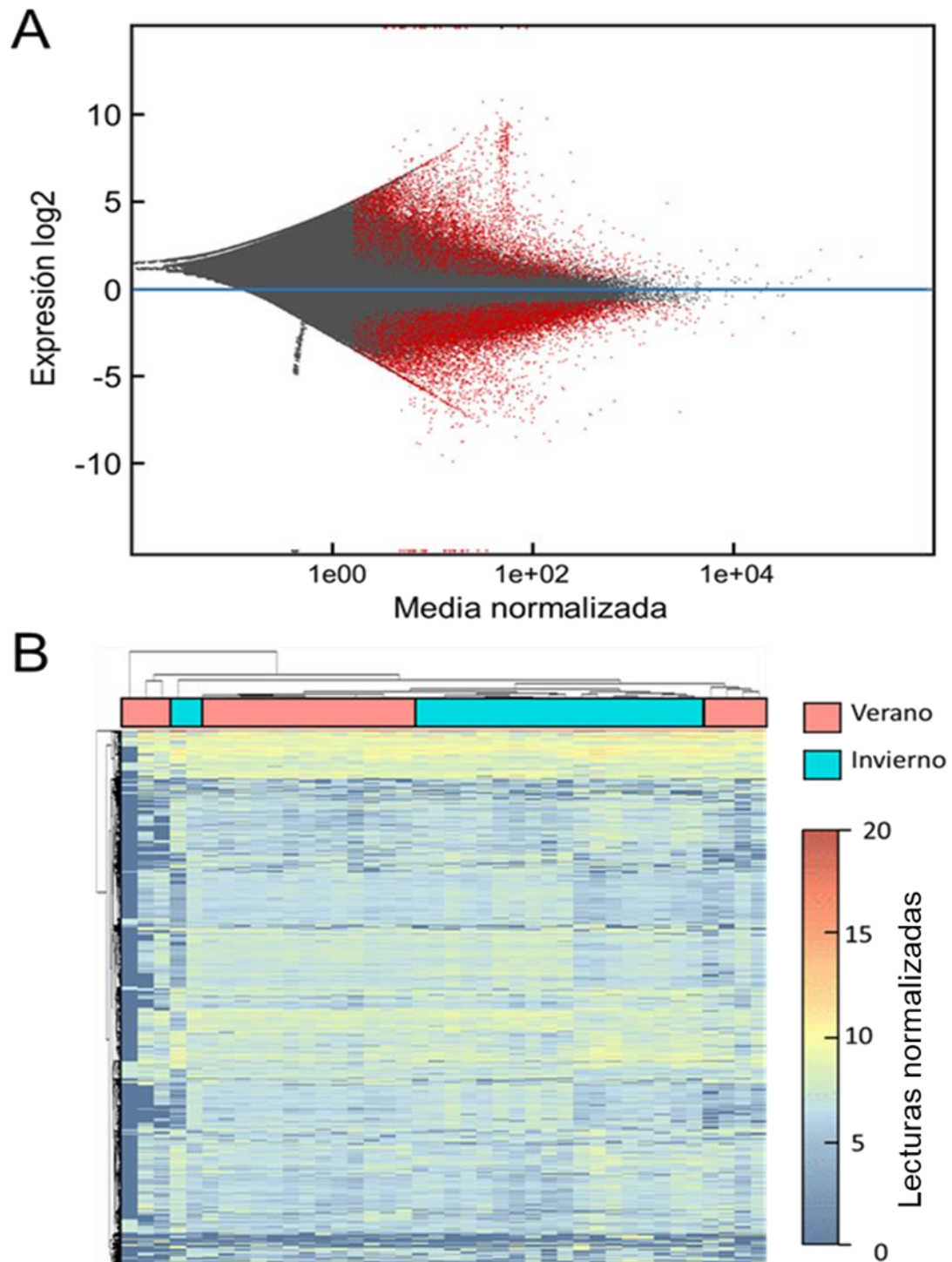


Figura 11. Genes expresados diferencialmente en función de la transición temporal verano-invierno. A) Gráfico de dispersión (MA-plot) donde los puntos rojos representan los DEGs con un FRD < 0.05. B) Heatmap con ordenamiento jerárquico entre individuos (columnas) y DEGs significativos (filas).

Tabla III. Genes expresados diferencialmente en función de la transición temporal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

ID DEL TRANSCRITO	EM	LFC	LFCSE	P. ADJ.
Pre-mRNA-processing factor 40 homolog A PR40A	463.31	21.20	1.98	6.31E-23
Histone H1-delta H1D	414.86	20.89	1.87	6.68E-25
Trypsin-7 TRY7	186.73	20.57	1.74	4.53E-28
Peroxidase MLT-7	171.53	20.09	2.06	4.22E-19
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase PPIA	148.73	19.71	1.72	2.09E-26
Cornifelin homolog B CNFNB	142.96	19.70	2.04	1.40E-18
Atlastin-1 ATLA1	197.30	19.53	1.76	1.36E-24
Tubulin beta-1 chain TBB1	12.02	19.49	5.14	5.88E-03
Rap1 GTPase-GDP dissociation stimulator 1-A GDS1A	168.61	19.47	1.77	2.78E-24
Cytochrome c oxidase subunit 1 COX1	2632.07	19.47	2.38	2.86E-13
Cytochrome c oxidase subunit NDUFA4 NDUA4	79.05	-24.88	2.90	1.30E-14
Delta-aminolevulinic acid dehydratase ALAD	5.17	-22.91	5.16	6.50E-04
3-ketoacyl-CoA thiolase THIM	23.36	-22.91	5.15	6.40E-04
40S ribosomal protein RS12	87.18	-22.68	1.97	1.10E-26
Dual oxidase 2 DUOX2	54.60	-22.22	4.60	1.40E-04
1A lysine methyltransferase 4 EEF1A	11.10	-22.21	2.93	2.50E-11
Eukaryotic translation initiation factor 3 subunit C EIF3C	7.65	-21.47	3.66	9.60E-07
Cytosolic 5'-nucleotidase 3A 5NT3A	105.59	-21.15	3.33	6.10E-08
Glycine receptor subunit beta GBRG4	11.17	-20.59	5.17	3.20E-03
Mitochondrial coenzyme A transporter SLC25A42	7.13	-20.27	5.14	3.65E-03

7.3.2 Expresión en función del aporte hidrotermal

Se documentó la expresión diferencial entre las 3 condiciones en el campo hidrotermal: *Low* (poco influenciado), *Mid* (medianamente influenciado) y *High* (altamente influenciado) respecto a la condición control (El Requesón), resultando en 4089, 8029, 4092 DEGs, respectivamente (Fig. 11). Posterior al proceso de anotación funcional, se recopiló información del 33% de los DEGs.

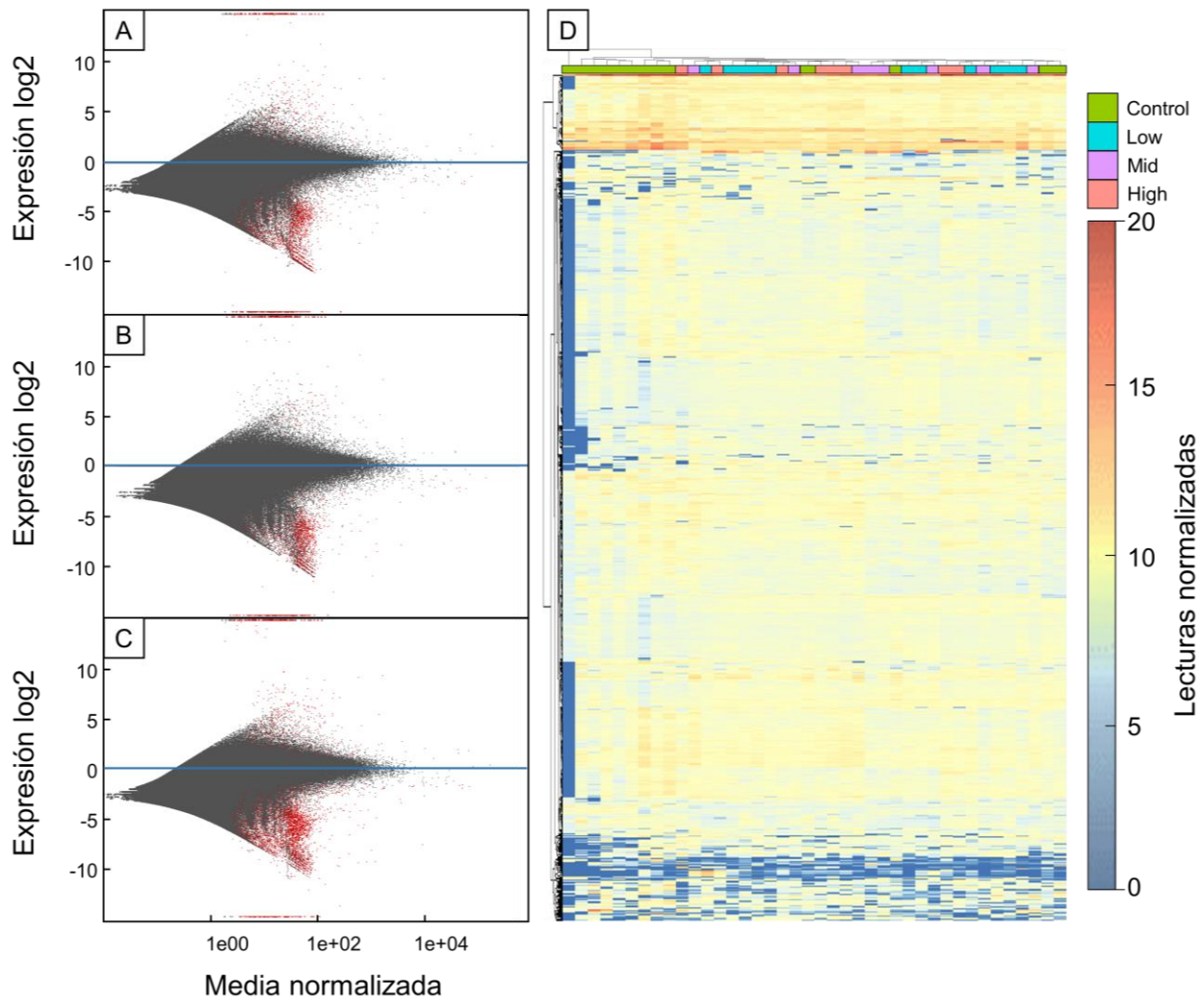


Figura 12. Genes expresados diferencialmente en función del aporte hidrotermal en 3 condiciones diferentes (FRD <0.05). A) MA-plot *Low_Ctrl*, B) MA-plot *Mid_Ctrl*, C) MA-plot *High_Ctrl* y D) Heatmap con ordenamiento jerárquico entre individuos (columnas) y DEGs significativos (filas).

Tabla IV. Genes expresados diferencialmente en la condición *Low* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

ID DEL TRANSCRITO	EM	LFC	LFCSE	P. ADJ.
T-box transcription factor <i>TBX20</i>	125.49	20.35	2.60	2.5E-11
Pre-mRNA-processing factor 40 homolog A <i>PR40A</i>	463.31	19.76	2.13	2.5E-16
Trypsin-7 <i>TRY7</i>	186.73	19.67	1.86	2.3E-21
Cornifelin homolog B <i>CNFNB</i>	142.96	19.42	2.19	8.5E-15
60S ribosomal protein L5 <i>RL5</i>	235.41	19.29	2.30	3.6E-13
Polyubiquitin <i>UBIQP</i>	106.01	19.23	2.43	1.3E-11
Cytochrome c oxidase subunit 1 <i>COX1</i>	83.91	19.19	1.88	8.1E-20
Peroxidase mlt-7 <i>MLT7</i>	171.53	19.18	2.21	3.3E-14
RuvB-like 2	163.82	19.12	2.01	4.1E-17
Transcription initiation factor TFIID subunit 2 <i>TAF2</i>	32.22	19.04	3.61	1.5E-04
Methionine aminopeptidase 2 <i>MAP2</i>	3.23	-30.00	4.54	9.9E-08
Proton-coupled amino acid transporter 1 <i>S36A1</i>	4.09	-29.96	4.74	5.4E-07
Tyrosine-protein kinase receptor <i>TIE1</i>	6.69	-29.94	5.66	1.4E-04
Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase <i>PPIA</i>	11.14	-29.92	5.66	1.4E-04
Eukaryotic translation initiation factor 4E transporter <i>4ET</i>	2.11	-29.91	5.66	1.4E-04
DNA topoisomerase 1 <i>TOP1</i>	6.03	-29.88	5.66	1.4E-04
Cell death specification protein 2 <i>CES2</i>	3.79	-29.84	5.66	1.5E-04
Myoferlin <i>MYOF</i>	3.63	-29.68	5.66	1.7E-04
Pepsin A <i>PEPA</i>	15.97	-29.41	5.62	1.8E-04

La expresión diferencial de la zona no influenciada respecto al sitio control resultó en la sobre-expresión de 2099 y la sub-expresión de 1990 DEGs. La función de 363 genes tuvo una relación directa con la actividad del núcleo (206↑, 157↓), 123 de la mitocondria (96↑, 27↓), 554 del citoplasma (285↑, 269↓), 440 de la membrana plasmática (211↑, 229↓), 327 del citosol (135↑, 192↓), 258 ribosomales (126↑, 132↓) y 53 de los microtúbulos (40↑, 13↓).

Los genes con mayor variación fueron *TBX20*, *PR40A*, *TRY7*, *CNFNB*, *RL5*, *UBIQP*, *COX1*, *MLT7*, *TAF2*, *MAP2*, *S36A1*, *TIE1*, *PPIA*, *DUOX2*, *4ET*, *TOP1* y *CES2* (Tabla 4).

La expresión génica en función de la condición no influenciada resultó en la variación de la actividad estructural ribosomal, ubiquitinación de proteínas, enlace con iones metálicos como cofactores, peroxidación, transporte activo de membrana, transcripción del ADN, síntesis de ATP, comunicación del núcleo, compresión de las cromatinas, transporte de fosfolípidos.

Tabla V. Genes expresados diferencialmente en la condición *Mid* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

ID DEL TRANSCRITO	EM	LFC	LFCSE	P. ADJ.
DnaJ homolog subfamily C member 8 <i>DNJC8</i>	38.70	21.24	3.80	7.2E-06
3'-5' RNA helicase <i>YTHDC2</i>	225.64	19.70	1.98	3.2E-19
<i>WECH</i>	124.63	19.57	5.38	1.5E-02
Trypsin-7 <i>TRY7</i>	186.73	19.55	1.96	2.5E-19
Pre-mRNA-processing factor 40 homolog A <i>PR40A</i>	463.31	19.36	2.25	2.5E-14
Small vasohibin-binding protein <i>SVBP</i>	156.57	19.34	3.57	1.6E-05
Cytochrome c oxidase subunit <i>NDUFA4</i>	89.57	19.15	5.95	4.5E-02
Twinkle homolog protein, chloroplastic <i>TWIK</i>	21.15	19.12	5.95	4.6E-02
Septin-7 <i>SEPT7</i>	87.69	19.11	3.04	1.7E-07
Calcyclin-binding protein <i>CYBP</i>	84.73	19.10	1.94	8.9E-19
Vesicle-fusing ATPase 1 <i>S23A2</i>	58.75	-30.00	3.71	1.2E-12
Protein PLANT CADMIUM RESISTANCE 2 <i>PCR2</i>	40.60	-30.00	3.79	4.8E-12
Sodium/potassium-transporting ATPase subunit beta-1 <i>ATPB1</i>	15.59	-29.97	5.99	1.1E-04
Heat shock protein 70 <i>HS74L</i>	9.03	-29.97	3.74	2.2E-12
Katanin p60 ATPase-containing subunit A1 <i>KTNA1</i>	3.07	-29.93	6.00	1.1E-04
Protein terminal ear1 <i>TE1</i>	13.03	-29.93	6.03	1.3E-04
<i>HBS1L</i>	5.37	-29.91	4.09	3.1E-10
Dynein regulatory complex protein 10 <i>DRC10</i>	4.49	-29.90	4.43	1.1E-08
Xylose isomerase <i>Xyla</i>	7.27	-29.88	6.00	1.2E-04
Ras-related protein <i>RAC1</i>	6.02	-29.87	6.03	1.3E-04

La expresión diferencial entre la zona medianamente influenciada del campo hidrotermal respecto al sitio control resultó en la sobre-expresión de 2230 genes y la sub-expresión de 5622. 610 DEGs estuvieron relacionados con la actividad del núcleo (229↑, 381↓), 228 de la mitocondria (102↑, 126↓), 1067 del citoplasma

(310↑, 757↓), 976 de la membrana plasmática (241↑, 688↓), 448 del citosol (166↑, 282↓), 323 ribosomales (117↑, 206↓) y 60 de los microtúbulos (30↑, 30↓).

Los genes con mayor variación fueron DNJC8, YTHDC2, WECH, TRY7, PR40A, SVBP, NDUFA4, TWIH, SEPT7, CYBP, S23A2, PCR2, ATPB1 y HS74L (Tabla 5).

La respuesta transcriptómica en *Mid* resultó en la variación en el plegamiento de proteínas, plegamiento del ARN, unión de iones (zinc, calcio y magnesio) como cofactor, diferenciación celular, plegamiento en regiones ricas en prolina, actividad de GTPasas y ATPasas, plegamiento de tubulinas, regulación enzimática, plegamiento de microtúbulos y en la actividad de peptidasas tipo cistíneo.

La expresión diferencial entre la zona altamente influenciada del campo hidrotermal respecto al sitio control resultó en la sobre-expresión de 2436 genes y la sub-expresión de 1656. 348 DEGs estuvieron relacionados con la actividad del núcleo (243↑, 105↓), 119 de la mitocondria (94↑, 25↓), 400 del citoplasma (255↑, 145↓), 437 de la membrana plasmática (260↑, 177↓), 281 del citosol (200↑, 81↓), 216 ribosomales (163↑, 53↓) y 51 de los microtúbulos (39↑, 12↓).

Los genes con mayor variación fueron TYB12, OXCT2A, RS14, PK3CD, HIG1A, HSP7C, IF5A1, OSBL9, NGB, PCR2, UVB31, CO2A1, RK2, RS15, CRYM, ACTS, C10, RUXG, MICU1, SZT2 (Tabla 6).

La respuesta transcriptómica en función de la condición altamente influenciada resultó en la variación en el plegamiento de monómeros de actina, actividad transferasa del acetil CoA, plegamiento y mantenimiento de la estructura ribosomal, procesos de oxido reducción, plegamiento hormonal, actividad hidrolítica, plegamiento del RNA, actividad metiltransferasa de ácidos grasos, transporte de membrana de iones de calcio, plegamiento de proteínas desnaturalizadas y actividad de endopeptidasas tipo aspártico.

Tabla VI. Genes expresados diferencialmente en la condición *High* en el campo hidrotermal. EM = Expresión media, LFC = Cambio en escala logarítmica base 2, LFCSE = Error estándar del LFC, STAT = estadístico de Wald, P val. = valor P del estadístico de Wald, P adj. = P valor ajustado de Benjamini-Hochberg (FDR).

ID DEL TRANSCRITO	E.M.	LFC	LFCSE	P. ADJ.
Thymosin beta-12 TYB12	45.99	25.68	5.23	8.1E-04
Succinyl-CoA:3-ketoacid coenzyme A transferase 2A Oxct2a	39.64	24.59	5.59	6.9E-03
40S ribosomal protein RS14	6.77	24.47	5.59	7.5E-03
Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit delta isoform PK3CD	5.41	24.02	5.59	1.0E-02
HIG1 domain family member 1A HIG1A	26.85	23.79	5.59	1.2E-02
Heat shock cognate 71 HSP7C	7.79	23.50	5.59	1.4E-02
Eukaryotic translation initiation factor 5A-1 IF5A1	16.84	23.44	5.59	1.5E-02
Oxysterol-binding protein-related protein 9 OSBL9	4.10	23.43	5.59	1.5E-02
Neuroglobin NGB	44.98	23.29	5.59	1.6E-02
Protein PLANT CADMIUM RESISTANCE 2 PCR2	70.25	23.09	3.55	1.8E-07
UV-B-induced protein UVB31	22.38	-29.98	5.62	1.1E-04
Collagen alpha-1(II) chain CO2A1	4.14	-29.97	4.92	2.1E-06
50S ribosomal protein L2 RK2	23.18	-29.92	3.30	2.0E-15
40S ribosomal protein S15 RS15	12.82	-29.91	5.61	1.2E-04
Ketimine reductase mu-crystallin CRYM	8.75	-29.90	5.66	1.4E-04
Actin, alpha skeletal muscle ACTS	12.20	-29.89	5.61	1.2E-04
Protein C10	8.51	-29.86	5.66	1.5E-04
Small nuclear ribonucleoprotein G RUXG	13.28	-29.82	5.62	1.3E-04
Calcium uptake protein 1 MICU1	8.85	-29.78	5.63	1.4E-04
KICSTOR complex protein SZT2	5.91	-29.31	5.63	2.0E-04

8 DISCUSIÓN

8.1 Caracterización del campo hidrotermal

El GC es un sistema influenciado por la entrada de masas de agua tropicales, ricas en nutrientes al sur y con altas tasas de evaporación en el norte (Lavin & Marinone, 2003).

En verano, la capa de mezcla en la superficie experimenta una estratificación resultando en una disminución en la productividad primaria y, por consiguiente, el enriquecimiento de compuestos nitrogenados (White *et al.*, 2007). En invierno, la productividad primaria se ve favorecida por la incidencia del viento conjunto a la disponibilidad de nutrientes (Parés-Sierra *et al.*, 2003).

El patrón anterior se documentó en Bahía Concepción durante la transición temporal, donde todas las condiciones locales (*Ctrl*, *Low*, *Mid* y *High*) experimentaron cambios significativos en la temperatura y concentración de nitritos (Fig. 7).

Estas características definen al GC como una zona de transición latitudinal, con procesos oceanográficos a micro escala dominantes e influenciados por cambios temporales (Lluch-Cota, 2000).

En el campo hidrotermal, las descargas hidrotermales influenciaron permanentemente las condiciones locales (Anexo 1). Patrones con altas temperatura, acidez (en función del pH, carbonatos y bicarbonatos) y eutrofización se mantuvieron estables a lo largo de la transición temporal.

El aporte hidrotermal da indicios tener origen meteórico con procesos de mezcla por geotermia (Villanueva-Estrada *et al.*, 2012; Leal-Acosta & Prol-Ledesma, 2016). Su influencia impacta negativamente las comunidades adyacentes, limitando el desarrollo coralino (Thiermann *et al.*, 1997; Zeppilli & Danovaro, 2009; Schander *et al.*, 2010; Kan-Chan *et al.*, 2016).

Las condiciones observadas en el campo hidrotermal son similares a las predicciones de cambio climático para finales de siglo en función de la temperatura, acidez y eutrofización (Dahms *et al.*, 2018). El parámetro más variable en el campo hidrotermal fue la temperatura, observándose un patrón de incremento en las

condiciones *Low*, *Mid* y *High* (Fig. 7C). El patrón anterior concuerda con los modelos de trayectoria de calentamiento global, en los que se espera un incremento de temperatura de 1.5° C para el 2050 y de 2.0° en 2100 respecto a la temperatura actual (IPCC, 2018). El estado del pH en el campo hidrotermal presentó un patrón inverso al de temperatura en verano (Anexo 4). En las condiciones *Ctrl* y *Low* se observó un pH de 8.05, el cual descendió drásticamente a 7.9 en las zonas con mayor afluencia hidrotermal (*Mid* y *High*), patrón similar a la prognosis a escala global entre 2050 y 2100 (Bernie *et al.*, 2010)

Para los corales escleratinios, estos ambientes son definidos como marginales por limitar el desarrollo coralino (Glynn & Ault, 1999). La presencia de comunidades coralinas en la proximidad del campo hidrotermal es posible que se deba a la disponibilidad de los iones carbonato y bicarbonato (Anexos), componentes esenciales para la precipitación del esqueleto coralino (Silbiger *et al.*, 2017).

En los corales zooxantelados, esta resistencia es atribuible a la configuración hospedero-simbionte a condiciones locales (Howells *et al.*, 2016). En condiciones marginales se ha documentado la presencia de linajes resistentes a los estresores ambientales (Barshis *et al.*, 2010).

8.2 Identidad genética

P. panamensis presenta 3 metapoblaciones en el pacífico mexicano: 2 en la región centro-sur y una al noroeste (Paz-García *et al.*, 2012). Dentro del CG, existe una segregación latitudinal con múltiples poblaciones, siendo la región central la más diversa (Paz-García *et al.*, 2009)

La presencia de múltiples haplotipos en Bahía concepción (Fig. 8A) podría deberse a que es una zona de transición, con variedad de regímenes oceanográficos locales que favorecen la supervivencia de cada haplotipo de manera independiente (Saavedra-Sotelo *et al.*, 2013).

La presencia de haplotipos dominantes o exclusivos entre el sitio control y el campo hidrotermal (Fig. 8) dan indicio de diferentes grados de resiliencia entre las poblaciones de *P. panamensis*, particularmente ante el estímulo del campo hidrotermal.

En el GC se ha documentado la presencia de 3 linajes de endosimbiontes en los corales *P. panamensis*, con segregación en función de la profundidad e intensidad lumínica (LaJeunesse *et al.*, 2008). Cada linaje se compone de múltiples grupos o tipos filogenéticos con altos niveles de endemismos a escala local (Méndez-Méndez, 2016). Esto explicaría la presencia de un haplotipo presente en toda la comunidad adyacente al campo hidrotermal (Fig. 9).

8.3 Respuesta transcriptómica

8.3.1 Respuesta en función de la variación temporal

La transición temporal se caracterizó por cambios temperatura y concentración de nitrógeno. Los más drásticos ocurrieron en las condiciones *Ctrl* y *Low*, con diferencias de 10° C y 0.6 N-NO₂ μM entre verano e invierno. Consecuentemente, *P. panamensis* tuvo una respuesta transcriptómica que involucró la regulación de 12,671 DEGs (Fig. 7B).

Los procesos con mayor actividad regulatoria se registraron en el metabolismo energético (MLT-7, PPIA, GDS1A, COX1, NDUA4, ALAD, THIM, SLC25A42), desarrollo celular (PR40A, ATLA, TBB1, EIF3C, RS21, CNFNB, GBRG4), expresión génica (H1D, EEF1A, RS12, 5NT3A, EIF3C) y digestión (TRY7, DUOX2).

La fuente de energía principal del holobionte en verano provino del sistema de fosforilación oxidativa (OXPHOS). La sobre-expresión de COX1 y MLT7 dan indicios de procesos de respiración celular y el equilibrio del estado redox (Stonyte, *et al.*, 2018). La subunidad 1 del citocromo c oxidasa (COX1) es el principal constituyente del complejo IV del sistema OXPHOS, se encarga de catalizar la reducción del oxígeno en moléculas de agua. El incremento en la actividad del sistema OXPHOS conlleva a la liberación especies reactivas de oxígeno (ROS) y nitrógeno (NOS) (Belhadj-Slimen *et al.*, 2014). Las Peroxidasas (MLT7) son responsables de catalizar reacciones de oxido-reducción de las especies reactivas en peróxido de hidrogeno en moléculas de agua y oxígeno (Siegbahn *et al.*, 2014). Los eventos de saturación del sistema OXPHOS generalmente se reportan en condiciones de estrés térmico. Este patrón parece ser una respuesta evolutiva en corales de ambientes templados (Maor-Landaw *et al.*, 2017). Sin embargo, la respuesta transcriptómica de *P. panamensis* difirió por la sub-regulación de otras rutas del metabolismo energético, entre ellas la síntesis de Acetil-CoA (THIM) y el transporte de esta en múltiples fases del ciclo de Krebs (SLC25A42). Es posible que la traslocación de compuestos de alta energía por parte del simbionte influyese en el metabolismo del holobionte, inclusive cambios entre el metabolismo autótrofo y heterótrofo (NDUFA4) (Anthony & Fabricius, 2000; Balsa *et al.*, 2012).

Los procesos de desarrollo celular se caracterizan por el incremento en la síntesis de proteínas. múltiples genes relacionados con la síntesis proteica experimentaron sub-regulación, entre ellos EFMY4, EIF3, 5NT3A. El déficit de ciertos productos energéticos durante la polarización de la membrana mitocondrial puede reducir la maduración del mRNA por la 5'-nucleotidasa citosólica 3^a (5NT3A) (Monecke *et al.*, 2014; Amici *et al.*, 2005) y la interacción con factores de iniciación (EIF3C) (Masutani *et al.*, 2007) durante los procesos de traducción (Lee *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2016).

La sobre-regulación en el empaquetamiento del material genético (H1D) y crecimiento celular (XH1D, ATLA1 y TBB1) da indicio de procesos reproductivos en el hospedero (Meiosis) y el simbiote (Mitosis y Meiosis) (Levin *et al.*, 2016). Se documentó la sobre-regulación de proteínas de soporte como atlastinas (ATLA1) y tubulinas (TBB1) (Oakley, 2000). *P. panamensis* es una especie gonocórica con patrones reproductivos asociados a la temporada cálida (Carpizo-Ituarte *et al.*, 2011), entre ellos el desarrollo de células sexuales, desarrollo embriológico por parte del hospedero y clonas del simbiote (Santiago-Valentín, 2019).

Por otra parte, el enriquecimiento de nitrógeno conlleva a condiciones de hipoxia y eutrofización (Fig. 7C). La presencia de agentes patógenos y partículas de alimento representa para el holobionte una fuente de energía por metabolismo autótrofo del hospedero (Anthony *et al.*, 2000). La regulación en la producción de enzimas de digestivas (TRYP7 y PPIA) y producción de metabolitos secundarios (DUOX2 y ALAD) se relacionan con el reconocimiento y catabolismo peptídico por heterotrofia (Ottl *et al.*, 2000). Los corales escleractinios realizan la digestión en cavidades especializadas del endodermo (Raz-Bahat *et al.*, 2017). La acción hidrolítica de las tripsinas (TRYP) se relaciona con procesos de excreción (Babonis *et al.*, 2019) y digestión peptídica en células gástricas (Barrett *et al.*, 2012). La actividad de las peptidil-prolil isomerasas, responsables del plegamiento peptídico en condiciones de apoptosis dan indicios de procesos de ruptura celular en el hospedero. En eventos de simbiofagia (Downs *et al.*, 2009) el hospedero es incapaz

de reconocer las células de las zooxantelas y, por lo tanto, comienza procesos de apoptosis y digestión dirigida al simbiosoma (Mohamed *et al.*, 2016).

8.3.2 Respuesta en función del aporte hidrotermal

El campo hidrotermal presentó temperaturas más elevadas respecto al requesón, variando de 0.2°C a 6° C entre las distintas condiciones (*Low*, *Mid* y *High*) (Fig. 7). La condición más alejada de la afluencia hidrotermal (*Low*) presentó aguas más alcalinas (10 mg/L CaCO₃); Mientras que *Mid* y *High*, condiciones con mayor proximidad a las zonas de descarga presentaron mayor temperatura y salinidad, pH ácido y mayor disponibilidad de carbonatos y bicarbonatos (Anexo III).

P. panamensis experimentó una respuesta transcriptómica de 16,033 DEGs en función de las condiciones del campo hidrotermal: 4089 en *Low*, 7852 en *Mid* y 4092 en *High*. Se documentó una respuesta generalizada (*Low*, *Mid* y *High*) en el desarrollo celular y metabolismo energético (PR40A, RL5, UBIQP, TAF2, MAP2, TIE1, 4ET, TOP1). La plasticidad regulatoria de estos procesos en las distintas condiciones del campo hidrotermal podría ser reflejo de evolución adaptativa de *P. panamensis* a la variación interanual de temperatura y nutrientes en el GC (Sección 8.1, ANEXO I) (DeBiasse & Kelly, 2016; Wall *et al.*, 2017; Bay & Palumbi, 2017).

Las comunidades en *Low* regularon patrones reproductivos (TBX20, UBIQP, RuvB y TAF) e inhibieron los de síntesis proteica (MAP2, S36A1, TOP1) y apoptosis (CES2, MYOF y PEPA). La disponibilidad de derivados del ácido carbónico (HCO₃⁻ y CO₃²⁻) favorecen la regulación simultánea del metabolismo calcificante del hospedero y fotosintético del simbiote (Tresguerres *et al.*, 2016). En sinergia con el incremento de temperatura por el aporte hidrotermal (Anexo III. I-J), es probable que tanto el hospedero como el simbiote presenten actividad reproductiva permanente, como se documentó por la expresión de factores de transcripción responsables del desarrollo ontogénico del hospedero (TBX20, TAFS) (Martínez *et al.*, 1998; Kaufmann *et al.*, 1998; Scholz & Technau, 2003; Sebé-Pedrós & Ruíz-Trillo, 2017) y recombinación del material genético tanto del hospedero como del simbiote (Tsaneva *et al.*, 1993; Jha & Dutta, 2009). El desarrollo desproporcionado de zooxantelas conjunto a la ubiquitinación (UBIQP) dan indicios de simbiofagia

(Gates *et al.*, 1992; Dunn *et al.*, 2002), cuando se libera contenido patógeno del simbiosoma (Jones *et al.*, 2002; Downs *et al.*, 2009; Zinngrebe *et al.*, 2014). La sub-regulación en el transporte de aminoácidos (S36A1), síntesis de proteínas (MAP2, TOP1) y actividad del sistema inmune (CES2, MYOF, PEPA) se pueden atribuir a al impacto externo hacia el estado acido-base celular (Nakamura *et al.*, 2011). El éxito de colonización de *P. panamensis* se debe a que puede reproducirse en condiciones de alta demanda energética a costal del desarrollo ontogénico (Anlauf *et al.*, 2010).

En la condición *Mid* los individuos sobre-regularon la actividad del sistema inmune, principalmente en los procesos de renaturalización de proteínas por modificaciones postraduccionales por ATPasas (DNJC8) y restructuración celular (KTNA1). Esta respuesta parece ser un mecanismo homeostático ante la saturación del sistema OXPHOS en condiciones de alta temperatura (Pinzón *et al.*, 2015). La sub-regulación de otros genes con funciones postraduccionales (HSPs) o transportadores de iones (PCR2 y S23A3) podrían explicarse por la alta disponibilidad de minerales relacionados con el metabolismo calcificante (CO_3^{2-} y CaCO_3) en las proximidades del campo hidrotermal. En la condición *High*, los corales mostraron signos de hipoxia en el sistema OXPHOS (H1GD1), activación del metabolismo de lípidos (OXCT2A y CRYM) y disminución en el transporte de iones (MCU, PCR2, SZT2 y MICU1). La hipoxia es producto del metabolismo heterótrofo simultaneo del hospedero y simbiote (Hemond & Vollmer, 2015) y se detona en condiciones de insuficiencia lumínica para el simbiote o incremento en el metabolismo energético (Wicks *et al.*, 2010).

La regulación del metabolismo energético y actividad reproductiva predominaron en la respuesta transcriptómica en los regímenes de altas temperaturas y acidez en el campo hidrotermal. Es posible que el éxito de *P. panamensis* como especie dominante en regiones marginales se deba a que puede aclimatarse y continuar con la actividad reproductiva del holobionte, aun en condiciones de estrés, inclusive a costa de sub-regular otros procesos de desarrollo coralino (Norzagaray-López *et al.*, 2015).

9 CONCLUSIONES

- El campo hidrotermal presentó diferentes condiciones de acidez y alta temperatura.
- La influencia de la transición temporal (verano - invierno) influyó en la temperatura y disponibilidad de nitrógeno
- Las poblaciones de *P. panamensis* estuvieron compuestas por 2 linajes y 5 haplotipos. Algunos de los haplotipos fueron dominantes o exclusivos de alguna localidad.
- Los corales presentaron un solo linaje de endosimbiontes.
- La transición temporal detonó la regulación de procesos asociados al metabolismo energético, Meiosis, Mitosis, síntesis de proteínas y digestión peptídica.
- *P. panamensis* experimentó sobre-regulación del desarrollo ontogénico, mitosis, meiosis y su regulación en la síntesis proteica en condiciones mínimas de estrés (*Low*). En condiciones de alta temperatura (*Mid*), se observó la sobre-regulación de mecanismos de modificación postraduccionales y sub-regulación del metabolismo antioxidante. En condiciones de alta temperatura y acidez (*High*), los corales expresaron actividad reproductiva, sin embargo, sub-regulación de la actividad antioxidante, metabolismo energético y desarrollo ontogénico.

10 LITERATURA CITADA

- Aballay, A, F. M. Ausubel. 2001. Programmed cell death mediated by ced-3 and ced-4 protects *Caenorhabditis elegans* from *Salmonella typhimurium*-mediated killing. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98 (5): 2735-2739
- Adam-Vizi, V., C., Chinopoulos. 2006. Bioenergetics and the formation of mitochondrial reactive oxygen species. *Trends in Pharmacology Science*. 27(12), 639-645.
- Alexander, S. P. H., E., Kelly, E., Mathie, J. A., Peters, E. L., Veale, J. F., Armstrong, E., Faccenda, J. A, Davies, J. L., Sharman, C., Southan, J. A., Davies. 2019. The Concise Guide to Pharmacology 2019/:20: Transporters. *British Journal of Pharmacology*. 176: S397-S493
- Al-Moghrabi, S. C., Goiran, D., Allemand, N., Speziale, N. J., Jaubert. 1996. Inorganic carbon uptake for photosynthesis by the symbiotic coral-dinoflagellate association II. Mechanisms for bicarbonate uptake. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 199 (2): 227-248.
- Allen, G. R. 2008. Conservation hotspots of biodiversity and endemism for Indo-Pacific coral reef fishes. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 18 (5): 541-556.
- Amici, A. K., V., Ciccioli, N., Naponelli, G., Raffaelli., G., Magni. 2005. Evidence for essential catalytic determinants for human erythrocyte pyrimidine 5'-nucleotidase. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 62 (14): 1613-1620.
- Anderson, D. H., R. J., Robinson. 1946. Rapid electrometric determination of alkalinity of sea water using glass electrode. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*. 18 (12): 767-769.
- Anlauf, H., L., D'Croz, A., O'Dea. 2011. A corrosive concoction: the combined effects of ocean warming and acidification on the early growth of a stony coral are multiplicative. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397 (1): 13-20.
- Anthony, K. R., K. E., Fabricius. 2000. Shifting roles of heterotrophy and autotrophy in coral energetics under varying turbidity. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 252 (2): 221-253.
- Anthony, K. R., M. O., Hoogenboom, J. A., Maynard, A. G., Grottoli & R., Middlebrook, R. 2009. Energetics approach to predicting mortality risk from environmental stress: a case study of coral bleaching. *Functional Ecology*. 23 (3): 539-550.

Anthony, K. R., A. P., Kerswell. 2007. Coral mortality following extreme low tides and high solar radiation. *Marine Biology*. 151 (5): 1623-1631.

Anthony, K. R., D. I., Kline, G., Diaz-Pulido, S., Dove, O., Hoegh-Guldbergh. 2008. Ocean acidification causes bleaching and productivity loss in coral reef builders. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105 (45): 17442-17446.

Babonis, L. S., J. F., Ryan, C., Enjolras, M. Q. Martindale. 2019. Evolutionary dynamics of the trypsin superfamily and the origins of novel secretory cell function in the internalized ectoderm of the sea anemone *Nematostella vectensis*. *bioRxiv*, 645952.

Bailey, A. S., P. J, Batista, R. S., Gold, Y. G., Chen, D. G., Rooij, H. Y., Chang, M. T., Fuller. 2017. The conserved RNA helicase YTHDC2 regulates the transition from proliferation to differentiation in the germline. *Elife*, 6, e26116.

Baker, A. C. 2003. Flexibility and specificity in coral-algal symbiosis: diversity, ecology, and biogeography of *Symbiodinium*. *Ann. Rev. of Eco. Evo. and Syst.* 34 (1): 661-689.

Barbrook, A. C., S., Visram, A. E., Douglas, C. J., Howe. 2006. Molecular diversity of dinoflagellate symbionts of Cnidaria: the psbA minicircle of *Symbiodinium*. *Protist* 157 (2): 159-171.

Barrett, A. J., J. F. Woessner, N. D., Rawlings. 2012. *Handbook of proteolytic enzymes* (Vol. 1). Elsevier. Reino Unido. 984p

Barshis, D. J., J. H. Stillman, R. D., Gates, R. J., Toonen, L. W., Smith, C., Birkeland. 2010. Protein expression and genetic structure of the coral *Porites lobata* in an environmentally extreme Samoan back reef: does host genotype limit phenotypic plasticity?. *Molecular Ecology*. 19 (8): 1705-1720.

Baughman, J. M., F., Perocchi, H. S., Girgis, M., Plovanich, C. A., Belcher-Timme, Y., Sancak, X. R., Bao, L., Strittmatter, O., Goldberger, R. L., Bogorad, V., Koteliensky, V. K. 2011. Integrative genomics identifies MCU as an essential component of the mitochondrial calcium uniporter. *Nature* 476.7360 (2011): 341-345.

Bay, R. A., S. R., Palumbi. 2017. Transcriptome predictors of coral survival and growth in a highly variable environment. *Ecology and evolution* 13 (7): 4794-4803.

Berkelmans, R., M. J., Van Oppen. 2008. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a 'nugget of hope' for coral reefs in an era of climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 273 (1599): 2305-2312.

- Bernie, D., J., Lowe, T., Tyrrell, O., Legge. 2010. Influence of mitigation policy on ocean acidification. *Geophysical Research Letters*. 37 (15): 1-5
- Bielmyer, G. K., M., Grosell, R., Bhagooli, A. C., Baker, C., Langdon, P., Gillette, T. R., Capo. 2010. Differential effects of copper on three species of scleractinian corals and their algal symbionts (*Symbiodinium* spp.). *Aquatic Toxicology* 97 (2): 125-133.
- Bray, N. L., H., Pimentel, P., Melsted, L., Pachter. 2016. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature biotechnology*, 34 (5): 525.
- Broecker, W. S., D. L., Thurber, J. K. T. L., Goddard, R., K., Matthews, K. J. Mesoella. 1968. Milankovitch hypothesis supported by precise dating of coral reefs and deep-sea sediments. *Science*. 159 (3812): 297-300.
- Brosché, M., M. A., Schuler, I., Kalbina, L., Connor, A., Strid. 2002. Gene regulation by low level UV-B radiation: identification by DNA array analysis *Photochemical & Photobiological Sciences*. 1 (9): 656-664.
- Brown, B. E. 1990. Damage and recovery of coral reefs affected by El Niño related seawater warming in the Thousand Islands, Indonesia. *Coral Reefs*. 8 (4): 163-170.
- Brown, B. E., M. D. A., Tissier, J. C., Bythell. 1995. Mechanisms of bleaching deduced from histological studies of reef corals samples during a natural bleaching event. *Marine Biology*. 122: 655-663
- Brusca, C., W., Moore, S. M., Shuster. 2016. *Invertebrates*. Sunderland. Estados Unidos, Massachusetts. 1005p.
- Burkard, T. R., M. Planyavsky, I., Kaupe, F. P., Breitwieser, T., Bürckstümmer, K. L., Bennett, G., Superti-Furga, J., Colinge. 2011. Initial characterization of the human central proteome. *BMC Systems Biology*. 5 (1): 17.
- Buster, D., K., McNally, F. J., McNally. 2002. Katanin inhibition prevents the redistribution of γ -tubulin at mitosis. *Journal of Cell Science*. 115 (5): 1083-1092
- Cabral-Tena, R. A., H., Reyes-Bonilla, S., Lluch-Cota, D. A., Paz-García, L. E. Calderón-Aguilera, O., Norzagaray-López, E. F., Balart. 2013. Different calcification rates in males and females of the coral *Porites panamensis* in the Gulf of California. *Marine Ecology Progress Series*. 476:1-8.
- Camp, E. F., V. Schoepf, P. J., Mumby, L. A., Hardtke, R., Rodolfo-Metalpa, D. J., Smith, D. J. Suggett. 2018. The future of coral reefs subject to rapid climate change: lessons from natural extreme environments. *Frontiers in Marine Science*. 5: 1-21.

Carpenter, K. E., M., Abrar, G., Aeby, R. B., Aronson, S., Banks, A., Bruckner, A., E., Wood, E. 2008. One-third of reef-building corals face elevated extinction risk from climate change and local impacts. *Science*, 321 (5888): 560–563.

Carpizo-Ituarte, E., V., Vizcaíno-Ochoa, G., Chi-Barragán, O., Tapia-Vázquez, A. L., Cupul-Magaña, P., Medina-Rosas. 2011. Evidence of sexual reproduction in the hermatypic corals *Pocillopora damicornis*, *Porites panamensis*, and *Pavona gigantea* in Banderas Bay, Mexican Pacific. *Ciencias Marinas*. 37 (1): 97-112.

Cesar, H., L., Burke, L., Pet-Soede. 2003. The economics of worldwide coral reef degradation. Cesar environmental economics consulting (CEEC). 22p.

Cheng, Z., L. H. J., Sun, W., Gong. 2007. Crystal structure of human μ -crystallin complexed with NADPH. *Protein Science*. 16 (2): 329-335.

Civelek, M., A. J., Lusic. 2014. Systems genetics approaches to understand complex traits. *Nature Reviews Genetics*. 15 (1): 34

Conesa, A., S., Götz, J. M., García-Gómez, J., Terol, M., Talón, M., Robles. 2005. Blast2GO: a universal tool for annotation, visualization and analysis in functional genomics research. *Bioinformatics*. 21 (18): 3674-3676.

Cowen, R. 1988. The role of algal symbiosis in reefs through time. *Palaios*: 221-227.

Cutforth, T., U., Gaul. 1999. A methionine aminopeptidase and putative regulator of translation initiation is required for cell growth and patterning in *Drosophila*. *Mechanisms of Development*. 82 (1-2): 23-28.

Dahms, H. U., N. V., Schizas, R. A., James, L., Wang, J. S., Hwang. 2018. Marine hydrothermal vents as templates for global change scenarios. *Hydrobiologia*. 818 (1): 1-10.

Davies, S. W., A., Marchetti, J. B., Ries, K. D., Castillo. 2016. Thermal and pCO₂ stress elicit divergent transcriptomic responses in a resilient coral. *Frontiers in Marine Science*. 3 (112): 1-15.

DeBiasse, M. B., W. K., Morgan. 2016. Plastic and evolved responses to global change: what can we learn from comparative transcriptomics?. *Journal of Heredity*. 107: 71-81

Del Río-Portilla, M. A., C. E., Vargas-Peralta, D. A., Paz-García, L., Cruz, E. F., Balart, F. J., García-de-León. 2016. The complete mitochondrial DNA of endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*). *Mitochondrial DNA Part A*. 27 (1): 738-739.

Demonbreun, A. R., K. A., Lapidos, K., Heretis, S., Levin, R., Dale, P., Pytel, E. M., McNally. 2010. Myoferlin regulation by NFAT in muscle injury, regeneration and repair. *Journal of Cell Science*. 123 (14): 2413-2422.

Dekker, S. L., H. H., Kampinga, S., Bergink. 2015. DNAJs: more than substrate delivery to HSPA. *Frontiers in Molecular Biosciences*. 2: 1-15.

De Yoreo, J. J., P. U., Gilbert, N. A., Sommerdijk, P. L., Penn, S., Whitelam, D., Joester, H., Zhang, J. D., Rimer, A., Navrotsky, J. F., Banfield, A. F., Wallace, F. M., Michel, F. C., Meldrum, H., Cölfen, P. M, Dove. 2015. Crystallization by particle attachment in synthetic, biogenic, and geologic environments. *Science*. 6247 (349): 1-9

Diaz-Pulido, G., L. J., McCook, S., Dove, R., Berkelmans, G., Roff, D. I., Kline, S., Weeks, R. D., Evans, D. H., Williamson, O., Hoegh-Guldberg. 2009. Doom and boom on a resilient reef: climate change, algal overgrowth and coral recovery. *PloS one*. 4 (4): e5239.

Diray-Arce, J., B., Liu, J. D., Cupp, T., Hunt, B. L., Nielsen. 2013. The Arabidopsis At1g30680 gene encodes a homologue to the phage T7 gp4 protein that has both DNA primase and DNA helicase activities. *BMC plant biology*. 13 (1): 36.

Downs, C. A., E., Kramarsky-Winter, J., Martinez, A., Kushmaro, C. M., Woodley, Y. Loya. 2009. Symbiophagy as a cellular mechanism for coral bleaching. *Autophagy*. 5 (2): 211-216.

Doney, S. C., V. J., Fabry, R. A., Feely, J. A., Kleypas. 2009. Ocean acidification: the other CO₂ problem. *Annual Reviews of Marine Science*. 1(1):169-192.

Downs, C. A., E., Kramarsky-Winter, J., Martinez, A., Kushmaro, C. M., Woodley, Y., Loya, G. K., Ostrander. 2009. Symbiophagy as a cellular mechanism for coral bleaching. *Autophagy*. 5 (2):211-216.

Dubrez, L., S., Causse, N. B., Bonan, B., Dumétier, C., Garrido. 2019. Heat-shock proteins: chaperoning DNA repair. *Oncogene*, 39:516-529.

Dunn, S. R., C. E., Schnitzler, V. M., Weis. 2007. Apoptosis and autophagy as mechanisms of dinoflagellate symbiont release during cnidarian bleaching: every which way you lose. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 274(1629), 3079-3085.

Dunn, S. R., J. C., Bythell, M. D., Le Tissier, W. J., Burnett, C. J., Thomason. 2002. Programmed cell death and cell necrosis activity during hyperthermic stress-induced bleaching of the symbiotic sea anemone *Aiptasia sp.* *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 272 (1): 29-53

Dunn, S. R., M., Pernice, K., Green, O., Hoegh-Guldberg, S. G. Dove. 2012. Thermal stress promotes host mitochondrial degradation in symbiotic cnidarians: are the batteries of the reef going to run out?. PLoS One. 7:e39024.

Dunn, S. R., V. M., Weis. 2009. Apoptosis as a post-phagocytic winnowing mechanism in a coral–dinoflagellate mutualism. Environmental microbiology. 11 (1): 268-276.

Eisenreich, A., V. Y., Bogdanov, A., Zakrzewicz, A., Pries, S., Antoniak, W., Poller, H. P. Schultheiss, U. Rauch. 2009. Cdc2-like kinases and DNA topoisomerase I regulate alternative splicing of tissue factor in human endothelial cells. Circulation research. 104 (5): 589-599.

Erez, J., S., Reynaud, J., Silverman, K., Schneider, D., Allemand. 2011. Coral calcification under ocean acidification and global change. En: Dubinsky, Z., N., Stabmler. Coral Reefs: An Ecosystem in Transition. Springer. Holanda. pp 151-176

Ezzat, L., J. F., Maguer, R., Grover, C., Ferrier-Pagès. 2016. Limited phosphorus availability is the Achilles heel of tropical reef corals in a warming ocean. Scientific reports. 6:31768.

Fabricius, K. E. 2005. Effects of terrestrial runoff on the ecology of corals and coral reefs: review and synthesis. Marine Pollution Bulletin. 50 (2): 125-146.

Fabricius, K. E. 2011. Factors determining the resilience of coral reefs to eutrophication: a review and conceptual model. En: Dubinsky, Z., N., Stabler. Coral Reefs: An Ecosystem In Transition. Springer. Holanda. pp 493-505

Fabricius, K. E., C., Langdon, S., Uthicke, C., Humphrey, S., Noonan, G., De'ath, R., Okazaki, N. Muehlehner, M. S., Glas, J. M., Lough. 2011. Losers and winners in coral reefs acclimatized to elevated carbon dioxide concentrations. Nature Climate Change. 1 (3):165-169.

Fitt, W. K., F. K., McFarland, M. E., Warner, G. C., Chilcoat. 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. Limnology and oceanography. 45 (3): 677-685

Frankel, W. N., Y., Yang, C. L. Mahaffey, B. J., Beyer, T. P. O'Brien. 2009. *Szt2*, a novel gene for seizure threshold in mice. Genes, Brain and Behavior 5 (8): 568-576.

Fransson, S. U. A., H., Eriksson, M. K., Andersson, Y., Wettergren, M., Bergo, K., Ejeskär. 2012. P37δ is a new isoform of PI3K p110δ that increases cell proliferation and is overexpressed in tumors. Oncogene. 31 (27): 3277-3286.

Gates, R. D. 1990. Seawater temperature and sublethal coral bleaching in Jamaica. *Coral reefs*. 8 (4): 193-197.

Gates, R. D., G., Baghdasarian, L. Muscatine 1992. Temperature stress causes host cell detachment in symbiotic cnidarians: implications for coral bleaching. *The Biological Bulletin*. 3 (182): 324-332.

Gates, R. D., G., Baghdasarian, L., Muscatine. 1992. Temperature stress causes host cell detachment in symbiotic cnidarians: implications for coral bleaching. *Biological Bulletin*. 182 (3): 324-332.

Glynn, P. W. 1983. Extensive 'bleaching' and death of reef corals on the Pacific coast of Panama. *Environmental Conservation*. 10 (2): 149-154.

Glynn, P. W. 1991. Coral reef bleaching in the 1980s and possible connections with global warming. *Trends in Ecology & Evolution*. 6 (6): 175-179.

Glynn, P. W. 1993. Coral reef bleaching: ecological perspectives. *Coral reefs*. 12 (1): 1-17.

Glynn, P. W., Ault, J. 2000 A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs*. 19 :1–23

Glynn, P. W., L., D'croz. 1990. Experimental evidence for high temperature stress as the cause of El Niño-coincident coral mortality. *Coral Reefs*. 8 (4): 181-191.

Glynn, P. W., D. P., Manzello, I. C., Enochs. 2016. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment*. Springer. Estados Unidos. pp 657

Glynn, P. W., E. C., Peters, L., Muscatine. 1985. Coral tissue microstructure and necrosis: relation to catastrophic coral mortality in Panama. *Diseases of Aquatic Organisms*. 1: 29-37.

Grabherr, M. G., G. J., Haas, M., Yassour, J. Z., Levin, D. A., Thompson, I., Amit, X., Adiconis, L., Fan, R., Raychowghury, Q., Zeng, Z., Chen, E., Mauceli, N., Hacogen, A., Gnirke, N., Rhind, F., Palma, B. W., Birren, C., Nusbaum, K., Lindblad-Toh, N., Friedman, A., Regev. 2011. Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature biotechnology*. 29 (7): 644.

Gudmann, N. S., M. A. Karsdal. Type II Collagen. En: Karsdal, M. *Biochemistry of collagens, laminins and elastin: structure, function and biomarkers*. 2019. Academic Press. Londres. 434p.

Haas, B. J., A., Papanicolaou, M., Yassour, M., Grabherr, P. D., Blood, J., Bowden, M. B., Couger, D., Eccles, B., Li, M., Lieber, M. D., MacManes, M. Ott, J. Orvis, N., Pochet, F., Strozzi, N., Weeks, R., Westerman, T. William, C. N., Dewey, R., Henschel, R. D. LeDuc, N., Friedman, A. R.,. 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. *Nature protocols*. 8 (8): 1494-1152.

Hallen, A., A. J., Cooper, J. F., Jamie, P. A., Haynes, R. D., Willows. 2011. Mammalian forebrain ketimine reductase identified as μ -crystallin; potential regulation by thyroid hormones. *Journal of neurochemistry*. 118 (3):379-387.

Hallen, A., A. J., Cooper, J. R., Smith, J. F., Jamie, P., Karuso. 2015. Ketimine reductase/CRYM catalyzes reductive alkylamination of α -keto acids, confirming its function as an imine reductase. *Amino acids*. 47 (11): 2457-2461.

Hatzold, J., B., Conradt. 2008. Control of apoptosis by asymmetric cell division. *PLoS biology*, 6 (4) e84

Hawkins, T. D., T., Krueger, S. P., Wilkinson, P. L., Fisher, S. K., Davy. 2015. Antioxidant responses to heat and light stress differ with habitat in a common reef coral. *Coral Reefs*. 34 (4): 1229-1241

Hectors, K., E., Prinsen, W. D., Coen, M. A. K., Jansen, Y., Guisez. 2007. *Arabidopsis thaliana* plants acclimated to low dose rates of ultraviolet B radiation show specific changes in morphology and gene expression in the absence of stress symptoms. *New Phytologist*. 175 (2): 255-270.

Hemondk E. M., S. V., Vollmer. 2015. Diurnal and nocturnal transcriptomic variation in the Caribbean staghorn coral, *Acropora cervicornis*. *Molecular Ecology*. 17 (24): 4460-4473.

Hiroki Hayashi, Hironori Nakagami, Makiko Takeichi, Munehisa Shimamura, Nobutaka Koibuchi, Eiji Oiki, Naoyuki Sato, Hiroshi Koriyama, Masaki Mori, Rodriguez Gerardo Araujo, Akito Maeda, Ryuichi Morishita, Katsuto Tamai, and Yasufumi Kaneda. 2012. HIG1, a novel regulator of mitochondrial γ -secretase, maintains normal mitochondrial function. *FASEB Journal*

Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and Freshwater Research*. 50 (8): 839-866.

Hoegh-Guldberg, O., G. J., Smith. 1989. The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* Esper and *Seriatopora hystrix* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 129 (3): 279-303.

Hoegh-Guldberg, O., E. S., Poloczanska, W., Skirving, S., Dove. 2017. Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Frontiers in Marine Science*. 4 (158): 1-20

Hoegh-Guldberg, O., P. J., Mumby, A. J., Hooten, R. S., Steneck, P., Greenfield, E., Gomez, C. D., Harvell, P. F., Sale, A. J., Edwards, K., Caldeira, N., Knowlton, C. M. Eakin, R., Iglesias-Prieto, N., Muthiga, R. H., Bradbury, A., Dubi, M. E., Hatziolos. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*. 318 (5857): 1737-1742.

Howells, E. J., V. H., Beltran, N. W., Larsen, L. K., Bay, B. L., Willis, M. J. H., Van Oppen. 2012. Coral thermal tolerance shaped by local adaptation of photosymbionts. *Nature Climate Change*. 2 (2): 116-120

Hughes, T. P., J. T., Kerry, M., Álvarez-Noriega, J. G., Álvarez-Romero, K. D., Anderson, A. H., Baird, R. C., Babcock, M., Beger, D. R., Bellwood, R., Berkelmans, T. C., Bridge, I. R., Butler, M., Byrne, N. E., Cantin, S., Comeau, S. R., Connolly, G. S., Cumming, S. J., Dalton, G., Diaz-Pulido, C. M., Eakin, W. F., Figueira, J. P., Gilmour, H. B., Harrison, S. F., Heron, A. S., Hoey, J. P. A., Hobbs, M. O., Hoogenboom, E. V., Kennedy, C. Y., Kuo, J. M., Lough, R. J., Lowe, G., Liu, M. T., McCulloch, H. A., Malcolm, M. J., McWilliam, J. M., Pandolfi, R. J., Pears, M. S., Pratchett, V., Schoepf, T., Simpson, W. J., Skirving, B., Sommer, G., Torda, D. R., Wachenfeld, B. L., Willis, S. K., Wilson. 2017. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*. 543 (7645): 373-377

Hughes, T. P., M. J., Rodrigues, D. R., Bellwood, D., Ceccarelli, O., Hoegh-Guldberg, L., McCook, N., Moltschaniwskyj, M. S., Pratchett, R. S., Steneck, B., Willis. 2007. Phase shifts, herbivory, and the resilience of coral reefs to climate change. *Current Biology*. 17 (4): 360-365.

Hyun-Jung, A., C., Geunyoung, L., Jie-Oh, S. G., Paik, Y. S., Kim, L., Hayyoung. 2013. Higd-1a interacts with Opa1 and is required for the morphological and functional integrity of mitochondria. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110 (32):13014-13019.

Jain, D., M. R., Puno, C., Meydan, N., Lailier, C. E., Mason, C. D., Lima, K. V., Anderson, S. Keeney. 2018. Ketu mutant mice uncover an essential meiotic function for the ancient RNA helicase YTHDC2. *Elife*. 7: e30919.

Jha, S., A., Dutta, A. 2009. RVB1/RVB2: running rings around molecular biology. *Molecular Cell*. 34 (5): 521-533.

Jones, R. J., O., Hoegh-Guldberg, A. W., Larkum, U., Schreiber. 1998. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO₂ fixation mechanism in zooxanthellae. *Plant, Cell & Environment*. 21 (12): 1219-1230

- Kalbina, I., Å., Strid. 2006 The role of NADPH oxidase and MAP kinase phosphatase in UV-B-dependent gene expression in Arabidopsis. *Plant, cell & environment*. 29(9): 1783-1793.
- Kaniewska P, C. K. K., Chan, D., Kline, E. Y. S., Ling, N., Rosic, D., Edwards, O., Hoegh-Guldberg, S., Dove. 2015. Transcriptomic Changes in Coral Holobionts Provide Insights into Physiological Challenges of Future Climate and Ocean Change. *PLoS ONE*. 10 (10): e0139223.
- Kaufmann, J., K., Ahrens, R., Koop, S. T., Smale, R., Müller. 1998. CIF150, a human cofactor for transcription factor IID-dependent initiator function. *Molecular and cellular biology*. 18 (1): 233-239.
- Kenkel, C. D., M. V., Matz. 2017. Gene expression plasticity as a mechanism of coral adaptation to a variable environment. *Nature Ecology & Evolution*. 1 (1): 1-6.
- Kitigawa, K., N., Shibata. 1958. Photometric determination of the sulfur trace by extraction with methylene blue and nitrobenzene. *Japanese Society of Analytical Chemistry*. 7 (3): 181-184
- Kleypas, J. A., McManus, J. W., & Menez, L. A. (1999). Environmental limits to coral reef development: where do we draw the line?. *American Zoologist*. 39 (1): 146-159.
- Krueger, T., T. D., Hawkins, S., Becker, S., Pontasch, S., Dove, O., Hoegh-Guldberg, W., Leggat, P. L., Fisher, S. K., Davy. 2015. Differential coral bleaching-Contrasting the activity and response of enzymatic antioxidants in symbiotic partners under thermal stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 190: 15-25.
- LaJeunesse, T. C., D. J., Thornhill. 2011. Improved resolution of reef-coral endosymbiont (*Symbiodinium*) species diversity, ecology, and evolution through psbA non-coding region genotyping. *PloS one*, 6 (12): 1-11
- LaJeunesse, T. C., H. R., Bonilla, M. E., Warner, M., Wills, G. W., Schmidt, W. K., Fitt. 2008. Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral-algal symbioses. *Limnology and Oceanography*. 53 (2): 719-727.
- LaJeunesse, T. C., J. E., Parkinson, P. W., Gabrielson, H. J., Jeong, J. D., Reimer, C. R., Voolstra, S. R., Santos. 2018. Systematic revision of *Symbiodiniaceae*: highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*. 28 (16): 2570-2580.

Leal-Acosta, M. L., R. M., Prol-Ledesma. 2016. Caracterización geoquímica de las manifestaciones termales intermareales de Bahía Concepción en la Península de Baja California. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*. 68 (3): 395-407.

Lee, A. S., P. J., Kranzusch, J. A., Doudna, J. H., Cate. 2016. eIF3d is an mRNA cap-binding protein that is required for specialized translation initiation. *Nature*. 536 (7614): 96-99.

Lenz, E. A., P. J., Edmunds. 2017. Branches and plates of the morphologically plastic coral *Porites rus* are insensitive to ocean acidification and warming. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 486:188-194.

Levin, R. A., V. H., Beltran, R., Hill, S., Kjelleberg, S., McDougald, P. D., Steinberg, M. J. H., Van Oppen. 2016. Sex, scavengers, and chaperones: transcriptome secrets of divergent *Symbiodinium* thermal tolerances. *Molecular biology and evolution*. 33 (9): 2201-2215.

Levitus, S., J. I., Antonov, T. P., Boyer, C., Stephens. 2000. Warming of the world ocean. *Science*. 287 (5461): 2225-2229.

Liu, F., P., Lössl, B. M., Rabbitts, R. S., Balaban, A. J., Heck. 2018. The interactome of intact mitochondria by cross-linking mass spectrometry provides evidence for coexisting respiratory supercomplexes. *Molecular & Cellular Proteomics*. 17 (2): 216-232.

Liu, G., A. E., Strong, W., Skirving. 2003. Remote sensing of sea surface temperatures during 2002 Barrier Reef coral bleaching. *EoS Transactions American Geophysical Union*. 84 (15): 137-141.

Lluch-Cota, S. E. 2000. Coastal upwelling in the eastern Gulf of California. *Oceanologica Acta*. 23 (6): 731-740.

Maddika, S., J., Chen. 2009. Protein kinase DYRK2 is a scaffold that facilitates assembly of an E3 ligase. *Nature cell biology*. 11 (4): 409-419.

Maere, S., K., Heymans, M., Kuiper. 2005. BiNGO: a Cytoscape plugin to assess overrepresentation of gene ontology categories in biological networks. *Bioinformatics*. 21 (16): 3448-3449.

Martinez, E., H., Ge, Y., Tao, C. X., Yuan, V., Palhan, R. G., Roeder. 1998. Novel cofactors and TFIIA mediate functional core promoter selectivity by the human TAFII150-containing TFIID complex. *Molecular and cellular biology*. 18 (11): 6571-6583.

Masutani, M., N., Sonenberg, S., Yokoyama, H., Imataka, H. 2007. Reconstitution reveals the functional core of mammalian eIF3. *The EMBO journal*. 26 (14): 3373-3383.

Manzello, D. P., J. A., Kleypas, D. A., Budd, C. M., Eakin, P. W., Glynn, P. W., C. Langdon. 2008. Poorly cemented coral reefs of the eastern tropical Pacific: Possible insights into reef development in a high-CO₂ world. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105 (30): 10450-10455.

Mass, T., A. J., Giuffre, S., Chang-Yu, C. A., Stiffler, M. J., Frazier, M., Neder, N., Tamura, C. V., Stan, M. A., Marcus, P. U. P. A., Gilbert. 2017. Amorphous calcium carbonate particles form coral skeletons. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 114 (37): E7670:E7678

McClanahan, T. R., N. A. J., Graham, M. A., MacNeil, J. E., Cinner. 2015. Biomass-based targets and the management of multispecies coral reef fisheries. *Conservation Biology*. 29 (2) 409-417.

McCook, L., J., Jompa, G., Diaz-Pulido. 2001. Competition between corals and algae on coral reefs: a review of evidence and mechanisms. *Coral Reefs*. 19 (4): 400-417.

Medina, M., A. G., Collins, T. L., Takaoka, J. V., Kuehl, J. L., Boore. 2006. Naked corals: skeleton loss in Scleractinia. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 103 (24): 9096-9100.

Méndez-Mendez, S. M. 2016. Diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (Symbiodinium) del coral *Porites panamensis* en el Pacífico Oriental Tropical. Tesis de licenciatura. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 79 pp.

Mohamed, A. R., V., Cumbo, S., Harii, C., Shinzato, C. X., Chan, M. A., Ragan, D. G., Bourne, B. L., Willis, E. F., Ball, N., Satoh, D. J., Miller. 2016. The transcriptomic response of the coral *Acropora digitifera* to a competent Symbiodinium strain: the symbiosome as an arrested early phagosome. *Molecular ecology*., 25 (13): 3127 - 3141.

Mollica, N. R., W., Guo, A. L., Cohen, K. F., Huang, G. L., Foster, H. K., Donald, A. R., Solow. 2018. Ocean acidification affects coral growth by reducing skeletal density. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 115 (8): 1754-1759.

Monecke, T., J., Buschmann, P., Neumann, E., Wahle, R., Ficner. 2014. Crystal structures of the novel cytosolic 5'-nucleotidase IIIB explain its preference for m7GMP. *PloS one*. 9 (3): 1-13

- Muller-Parker, G., C. F., D'elia, C. B., Cook. 2015. Interactions between corals and their symbiotic algae. En: Birkeland, C. Coral Reefs in the Anthropocene. Springer. Ingleterra. pp. 99-116
- Muscantine, L., J. W., Porter. 1977. Reef corals: mutualistic symbioses adapted to nutrient-poor environments. *Bioscience*. 27 (7): 454-460.
- Muscantine, L., P. G., Falkowski, J. W., Porter, Z., Dubinsky. 1984. Fate of photosynthetic fixed carbon in light-and shade-adapted colonies of the symbiotic coral *Stylophora pistillata*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. 222 (1227): 181-202
- Nagata, K. I., T., Asano, Y., Nozawa, M., Inagaki, M. 2004. Biochemical and cell biological analyses of a mammalian septin complex, Sept7/9b/11. *Journal of Biological Chemistry*. 279 (53): 55895-55904.
- Nakamura, M., Ohki, S., K., Sakai. 2011. Coral larvae under ocean acidification: survival, metabolism, and metamorphosis. *PLoS One*. 1(6): .1-7
- Negri, A. P., M. O., Hoogenboom. 2011. Water contamination reduces the tolerance of coral larvae to thermal stress. *PLoS One*.6 (5): e19703.
- Nielsen, D. A., K., Petrou, R. D., Gates. 2018. Coral bleaching from a single cell perspective. *The ISME Journal*. 12: 1558-1567.
- Nitschke, M. R., S. K., Davy, S., Ward. 2016. Horizontal transmission of Symbiodinium cells between adult and juvenile corals is aided by benthic sediment. *Coral Reefs*. 35 (1): 335-344.
- Niu, W., R., Lin, X., Shi, C. H., Chen, K. N., Shen, C. D., Hsiao. 2016. Next generation sequencing yields the complete mitogenome of massive coral, *Porites lutea* (Cnidaria: Poritidae). *Mitochondrial DNA Part B*. 1 (1): 8-9.
- Norzagaray-López, C. O., L. E., Calderon-Aguilera, J. M., Hernández-Ayón, H., Reyes-Bonilla, J. P., Carricart-Ganivet, R. A., Cabral-Tena, E. F. Balart. 2015. Low calcification rates and calcium carbonate production in *Porites panamensis* at its northernmost geographic distribution. *Marine Ecology*. 36 (4): 1244-1255.
- Oakley, B. R. 2000. An abundance of tubulins. *Trends in cell biology*. 10 (12): 537-542
- Oakley, C. A., G. W., Schmidt, B. M., Hopkinson. 2014. Thermal responses of Symbiodinium photosynthetic carbon assimilation. *Coral Reefs*. 33 (2): 501-512.

Oakley, C. A., E., Durand, S. P., Wilkinson, L., Peng, V. M., Weis, A. R., Grossman, S. K., Davy. 2017. Thermal shock induces host proteostasis disruption and endoplasmic reticulum stress in the model symbiotic cnidarian *Aiptasia*. *Journal of Proteome Research*. 16 (6): 2121-2134.

Onishi, Y., Y., Kawano. 2012. Rhythmic binding of Topoisomerase I impacts on the transcription of Bmal1 and circadian period. *Nucleic acids research* 40 (19): 9482-9492.

Oporto-Guerrero, T., H., Reyes-Bonilla, L. B., Ladah. 2018. Presence of the reef-building coral, *Porites panamensis*, in a shallow hydrothermal field in the Gulf of California. *Marine Biodiversity*. 48: 703-708.

Ottl, J., D., Gabriel, G., Murphy, V., Knäuper, Y., Tominaga, H., Nagase, M., Kroger, H., Tschesche, W., Bode, L., Moroder. 2000. Recognition and catabolism of synthetic heterotrimeric collagen peptides by matrix metalloproteinases. *Chemistry & biology*. 7 (2): 119-132.

Palumbi, S. R., D. J., Barshis, N., Traylor-Knowles, R. A., Bay. 2014. Mechanisms of reef coral resistance to future climate change. *Science*, 344 (6186): 895-898.

Parés-Sierra, A., A., Mascarenhas, S. G., Marinone, R., Castro. 2003. Temporal and spatial variation of the surface winds in the Gulf of California. *Geophysical Research Letters*. 30 (6): 1-4

Paxton, C. W., S. K., Davy, V. M., Weis. 2013. Stress and death of cnidarian host cells play a role in cnidarian bleaching. *Journal of Experimental Biology*. 216 (15): 2813-2820.

Paz-García, D. A., F., Correa-Sandoval, H. E., Chávez-Romo, H., Reyes-Bonilla, R. A., López-Pérez, P., Medina-Rosas, M. P., Hernández-Cortés. 2008. Genetic structure of the massive coral *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) from the Mexican Pacific En: Riegl, B., R. E., Dodge. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*. Florida. Lauderdale. pp. 449-453.

Paz-García, D. A., H. E., Chávez-Romo, F., Correa-Sandoval, H., Reyes-Bonilla, A., López-Pérez, P., Medina-Rosas, M. P., Hernández-Cortés. 2012. Genetic connectivity patterns of corals *Pocillopora damicornis* and *Porites panamensis* (Anthozoa: Scleractinia) along the west coast of Mexico. *Pacific Science*. 66 (1): 43-61

Paz-García, D. A., H., Reyes-Bonilla, M. P., Hernández-Cortés. 2009. Genetic variation in two morphotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California. Mexico. En: Riegl, B., R. E., Dodge. *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*. Florida. Lauderdale. pp.444-448.

Pinzón, J. H., B., Kamel, C. A., Burge, C. D., Harvell, Medina, M., E., Weil, L. D., Mydlarz. 2015. Whole transcriptome analysis reveals changes in expression of immune-related genes during and after bleaching in a reef-building coral." Royal Society open science. 2: 1–17.

Pollock, F. J., J. B., Lamb, S. N., Field, S. F., Heron, B., Schaffelke, G., Shedrawi, D. G., B. L., Willis. 2014. Sediment and turbidity associated with offshore dredging increase coral disease prevalence on nearby reefs. PLOS one. 9 (7): e102498.

Raz-Bahat, M., J., D., E., Moiseeva, E. C., Peters, B., Rinkevich. 2017. The digestive system of the stony coral *Stylophora pistillata*. Cell and tissue research. 368 (2): 311-323.

Reyes-Bonilla, H., R., Riosmena-Rodriguez, M. S., Foster. 1997. Hermatypic corals associated with rhodolith beds in the Gulf of California, Mexico. Pacific Science. 51 (3): 328-337

Robinson, M. D., D. J., McCarthy, G. K., Smyth. 2010. edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data. Bioinformatics. 26 (1):139-140.

Rose, N. H., F. O., Seneca, S. R., Palumbi. 2015. Gene networks in the wild: identifying transcriptional modules that mediate coral resistance to experimental heat stress. Genome Biology and Evolution. 8 (1): 243-252.

Ruiz-Jones, L. J., S. R., Palumbi. 2017. Tidal heat pulses on a reef trigger a fine-tuned transcriptional response in corals to maintain homeostasis. Science Advances. 3 (3): e1601298

Villanueva-Estrada, R. E., R. M., Prol-Ledesma, A. A., Rodríguez-Díaz, C., Canet, I. S., Torres-Alvarado, E., González-Partida. 2012. Geochemical processes in an active shallow submarine hydrothermal system, Bahía Concepción, México: mixing or boiling?. International Geology Review. 54 (8): 907-919

Santiago-Valentín, J. D., A. P., Rodríguez-Troncoso, E., Bautista-Guerrero, A., López-López, A. L., Cupul-Magaña. 2019. Successful sexual reproduction of the scleractinian coral *Porites panamensis*: Evidence of planktonic larvae and recruitment. Invertebrate biology. 138 (1): 29-39.

Schander, C., H. T., Rapp, J. A., Kongsrud, T., Bakken, J., Berge, S., Cochrane, S., A., Fosshagen. 2010. The fauna of hydrothermal vents on the Mohn Ridge (North Atlantic). Marine Biology Research. 6 (2): 155-171.

- Scholz, C. B., U., Technau. 2003. The ancestral role of Brachyury: expression of *NemBra1* in the basal cnidarian *Nematostella vectensis* (Anthozoa). *Development genes and evolution*. 212 (12): 563-570.
- Sebé-Pedrós, A., I., Ruiz-Trillo. 2017. Evolution and classification of the T-box transcription factor family. *Current topics in developmental biology*. 122:1-26.
- Shinn, M. B. 1941. Colorimetric method for determination of nitrate. *Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition*. 13 (1): 33-35.
- Shinzato, C., E., Shoguchi, T., Kawashima, M., Hamada, K., Hisata, M., Tanaka, M., Fujie, M., Fujiwara, R., Koyanagi, T., Ikuta, A., Fujiyama, D. J., Miller, N., Satoh. 2011. Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change. *Nature*. 476: 320-323
- Siegbahn, P. E., M. R., Blomberg. 2001. Mechanisms for enzymatic reactions involving formation or cleavage of OO bonds. *Journal of Theoretical and Computational Chemistry*. 9: 95-143.
- Slimen, I. B., T., Najar, A., Ghram, H., Dabbebi, M. B., Mrad, M. Abdrabbah. 2014 Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. *International Journal of Hyperthermia*. 30 (7): 513-523.
- Silbiger, N. J., M. J., Donahue, R. E., Brainard. 2017. Environmental drivers of coral reef carbonate production and bioerosion: a multi-scale analysis. *Ecology*. 98 (10): 2547-2560.
- Smith, F., A., Brown, N. C., Mestre, A. J., Reed, S., Thatje. 2013. Thermal adaptations in deep-sea hydrothermal vent and shallow-water shrimp. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*. 92: 234-239.
- Stonyte, Vilte, E., Boye, B., Grallert. 2018. Regulation of global translation during the cell cycle. *Journal of Cell Science*. 131 (17): jcs220327.
- Tambutté, S., M., Holcomb, C., Ferrier-Pagès, S., Reynaud, É., Tambutté, D., Zoccola, D., Allemand, D. 2011. Coral biomineralization: From the gene to the environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 408: 58–78.
- Tambutté, E., A. A., Venn, M., Holcomb, N., Segonds, N., Techer, D., Zoccola, S., Tambutté, S. 2015. Morphological plasticity of the coral skeleton under CO₂-driven seawater acidification. *Nature communications*. 6 (1): 1-9.
- Thiermann, F., I., Akoumianaki, J. A., Hughes, O., Giere. 1997. Benthic fauna of a shallow water gaseohydrothermal vent area in the Aegean Sea (Milos, Greece). *Marine Biology*. 128 (1): 149-159.

- Thomas, L., S. R., Palumbi. 2017. The genomics of recovery from coral bleaching. *Proceedings of the Royal Society. B.* 284: 1865
- Thornhill, D. J., A. M., Lewis, D. C., Wham, T. C., LaJeunesse. 2014. Host-specialist lineages dominate the adaptive radiation of reef coral endosymbionts. *Evolution.* 68 (2): 352-367.
- Tigerstedt, P. M. A. 1994. Adaptation, variation and selection in marginal areas. *Euphytica.* 77 (3): 171-174.
- Tisthammer, K. H., Z. H., Forsman, V. L., Sindorf, T. L., Massey, C., Bielecki, R. J., Toonen. 2016. The complete mitochondrial genome of the lobe coral *Porites lobata* (Anthozoa: Scleractinia) sequenced using ezRAD. *Mitochondrial DNA Part B.* 1 (1): 247-249.
- Tresguerres, M., K. L., M. E., Barott, M. E., Barron, D. O., Deheyn, B. L., Kline, L. B., Linsmayer. 2017. Cell biology of reef-building corals: ion transport, acid/base regulation, and energy metabolism. En: Weihrauch, D., M., O'Donnell. *Acid-Base Balance and Nitrogen Excretion in Invertebrates.* Springer, Switzerland. pp 193-218
- Tsaneva, I. R., B., Müller, S. C., West. 1993. RuvA and RuvB proteins of *Escherichia coli* exhibit DNA helicase activity in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 90 (4): 1315-1319.
- Van Oppen, M. J., J. K., Oliver, H. M., Putnam, R. D., Gates, R. D. 2015. Building coral reef resilience through assisted evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 112 (8): 2307-2313.
- Veron, J. E. N. 1995. *Corals in space and time: the biogeography and evolution of the Scleractinia.* Cornell University Press. Estados Unidos. 321 pp
- Von Euw, S., Zhang, Q., Manichev, V., Murali, N., Gross, J., Feldman, L. C., Gustafsson, T., Flach, C., Mendelsohn, R. Falkowski. 2017. Biological control of aragonite formation in stony corals. *Science* (6341): 933-938.
- Wall, C. B., C. A., Ricci, G. E., Foulds, L. D., Mydlarz, R. D., Gates, H. M., Putnam. 2018. The effects of environmental history and thermal stress on coral physiology and immunity. *Marine biology* 3 (165):1-15.
- Warner, M. E., D. J., Suggett. 2016. The photobiology of *Symbiodinium spp.*: linking physiological diversity to the implications of stress and resilience. En: Goffredo, S., Z., Dubinsky. *The Cnidaria, past, present and future: The World of Medusa and her sisters.* Springer. Suiza pp. 489-509.

Weber, M., C., Lott, K. E., Fabricius. 2006. Sedimentation stress in a scleractinian coral exposed to terrestrial and marine sediments with contrasting physical, organic and geochemical properties. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 336 (1): 18-32.

Weis, V. M. 2008. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211 (19): 3059-3066.

White, A. E., F. G., Prael, R. M., Letelier, B. N., Popp. 2007. Summer surface waters in the Gulf of California: Prime habitat for biological N₂ fixation. *Global Biogeochemical Cycles*. 21 (2): 1-11

Wicks, L. C., R., Hill, S. K., Davy. 2010. The influence of irradiance on tolerance to high and low temperature stress exhibited by *Symbiodinium* in the coral, *Pocillopora damicornis*, from the high-latitude reef of LordHowe Island. *Limnology and Oceanography*. 6 (55): 2476-2486.

Wright, R. M., G. V., Aglyamova, E., Meyer, M. V., Matz. 2015. Gene expression associated with white syndromes in a reef building coral, *Acropora hyacinthus*. *BMC genomics*. 16 (1): 1-12

Yakovleva, I. M., A. H., Baird, H. H., Yamamoto, R., Bhagooli, M., Nonaka, M., Hidaka. 2009. Algal symbionts increase oxidative damage and death in coral larvae at high temperatures. *Marine Ecology Progress Series*. 378: 105-112.

Zeppilli, D., R., Danovaro. 2009. Meiofaunal diversity and assemblage structure in a shallow-water hydrothermal vent in the Pacific Ocean. *Aquatic Biology*. 5 (1): 75-84.

Zinngrebe, J., A., Montinaro, N., Peltzer, H., Walczak. 2014. Ubiquitin in the immune system. *EMBO reports*. 15 (1): 28-45.

ASTM D1293-12, Standard Test Methods for pH of Water , ASTM International, West Conshohocken, PA, 2012,

[Web] National Center for Biotechnology Information (NCBI). Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information. Último acceso 27/02/2020: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>

[Web] Andrews S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Último acceso 27/02/2020: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>

[Web] LaJeunesse, T. C., J. E., Parkinson, R. K., Trench. 2012. *Symbiodinium*. V. 04 July 2012. <http://tolweb.org/Symbiodinium/126705/2012.07.04>

[Web] Veron J.E.N., M. G., Stafford-Smith E., Turak, L. M., DeVantier. 2016. Corals of the World Accessed 04 Mar 2019, version 0.01. <http://www.coralsoftheworld.org/page/home/?version=0.01>

IPCC, 2018: Resumen para responsables de políticas. En: Calentamiento global de 1,5 °C, Informe especial del IPCC sobre los impactos del calentamiento global de 1,5 °C con respecto a los niveles preindustriales y las trayectorias correspondientes que deberían seguir las emisiones mundiales de gases de efecto invernadero, en el contexto del reforzamiento de la respuesta mundial a la amenaza del cambio climático, el desarrollo sostenible y los esfuerzos por erradicar la pobreza [Masson-Delmotte V., P. Zhai, H.-O. Pörtner, D. Roberts, J. Skea, P.R. Shukla, A. Pirani, W. Moufouma-Okia, C. Péan, R. Pidcock, S. Connors, J.B.R. Matthews, Y. Chen, X. Zhou, M.I. Gomis, E. Lonnoy, T. Maycock, M. Tignor y T. Waterfield (eds.)].

11 ANEXOS

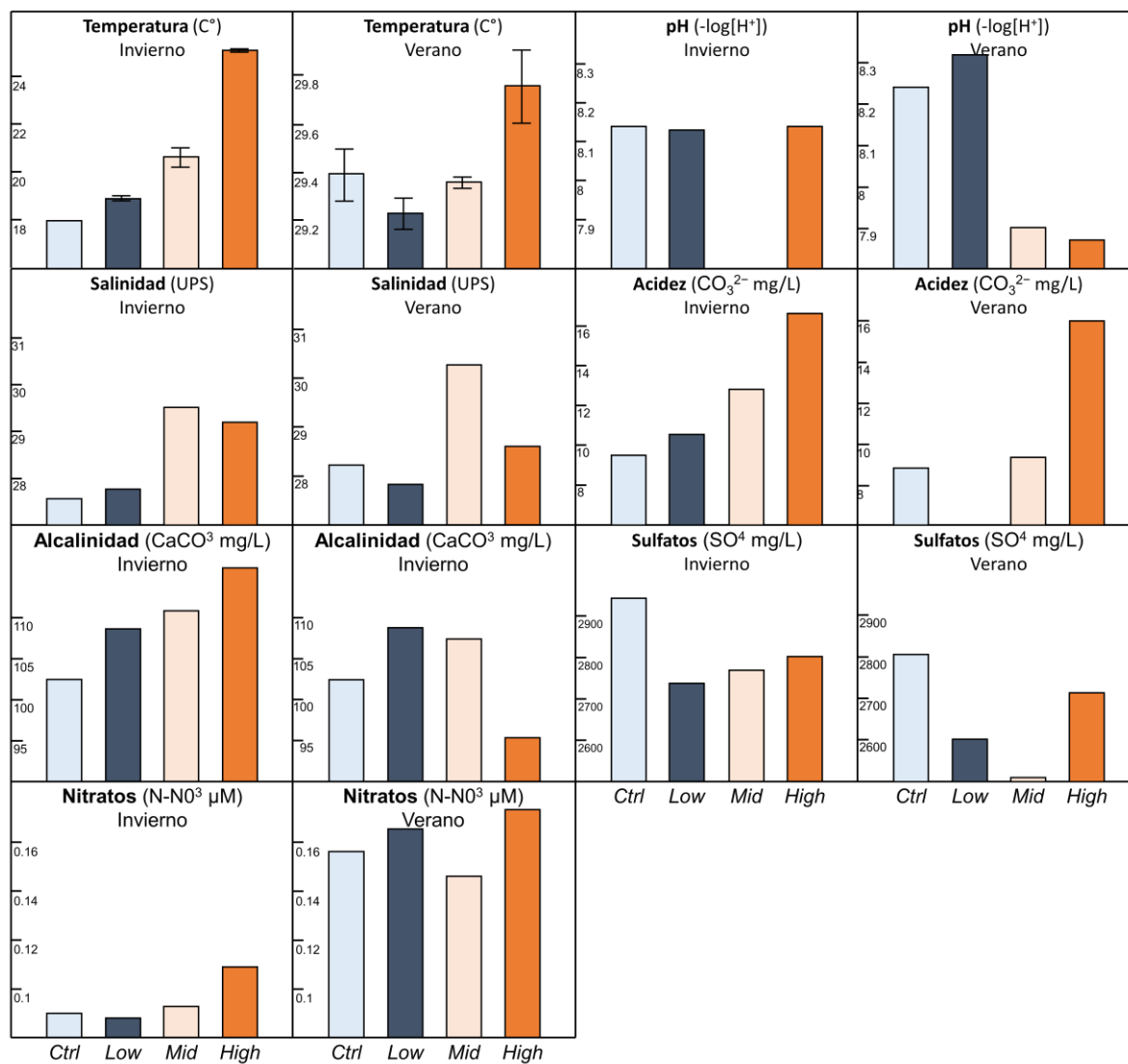
Anexo I. Lista de secuencias hospedero (ND1) y simbiote (PsbA) de genbank.

Hospedero Simbiote	Número de acceso en genbank	Referencia
<i>Cladocopium</i> A	AJ884909.1	Barbrook <i>et al.</i> , 2006
<i>Cladocopium</i> C31c	JQ043601.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C31c	JQ043604.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C30	JQ043605.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C31	JQ043613.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C3h	JQ043627.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C3h	JQ043629.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C3h	JQ043630.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C3h	JQ043631.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C3	JQ043641.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C27	JQ043667.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C27	JQ043669.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C27	JQ043671.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C27	JQ043674.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i> C27	JQ043676.1	LaJeunesse & Thornhill, 2011
<i>Cladocopium</i>	KF572185.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572186.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572187.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572195.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572199.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572202.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572209.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572210.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572211.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572212.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572213.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572215.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572216.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572217.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572218.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572219.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572220.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572221.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Cladocopium</i>	KF572222.1	Thornhill <i>et al.</i> , 2014
<i>Porites panamensis</i>	KJ546638	Del Río-Portilla <i>et al.</i> , 2016
<i>Porites sverdrupi</i>	KU956960	Paz-García <i>et al.</i> , 2016
<i>Porites porites</i> .	DQ643837.1	Medina <i>et al.</i> , 2006
<i>Porites lutea</i>	NC_029695.1	Niu <i>et al.</i> , 2016
<i>Porites lobata</i>	NC_030186.1	Tisthammer <i>et al.</i> , 2016

Anexo II. Análisis químico-proximal realizados a las muestras de agua.

AQP	Método	Referencia
Salinidad	Argentometría	Herman et al., 1959
pH	Conductividad	ASTM, 2012
nitritos	Colorimetría	Shinn, 1941
sulfatos	Colorimetría	Kitigawa & shibata, 1958
acidez	Conductividad	Anderson & Robinson, 1946
alcalinidad	Conductividad	Anderson & Robinson, 1946

Anexo III. Graficas de barras sobre los parámetros ambientales entre temporadas (Verano – Invierno) y condiciones (*Ctrl*, *Low*, *Mid* y *High*).



Anexo IV. Análisis de componentes principales de la cuantificación de lecturas total. La forma y color de cada punto indican la temporada y condición del individuo muestreado.

