

La investigación reportada en esta tesis es parte de los programas de investigación del CICESE (Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California).

La investigación fue financiada por el SECIHTI (Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación).

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México). El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo o titular de los Derechos de Autor.

**Centro de Investigación Científica y de Educación
Superior de Ensenada, Baja California**



**Maestría en Ciencias
en Ecología Marina**

**Respuesta fisiológica de *Cladocopium* sp. (Symbiodinaceae) mediante
la cuantificación de la expresión de genes ante cambios ambientales y
espaciales**

Tesis
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
Maestro en Ciencias

Presenta:

Cesar Ivan Jaimes Salinas

Ensenada, Baja California, México

2025

Tesis defendida por
Cesar Ivan Jaimes Salinas

y aprobada por el siguiente Comité

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Codirectora de tesis

Dr. Manuel Alejandro Delgadillo Nuño
Codirector de tesis

Dra. Lorena María Durán Riveroll

Dr. Rafael Andrés Cabral Tena

Dra. Claudia Ventura López



Dr. Rafael Andrés Cabral Tena
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

Dra. Ana Denise Re Araujo
Directora de Estudios de Posgrado

Resumen de la tesis que presenta **Cesar Ivan Jaimes Salinas** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina.

Respuesta fisiológica de *Cladocopium* sp. (Symbiodinaceae) mediante la cuantificación de la expresión de genes ante cambios ambientales y espaciales

Resumen aprobado por:

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Codirectora de tesis

Dr. Manuel Alejandro Delgadillo Nuño
Codirector de tesis

Los arrecifes de coral son ecosistemas que albergan una alta diversidad de especies y contribuyen significativamente a la productividad marina. Estos ecosistemas dependen de interacciones simbióticas, especialmente entre corales y dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae, que proporcionan nutrientes esenciales a los corales a cambio de protección. Sin embargo, esta relación es susceptible ante factores de estrés y se ve amenazada por el cambio climático y las actividades humanas. A pesar de esto, estos organismos han logrado una coadaptación a condiciones ambientales cambiantes, y destaca la importancia de la diversidad genética en esta capacidad adaptativa. En particular, en los arrecifes del Golfo de California, donde la diversidad de corales es menor en comparación con otras regiones. Además, el área como Bahía de los Ángeles presenta predominancia de corales del género *Porites* distinguiéndose por su asentamiento y crecimiento en condiciones variables a lo largo del año, debido a las altas latitudes (marginalidad). Todo esto resalta su importancia como un laboratorio natural para estudiar las respuestas de esta simbiosis ante el cambio global. Este estudio consideró dos sitios con diferencias ambientales y dos temporadas contrastantes. Se tomaron muestras de 3 colonias por cada sitio en cada temporada, y se analizó la expresión génica mediante qPCR. Los resultados revelan variaciones en la expresión génica del dinoflagelado simbiote *Cladocopium* sp. entre las localidades, La Llave y El Rincón, evidenciando las estrategias de aclimatación de los simbioses de cada sitio ante diferentes condiciones ambientales. La mayor eficiencia metabólica en La Llave durante la temporada cálida sugiere una mejor utilización de recursos en temporadas cálidas, recurriendo a la autotrofia como principal vía nutricional, mientras que la preferencia por el amonio en temporadas frías en El Rincón y la baja expresión de genes asociados a procesos fotosintéticos, resalta una eficiente estrategia metabólica del simbiote en temperaturas bajas y zonas de poca luz. La comprensión de estas respuestas moleculares es crucial para la conservación de los arrecifes de coral y su resiliencia frente a los desafíos ambientales actuales. Este trabajo proporciona nuevo conocimiento para comprender la compleja interacción y fisiología entre corales y sus simbioses.

Palabras clave: *Porites panamensis*, El Rincón, La Llave, Bahía de los Ángeles, Golfo de California.

Abstract of the thesis presented by **Cesar Ivan Jaimes Salinas** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology.

Physiological response of *Cladocopium* sp. (Symbiodiniaceae) through the quantification of gene expression in response to environmental and spatial changes

Abstract approved by:

Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez
Thesis Co-director

Dr. Manuel Alejandro Delgadillo Nuño
Thesis Co-director

Coral reefs are ecosystems that host a high diversity of species and significantly contribute to marine productivity. These ecosystems depend on symbiotic interactions, especially between corals and dinoflagellates from the Symbiodiniaceae family, which provide essential nutrients to corals in exchange for protection. However, this relationship is vulnerable to stress factors and is threatened by climate change and human activities. Despite this, these organisms have co-adapted to changing environmental conditions, highlighting the importance of genetic diversity in this adaptive capacity. In particular, the reefs of the Gulf of California have lower coral diversity compared to other regions. Furthermore, areas such as Bahía de los Ángeles exhibit a predominance of corals from the genus *Porites*, which thrive under variable conditions throughout the year due to the high latitudes (marginality). This highlights the significance of the region as a natural laboratory for studying how this symbiosis responds to global change. The study examined two sites with environmental differences and two distinct seasons. Samples were collected from three colonies at each site during each season, and gene expression was analyzed through qPCR. The results reveal variations in gene expression of the symbiotic dinoflagellate *Cladocopium* sp. between the sites, La Llave and El Rincón, demonstrating the acclimatization strategies of the symbionts at each site under different environmental conditions. The higher metabolic efficiency in La Llave during the warm season suggests a better use of resources in these periods, relying on autotrophy as the main nutritional pathway. In contrast, the preference for ammonium during cold seasons at El Rincón, along with the low expression of genes associated with photosynthetic processes highlight an efficient metabolic strategy of the symbiont in low temperatures and low-light environments. Understanding these molecular responses is crucial for the conservation of coral reefs and their resilience to current environmental challenges. This work provides new insights into the complex interactions and physiology between corals and their symbionts.

Keywords: *Porites panamensis*, El Rincón, La Llave, Bahía de los Ángeles, Gulf of California

Dedicatoria

Dedico este trabajo a mi familia. A mi hermano Joel Alejandro Jaimes Salinas, por su apoyo, alegría y compañía todos estos años de vida, por ser una gran inspiración para mí y muchas personas, por ser cómplice de aventuras desde que tengo memoria. A mi madre Janeth Salinas Ferrusca, por su cariño inmenso, por su amor de madre, por ser una mujer ejemplar, guiarme noche y día para encontrar siempre el camino correcto y perseguir mis metas y sueños, por valorar todo lo conseguido no importa qué tan pequeño sea y ser agradecido siempre. A mi padre Emilio Joel Jaimes Morales, por ser un padre ejemplar, por sus consejos, por el sacrificio que hace junto con mi madre día a día, por cuidarnos, por enseñarme a perseverar y que conseguir todo lo que uno se propone es posible. A todos ustedes por ser lo más sagrado que tengo en la vida, gracias a ustedes soy el hermano e hijo que felizmente culmina una etapa y un logro más, este logro es tan suyo como mío, sin ustedes no habría llegado hasta donde estoy. Los amo. Gracias por existir.

Agradecimientos

Agradezco al Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California (CICESE) y al Posgrado de Ecología Marina por darme la oportunidad y el apoyo necesarios para realizar mi proyecto de tesis, así como brindarme experiencias en el posgrado que me permitirán ser mejor profesionalista y persona durante mi carrera científica.

A la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI) por brindarme el apoyo económico para realizar mis estudios de posgrado en Ensenada, Baja California (CVU: 1193393).

Un agradecimiento especial a mis directores de tesis, a la Dra. Clara Elizabeth Galindo Sánchez y al Dr. Manuel Alejandro Delgadillo Nuño, por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por su paciencia, los conocimientos compartidos, su dirección y asesoramiento para llevar a cabo un exitoso proyecto de tesis que me permitieron crecer profesionalmente para futuras metas personales.

A los integrantes de mi comité de tesis por sus correcciones, asesoramiento y conocimiento que permitieron terminar de manera exitosa la tesis.

A la Dra. Edna Sánchez Castrejón, por su apoyo en laboratorio y en la realización de los experimentos, así como sus consejos y asesoramiento que enriquecen mi formación.

Agradezco también al equipo de trabajo del Laboratorio de Genómica Funcional: Alexis, Giselle, Roberto, Sadot, Paulina, Mayela, Román y demás compañeros por sus consejos, experiencias, amistad, por estar siempre alentándome y por su disposición en todo momento para que mi estancia fuera de lo más grata.

A mis amigos en el posgrado de ecología marina a Carolina, Jesús, Alejandra, Elizabeth, Paola, Adán, Sandra, Grecia, Grace por su amistad incondicional, por escucharme y ayudarme a ver las cosas desde otra perspectiva, por estar en las buenas y en las malas y por hacer que la realización de mis estudios fuera mucho más amena y divertida.

Un agradecimiento especial a la bióloga Samai Arce Jiménez quien su gran amistad, cariño y comprensión me ayudó a sobreponerme de los retos de la maestría tanto de manera profesional como

personal, por sus palabras de aliento, por su apoyo incondicional, por las buenas y malas experiencias, siendo parte importante y un motor en esta etapa de mi vida.

A mis familiares, tíos, tías, primo(a)s, abuelos, a aquellos que ya no están en este mundo, pero siguen latentes en nuestras memorias, por ser un gran pilar en mi vida y darme inspiración para trabajar en mis metas, aprender de ellos a siempre ser mejor persona día con día. A mi segunda familia, a mis amigos, por apoyarme en las buenas y malas, por sus consejos, apoyo moral y sobre todo por su inigualable amistad, una amistad que durará y estará presente en mis logros.

Tabla de contenido

| | Página |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Resumen en español..... | ii |
| Resumen en inglés..... | iii |
| Dedicatoria | iv |
| Agradecimientos..... | v |
| Lista de figuras..... | x |
| Lista de tablas | xiii |
| | |
| Capítulo 1. Introducción..... | 1 |
| 1.1 Antecedentes | 3 |
| 1.1.1 Arrecifes de coral en el Pacífico Oriental Tropical | 3 |
| 1.1.2 Comunidades coralinas y su adaptación en Bahía de los Ángeles | 4 |
| 1.1.3 Genes y vías involucrados en la aclimatación y la respuesta fisiológica en endosimbiontes Symbiodiniaceae | 6 |
| 1.2 Justificación | 8 |
| 1.3 Hipótesis..... | 8 |
| 1.4 Objetivos | 9 |
| 1.4.1 Objetivo general | 9 |
| 1.4.2 Objetivos específicos..... | 9 |
| | |
| Capítulo 2. Metodología..... | 10 |
| 2.1 Área de estudio | 10 |
| 2.1.1 Golfo de California..... | 10 |
| 2.1.2 Bahía de los Ángeles..... | 11 |
| 2.1.3 Sitios de muestreo..... | 11 |
| 2.1.4 Variables ambientales | 13 |

| | | |
|-------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.2 | Análisis de expresión de genes asociados a fotosíntesis y asimilación de nitrógeno | 13 |
| 2.2.1 | Búsqueda y diseño de cebadores..... | 13 |
| 2.2.2 | Extracción de ARN | 15 |
| 2.2.3 | Purificación de ARN (Tratamiento con DNAsa) | 16 |
| 2.2.4 | Síntesis de ADN complementario (ADNc) | 17 |
| 2.2.5 | Amplificación de los fragmentos de interés mediante PCR en punto final | 18 |
| 2.3 | Cuantificación de la expresión génica..... | 18 |
| 2.3.1 | Curvas estándar..... | 18 |
| 2.3.2 | Ensayo de qPCR para genes de referencia y genes blanco | 20 |
| 2.3.3 | Análisis de estabilidad de genes de referencia o housekeeping..... | 21 |
| 2.3.4 | Obtención de la expresión relativa | 22 |
| 2.4 | Análisis estadísticos..... | 22 |
| Capítulo 3. Resultados | | 24 |
| 3.1 | Caracterización ambiental..... | 24 |
| 3.1.1 | Temperatura de la superficie del mar..... | 24 |
| 3.1.2 | Clorofila <i>a</i> | 25 |
| 3.1.3 | Índice de atenuación de la luz..... | 25 |
| 3.1.4 | Carbono orgánico particulado..... | 26 |
| 3.2 | Obtención de las curvas estándar y eficiencia de reacción | 27 |
| 3.3 | Análisis de estabilidad de los genes de referencia..... | 28 |
| 3.4 | Expresión relativa de genes blanco..... | 29 |
| 3.4.1 | Genes de fotosíntesis | 29 |
| 3.4.1.1 | Gen <i>rbcl</i> | 29 |
| 3.4.1.2 | Gen <i>psbA</i> | 30 |
| 3.4.1.3 | Gen <i>psaA</i> | 31 |
| 3.4.2 | Genes de transporte de nitrógeno..... | 32 |

| | | |
|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.4.2.1 | Gen <i>NRT2</i> | 32 |
| 3.4.2.2 | Gen <i>AMT2</i> | 33 |
| Capítulo 4. Discusión..... | | 35 |
| 4.1 | Expresión de genes de las proteínas fotosintéticas | 35 |
| 4.2 | Expresión de genes de los transportadores de nitrógeno | 39 |
| 4.3 | Vías de fotosíntesis y asimilación de nitrógeno en respuesta a los factores ambientales ... | 42 |
| Capítulo 5. Conclusiones | | 46 |
| Literatura citada | | 47 |
| Anexos | | 70 |

Lista de figuras

| Figura | Página |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Figura 1. Bahía de los Ángeles (BLA). Ubicado en el mar de Cortés a lo largo de la costa de la península de Baja California, México en el municipio de San Quintín. Los recuadros de la izquierda representan la ubicación geográfica de los sitios de muestreo (La Llave y El Rincón). | 12 |
| Figura 2. Diseño de placa para curvas estándar. Se pueden observar las cinco diluciones seriadas por triplicado y el control negativo (NTC); este control no tiene templado. | 19 |
| Figura 3. Ejemplo de una curva estándar de amplificación. En el eje X se encuentran los números de ciclos de la qPCR y en el eje Y la fluorescencia emitida (RFU). Las flechas azules señalan las fases de amplificación, así como el umbral predeterminado. En círculos verdes se muestra la intersección del umbral con la fase exponencial de las curvas, donde se obtiene el dato de Cq final..... | 19 |
| Figura 4. Curva estándar o gráfica de regresión lineal. En el eje X se encuentra el logaritmo de la cantidad inicial de templado y en el eje Y los valores de Cq. Los círculos verdes representan los valores de Cq de los triplicados de cada dilución, ajustados a la recta de regresión lineal trazada. En el recuadro inferior se muestran los valores obtenidos del modelo de regresión lineal. Las flechas azules señalan el valor de eficiencia (E) y la pendiente (<i>slope</i>) de la recta para ese conjunto de datos..... | 20 |
| Figura 5. Curva de disociación. La curva muestra la relación de la desnaturalización de un producto de PCR en función de la temperatura (eje x) y la fluorescencia con la que se detecta (eje y), donde se obtiene una temperatura única de fusión para un producto específico que se muestra en forma de pico en la curva. Como se observa la presencia de un único pico en las curvas de reacción indica la presencia de un solo producto específico en la qPCR realizada. | 21 |
| Figura 6. Datos satelitales de la temperatura superficial del mar semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis. | 24 |
| Figura 7. Datos satelitales de la concentración de clorofila <i>a</i> semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis. | 25 |
| Figura 8. Datos satelitales del índice de atenuación de luz (Kd490) semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis. | 26 |
| Figura 9. Datos satelitales del carbono orgánico particulado (POC) semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis. | 27 |

- Figura 10. Análisis de estabilidad en RefFinder. Se observa el análisis de estabilidad de los genes de referencia contemplados en este estudio. Según la media geométrica ponderada de los distintos algoritmos utilizados, se observa que el gen *SAM* es el más estable. 29
- Figura 11. Expresión relativa del gen *rbcl*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA..... 30
- Figura 12. Expresión relativa del gen *psbA*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos negros representan diferencias significativas entre sitios y los azules entre temporadas (**p < 0.05; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA..... 31
- Figura 13. Expresión relativa del gen *psaA*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos representan diferencias significativas entre sitios (**p < 0.05; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA..... 32
- Figura 14. Expresión relativa del gen *NRT2*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos representan diferencias significativas entre sitios (**p < 0.05; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA..... 33
- Figura 15. Expresión relativa del gen *AMT2*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos azules representan diferencias significativas entre temporadas y los negros entre sitios (**p < 0.05; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA..... 34
- Figura 16. Vía fotosintética en *Cladocopium sp. in hospite*. Mecanismo de la respuesta fisiológica en la vía fotosintética entre temporadas (TF: temporada fría, TC: Temporada cálida) y sitios (R: Rincón, LL: Llave). 44
- Figura 17. Vía de asimilación de nitrógeno en *Cladocopium sp. in hospite*. Mecanismo de la respuesta fisiológica en la vía fotosintética entre temporadas (TF: temporada fría, TC: Temporada cálida) y sitios (R: Rincón, LL: Llave). 45
- Figura 18. Curvas estándar y análisis de regresión lineal de genes de referencia. Del lado izquierdo se observan las curvas de la amplificación de las diluciones seriadas de cada gen. En el lado derecho se encuentra el análisis de regresión lineal de cada curva estándar realizada para cada gen respectivamente. 72
- Figura 19. Curvas estándar y análisis de regresión lineal de genes blanco. Del lado izquierdo se observan las curvas de la amplificación de las diluciones seriadas de cada gen. En el lado derecho se

- encuentra el análisis de regresión lineal de cada curva estándar realizada para cada gen respectivamente. 73
- Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa para la visualización de ARN total extraído del holobionte de muestras de El Rincón. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad de 1 Kb. Los carriles 2-4 muestran los ARN extraídos de *P. panamensis* de la temporada fría del 2022, mientras que los carriles 5-7 corresponden a las muestras de la temporada cálida del 2023. La flechas azules señalan las bandas de ARN de alto y bajo peso molecular del holobionte. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min.. 74
- Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa para la visualización de ARN total extraído del holobionte de muestras de La Llave. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad de 1 Kb. Los carriles 2-4 muestran los ARN extraídos de *P. panamensis* de la temporada fría del 2022, mientras que los carriles 5-7 corresponden a las muestras de la temporada cálida del 2023. La flechas azules señalan las bandas de ARN de alto y bajo peso molecular del holobionte. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min. 74
- Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa para verificar el tratamiento con DNAsa del ARN total del holobionte. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad 100 pb. Los carriles 2-13 corresponden a un conjunto representativo de las muestras tratadas con DNAsa. En el carril 14 se muestra el control positivo con amplificación de con ITS (~420 pb) y el control negativo (NTC) en el carril 15. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min. 75
- Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa para confirmación de síntesis de ADNc. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad 100 pb. En los carriles 2-3 se muestran los amplicones del gen *SAM* (~101 pb) amplificados a partir del ADNc de las muestrAS. En el carril 4 se muestra el control negativo de la reacción de síntesis de ADNc. El carril 5 es el control positivo. El carril 6 es el control negativo de la reacción de PCR (NTC). La electroforesis de realizó a 80 V durante 30 min..... 75

Lista de tablas

| Tabla | Página |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| Tabla 1. Cebadores seleccionados para los ensayos de expresión mediante qPCR y PCR punto final. | 14 |
| Tabla 2. Datos obtenidos a partir de las curvas estándar para genes de referencia y blanco..... | 28 |
| Tabla 3. Cantidades y volúmenes para preparar el Master mix Evagreen 2x. | 70 |
| Tabla 4. Análisis <i>in silico</i> de estructuras secundarias para cada cebador..... | 70 |

Capítulo 1. Introducción

Uno de los ecosistemas más importantes en el planeta Tierra son los arrecifes de coral. En ellos se encuentra una gran diversidad de especies asociadas tanto microorganismos como macroorganismos (Stella et al., 2011), y todos contribuyen significativamente a la productividad energética del ecosistema marino (Brandl et al., 2019). Además, son un recurso socioeconómico y turístico importante (Spurgeon, 1992; Spalding et al., 2017). Los principales organismos formadores de arrecifes son los corales escleractinios (Cnidaria Scleractinia), estos invertebrados son pequeños pólipos que contienen tentáculos que permiten capturar su alimento y llevarlo a su cavidad gástrica, donde es asimilado (Agostini et al., 2012; Brown & Bythell, 2005; Goldberg, 2002). La mayoría de las especies de corales se encuentran en interacción simbiótica con diferentes organismos (bacterias, hongos, virus y cromistas) (Blackall et al., 2015). Particularmente, un grupo de cromistas unicelulares conocidos como dinoflagelados fotosintéticos, de la familia Symbiodiniaceae (LaJeunesse et al., 2018), los cuales mantienen una asociación mutualista con diversas especies de corales (Thrall et al., 2007). En esta simbiosis, que se lleva a cabo dentro de las células gastrodémicas del coral (endosimbiosis), el dinoflagelado le provee fotosintetatos (glucosa, glicerol y otros compuestos orgánicos), mientras que el coral le ofrece protección y nutrientes inorgánicos (nitrógeno, fosfato y dióxido de carbono) al dinoflagelado (Gordon & Leggat, 2010; Casado Núñez, 2013; Fournier, 2013; Yellowlees et al., 2008). Al igual que otras asociaciones simbióticas, esta relación tiene un papel fundamental en las características biológicas y ecológicas del holobionte (Blackall et al., 2015). La cual se considera antigua, diversos registros fósiles la datan del periodo Triásico (hace aproximadamente 240 millones de años), y su evolución ha permitido la formación de distintas especies de coral y ecosistemas coralinos gracias a sus adaptaciones locales (Muscatine et al., 2005).

En condiciones óptimas, esta relación simbiótica mantiene un equilibrio en funciones como la calcificación y la fotoautotrofia (Muller-Parker et al., 2015), lo que sugiere que la fisiología de estos organismos se encuentra en homeostasis. Sin embargo, esta relación es vulnerable a diferentes estresores ambientales, particularmente a las altas temperaturas y radiación solar extrema, que pueden provocar una ruptura de la simbiosis, o blanqueamiento coralino, y desencadenar un desequilibrio fisiológico en ambos organismos debido a la limitación del alimento hacia el coral y la falta de transporte de nutrientes al simbionte (Wooldridge, 2009; Sully et al., 2019; Al-Hammady et al., 2022; Martinez et al., 2022). En las últimas décadas, los ecosistemas de arrecifes de coral han sufrido un gran impacto debido al estrés ambiental derivado de la actividad antropogénica y el cambio climático (Baird et al., 2009; De'Ath et al., 2012; Dungan et al., 2020; Ip et al., 2022; Roberty & Plumier, 2022), provocando un desequilibrio de la simbiosis entre

corales y dinoflagelados con consecuencias ecológicas importantes, como la pérdida de biodiversidad marina, la disminución en las tasas de calcificación y el deterioro del hábitat de diversos organismos asociados a los arrecifes de coral (Hughes et al., 2007; Olguín-López et al., 2018). Todo esto ha generado una problemática de reciente interés, abordada desde diversos enfoques y disciplinas como la ecología y la biotecnología marina (Bellwood et al., 2019).

La importancia socioeconómica y los efectos del cambio climático en los arrecifes de coral han impulsado el desarrollo de estudios, enfocados en comprender estos ecosistemas, su aclimatación y adaptación desde una perspectiva molecular y evolutiva, los cuales han reportado la importancia de los organismos asociados al holobionte coralino (bacterias y simbioses) para responder a las altas temperaturas. Diversos estudios realizados para comprender esta problemática han encontrado que algunas especies de corales y sus simbioses han desarrollado estrategias adaptativas y de aclimatación a lo largo de su historia de vida, lo que les otorga resiliencia ante fenómenos ambientales adversos (Weis, 2010; Drury, 2020; Hidaka, 2016). Los distintos géneros como *Symbiodinium*, *Brevolium*, *Cladocopium* y *Durusdinium* presentan diferente tolerancia térmica (Finney et al., 2010; Oppen et al., 2005; Rowan, 2004; Nitschke et al., 2022; Cárdenas-Alvarado et al., 2021), lo que influye en la selección del tipo de simbiote por parte de los corales con los que se asocian (Tong et al., 2017; Turnham et al., 2023; Tan et al., 2020). Además, esta tolerancia térmica puede estar relacionada también con el genotipo de simbiote que alberga el coral (Howells et al., 2013; Iglesias-Prieto et al., 2004; Oporto-Guerrero et al., 2018; Walther-Mendoza, 2016).

Dado que la diversidad genética de los organismos está relacionada con su capacidad fisiológica para adaptarse a distintos entornos (Booy et al., 2000; Somero, 2010), ciertos estudios en Symbiodiniaceae como el análisis de la expresión de genes (Chen et al., 2020; Russnak et al., 2021), permiten comprender las bases genéticas de la aclimatación fisiológica en el contexto del cambio climático (McGinley et al., 2012; Avila-Magaña et al., 2021; Kenkel & Matz, 2016). Por lo tanto, es esencial conocer y comprender la función del holobionte coralino en el ecosistema, así como los procesos de aclimatación a diferentes cambios ambientales, especialmente al estrés térmico, desde una perspectiva molecular y fisiológica mediante diferentes técnicas *in vitro* e *in situ* (Berkelmans & Van Oppen, 2006; Leggat et al., 2007; Stat et al., 2008; Camp et al., 2020, Amario et al., 2023). Esta información permitirá generar conocimiento para afrontar retos futuros a través de la restauración y de incrementar la resiliencia de estos organismos ante el inminente aumento de temperatura que se espera en los próximos años.

1.1 Antecedentes

1.1.1 Arrecifes de coral en el Pacífico Oriental Tropical

El océano Pacífico contiene diversas regiones que albergan arrecifes coralinos con una gran riqueza de especies de cnidarios asociados a dinoflagelados simbióticos. Particularmente, las comunidades coralinas del Pacífico Oriental Tropical (POT) han generado interés por sus características biológicas, así como la estructura y composición de sus especies (Reyes-Bonilla, 2003; Glynn et al., 2017). Esta región presenta una menor cobertura de coral en comparación con otras regiones del Indo-Pacífico y Pacífico Central (Maragos et al., 2011; Glynn et al., 2016), debido principalmente a la dinámica física y química de las masas de agua en esa región, además de eventos interanuales como El Niño-Oscilación del Sur (Cortés, 1997; Glynn et al., 2017). Aún así, los corales pétreos registrados en esta zona son relevantes para la investigación, debido precisamente a las condiciones de la región, puesto que son clave para la biodiversidad en zonas de gran importancia ecológica, como lo son: el Golfo de California, el Archipiélago de Revillagigedo y la costa del Pacífico Tropical mexicano (Reyes-Bonilla, 2003; Reyes-Bonilla et al., 2008).

Entre las zonas arrecifales del POT más estudiadas en los últimos años, se encuentra el Golfo de California, misma que se caracteriza por tener ecosistemas únicos con una alta riqueza y diversidad de especies (Aburto-Oropeza & Balart, 2001; Olivier et al., 2018; Brusca, 2010). Desde principios de la década del 2000, se registró la presencia de más de 41 especies de corales asociados a algas fotosintéticas a lo largo del Pacífico Oriental, incluyendo el Golfo de California (Glynn & Ault, 2000), en donde los géneros más abundantes son *Pocillopora* y *Porites* (Glynn & Ault et al., 2000; Cabral-Tena et al., 2013; López-Pérez, 2013). Por ejemplo, una de las especies de coral más abundantes del POT es *Porites panamensis*, la cual es endémica de la región a diferencia de otras especies como *Porites lobata* y *P. evermanni* (Boulay et al., 2013). Además, *P. panamensis* tiene una amplia distribución que abarca desde el norte del Golfo de California hasta Colombia (Méndez, 2016; Reyes-Bonilla, 2003; Glynn et al., 2017); y a su vez, uno de los géneros más representativos de la población de dinoflagelados endosimbiontes en esta región es *Cladocopium* (Baker et al., 2017; Lajeunesse et al., 2008; Walther-Mendoza et al., 2016; Wham et al., 2017). Diversos estudios sobre la capacidad de adaptación de este género de endosimbiontes, demuestran que tiende a asociarse con géneros de corales específicos como *Porites* (Putnam et al., 2019). Se ha descrito que *P. panamensis* mantiene una asociación principalmente con dinoflagelados endosimbiontes del género *Cladocopium* (Martínez-Mercado et al., en revisión; Paz-García et al., 2008; Baker et al., 2017). Esta especie de coral ha demostrado una notable resistencia a condiciones ambientales extremas, como

las que se encuentran en sistemas hidrotermales superficiales, gracias a la alta plasticidad genética tanto del coral anfitrión como de sus simbioses zooxantelas (Oporto-Guerrero et al., 2018).

Diversos mecanismos que los corales emplean para mitigar el estrés térmico incluyen la asociación con endosimbiontes tolerantes al calor, la aclimatación y los procesos de adaptación, lo que resalta la diversidad fisiológica de los organismos simbióticos, como los corales escleractínidos, que responden de manera distinta al estrés térmico (Carballo-Bolaños et al., 2020). Por ejemplo, en el Pacífico Tropical Nororiental, se identificaron simbioses de los géneros *Pocillopora* y *Pavona*, cuyas asociaciones son estables y adaptables, permitiendo que estos corales prosperen en condiciones variables (Martínez-Castillo et al., 2022). *Pocillopora grandis* tiene la capacidad de asociarse con *Durusdinium glynnii* y *Cladocopium latusorum*, dos simbioses que, aunque diferentes, muestran fenotipos similares en cuanto a crecimiento esquelético del coral (Turnham et al., 2023). En particular, la asociación con *D. glynnii*, adaptado a condiciones térmicas extremas, podría convertirse en un modelo para la aclimatación en el futuro (Turnham et al., 2023). Por otro lado, el holobionte *Pocillopora* emplea una estrategia de aclimatación térmica en tres niveles: especificidad anfitrión-fotosimbionte, plasticidad transcriptómica del anfitrión y asociaciones fotosimbióticas diferenciales bajo condiciones de calentamiento extremo, lo que le permite enfrentar y adaptarse a los desafíos del cambio climático. (Carballo-Bolaños et al., 2020; Armstrong et al., 2023; Juárez et al., 2024).

La información de estos estudios, han apoyado a formular estrategias de conservación, restauración y planes de manejo (Van Hooijdonk et al., 2013; Bejer et al., 2014; Gil-Agudelo et al., 2020; Saavedra-Sotelo et al., 2011). Las cuales han cobrado relevancia ante el aumento de temperatura en los océanos, que ha amenazado los arrecifes en los últimos años (Avila-Magaña et al., 2021). Sin embargo, la interacción a nivel molecular de los distintos ensamblajes de corales y sus dinoflagelados endosimbiontes en el Pacífico mexicano, incluyendo a *P. panamensis*, ha sido poco estudiada (Reyes et al., 1999; LaJeunesse et al., 2008), particularmente con relación a su capacidad de aclimatación fisiológica y las respuestas transcriptómicas derivadas de cambios ambientales y su resistencia a estos (Berkelmans & van Oppen, 2006).

1.1.2 Comunidades coralinas y su adaptación en Bahía de los Ángeles

Una de las regiones de mayor importancia ecológica en el Golfo de California es Bahía de los Ángeles (BLA), donde las condiciones meteorológicas y oceanográficas tienen una alta variabilidad estacional. A lo largo del año, la temperatura superficial del mar presenta una oscilación significativa: con variaciones desde 11

°C en invierno y hasta 35 °C en verano (Danemann et al., 2008). Además, se registran bajos valores de pH, que oscilan alrededor de 8.1 en los primeros 100 metros de profundidad (Álvarez-Borrego, 2010; Norzagaray-López et al., 2015). Aunque algunos estudios han descrito blanqueamiento de corales a temperaturas superiores a 30 °C y después de eventos como el ENSO en zonas del Golfo de California y el Pacífico mexicano y central (Reyes-Bonilla, 2003; Alvarado et al., 2020; Barraza, 2023; Glynn, 1988), en BLA, aún no se han registrado eventos de blanqueamiento masivo. Aunque, en BLA la temperatura aumentó en promedio 1.28 °C desde 1977 hasta 2016 (Ramos, 2019). Los corales persisten en esta zona a pesar de esta situación. Lo que es un indicio que los sistemas coralinos en esta bahía presentan una adaptación local (Ramos, 2019).

Porites panamensis es un coral característico de BLA, y es uno de los más abundantes en comparación con otras especies en esta región (Reyes-Bonilla et al., 2008; Saavedra-Sotelo, 2013). Este coral realiza una simbiosis mutualista con dinoflagelados de la familia Symbiodinaceae (LaJeunesse et al., 2008). Su comunidad coralina en la zona se destaca por su adaptación a temperaturas variables (que van desde los 14 °C a los 30 °C), a la baja penetración de luz en algunas zonas (-9 m aproximadamente), así como a un alto contenido de fosfatos ($1.8 \mu\text{mol L}^{-1}$) y nitratos ($9.9 \mu\text{mol L}^{-1}$) que podrían asociarse a sus características morfológicas y fisiológicas (Cabello-Pasini et al., 2003; Halfar et al., 2005). Estas características pueden también verse reflejadas a nivel molecular en el simbiote que alberga, el cual pertenece al género *Cladocopium* (Paz-García et al., 2008), sin embargo, aún hay pocos estudios en esta zona sobre la respuesta fisiológica a nivel molecular de este simbiote.

La adaptabilidad es un reflejo de la variabilidad genética de organismos como los corales y sus simbioses (Parkinson & Baums, 2014; Csaszar et al., 2010; Baskett et al., 2009). En el caso de BLA, factores como la actividad antropogénica, la biogeografía, la distancia geográfica, la dirección de las corrientes y las diferencias en las condiciones ambientales (por ejemplo, temperatura, marea, condiciones eutróficas por zonas de afloramiento) pueden ayudar a generar la subdivisión genética (diferentes grupos dentro de una misma especie). Esto se ha observado en el Golfo de California en poblaciones de *Porites panamensis* y el simbiote *Cladocopium* sp., lo que sugiere una estrecha relación entre el coral y la identidad del simbiote con el que se asocia (Paz-García et al., 2008).

El primer estudio de genotipificación realizado en BLA en simbioses, mostró la variabilidad de genotipos entre los endosimbioses *Cladocopium* sp. de corales que residen en tres diferentes sitios dentro de la bahía (El Rincón, Coronado y La Llave) durante las temporadas fría y cálida del 2022. Los resultados indicaron que, El Rincón presentó un genotipo distinto en comparación con los otros dos sitios, que

mostraron genotipos similares (Martínez Mercado et al., en revisión). Estos resultados sugieren una capacidad de adaptación local y resalta las diferencias oceanográficas y ambientales presentes entre los sitios dentro de la bahía. Sin embargo, se necesitan más estudios para comprender los mecanismos de adaptación de *Cladocopium* sp. en BLA.

1.1.3 Genes y vías involucrados en la aclimatación y la respuesta fisiológica en endosimbiontes Symbiodiniaceae

Los endosimbiontes poseen diversas estrategias fisiológicas cuando están bajo estrés (Al-Hammady et al., 2022; Hoadley et al., 2016; Jiang et al., 2021). Gracias al estudio molecular de las respuestas fisiológicas, se puede obtener información acerca de los genes y las proteínas que codifican, así como las vías metabólicas en las que participan (Ganot et al., 2011; Weber et al., 2012; González-Pech et al., 2017). Existen genes constitutivos o “housekeeping” los cuales, presumiblemente, no alteran su expresión independientemente del tipo de estrés. Estos genes codifican para proteínas con funciones esenciales en la célula, por ejemplo los genes *ACT1* (actina) y *Tub* (tubulina) están involucrados en la formación del citoesqueleto, *Cyc* (ciclofilina) y *RPS4* (proteína ribosomal S4) en la síntesis de proteínas; el gen *GAPDH* (Glicerol-3-fosfato deshidrogenasa) tiene una función importante en la glucólisis y el gen *PCNA* (antígeno nuclear de proliferación celular) tiene funciones en la replicación y reparación del ADN (Stürzenbaum & Kille, 2001; Rosic et al., 2011; Bellantuono et al., 2019; Maor-Landaw et al., 2020). Por otra parte, existen genes cuya variación en la expresión permite identificar una respuesta fisiológica que está ocurriendo bajo condiciones de estrés o debido a cambios ambientales (Yuyama et al., 2022; Lin et al., 2019). Algunos estudios han identificado varios de estos genes, por ejemplo, bajo estrés térmico el dinoflagelado *Cladocopium* sp. aumenta la expresión de gen *psbA* (proteína D1 del fotosistema II) para reparar el daño en el fotosistema (McGinley et al., 2012). También se ha visto el aumento de expresión del gen *CYP450* (enzimas citocromo P450), como protección a las especies reactivas de oxígeno (Rosic et al., 2010). En ese mismo género se observó el aumento en la expresión del gen que codifica para la proteína HSP70 (proteína de choque térmico 70) ante un incremento de temperatura (Leggat et al., 2011). Bajo estrés térmico y aumento de CO₂ se observó una baja expresión de *pgpase*, este gen codifica para fosfatasa de glicerol-3-fosfato la cual tiene una función importante en la glucólisis y la producción de energía (Putnam et al., 2013). Finalmente, otro trabajo destaca la importancia de la expresión del gen *apx1* (ascorbato peroxidasa 1) ante el daño oxidativo en *Symbiodinium* sp. (Krueger et al., 2015).

En organismos fotosintéticos (clorofitas, rodofitas, cianobacterias) se han estudiado particularmente las vías de transporte de nitrógeno y fotosíntesis debido a su regulación ante el estrés y los cambios ambientales (Barati et al., 2019; Biswal et al., 2011; Demetriou et al., 2007; Neelam & Subramanyam, 2013; Lachmann et al., 2019). El estudio de dinoflagelados endosimbiontes de la familia Symbiodiniaceae *in hospite* e *in vitro* ha ayudado a comprender su respuesta fisiológica ante estrés ambiental (Jiang et al., 2021; Poquita-Du et al., 2020; Camp et al., 2020; Hoadley et al., 2019). Uno de los mecanismos conocidos ante la exposición a temperatura elevada y alta irradiancia es la reparación del fotosistema II, mediada por la expresión del gen *psbA* y la síntesis de la proteína D1. Este proceso se ha observado en géneros como *Symbiodinium*, *Cladocopium*, *Brevolium* y *Durusdinium* (Hill et al., 2011; Supasri et al., 2021; Warner et al., 1999; Lin et al., 2019; Raymond, 2021). Sin embargo, esta respuesta depende del umbral de tolerancia de cada género; si este umbral es superado, los fotosistemas pueden verse dañados y se alteran las funciones enzimáticas en las vías fotosintéticas (Lesser, 1996; Lilley et al., 2010; Karim et al., 2015; Warner et al., 1996; Takahashi et al., 2009; Warner & Suggett, 2016). Por otra parte, el transporte de nitrógeno en endosimbiontes es conocido ampliamente; se sabe que el consumo de nitrógeno en el simbiote depende en su mayoría del nitrógeno que le proporciona el coral (Allemand et al., 1998; Davy et al., 2012; Lin et al., 2015). En Symbiodiniaceae, las familias de genes que codifican transportadores de nitrógeno denominadas AMT y NRT son las principales involucradas en la incorporación de nitrógeno molecular al simbiote (Van Den Heuvel, 2012; Sproles et al., 2018; Dagenais-Bellefeuille & Morse, 2013). Cuando el simbiote está bajo condiciones ambientales variables se sabe que estos transportadores y las vías asociadas se ven alteradas, por ejemplo, altas concentraciones de nitrógeno pueden ocasionar susceptibilidad a estrés térmico en Symbiodiniaceae (Wiedenmann et al., 2013; Wooldridge, 2013). Si bien es cierto que la expresión de dichos transportadores es regulada por la disponibilidad de los nutrientes y la temperatura ambiental (Pang et al., 2021), parece ser que la respuesta fisiológica varía entre géneros y entre simbioses cultivados e *in hospite*, como *Durusdinium* sp. y *Brevolium* sp. (Bellantuono et al., 2019; Sproles et al., 2020). Sin embargo, aún es escaso el conocimiento sobre la regulación a nivel molecular de esta vía en endosimbiontes Symbiodiniaceae bajo condiciones naturales variables o estresantes.

Este estudio tiene como objetivo comprender la respuesta fisiológica de *Cladocopium* sp. ante condiciones ambientales variables, evaluando su comportamiento entre dos sitios y dos temporadas en Bahía de los Ángeles. Para ello, se utilizarán genes como marcadores biológicos, a través de técnicas como qPCR que ayudan a comprender estos procesos a nivel molecular (Rosic et al., 2011). En particular, se examinará la variación de la expresión de genes asociados a vías metabólicas clave como fotosíntesis y transporte de nitrógeno. Los resultados contribuirán a una mejor comprensión de la respuesta fisiológica de este endosimbiote en las comunidades coralinas de Bahía de los Ángeles.

1.2 Justificación

La evaluación del potencial de adaptación y aclimatación de la familia de endosimbiontes Symbiodinaceae en respuesta a cambios ambientales específicos: variaciones en la temperatura, luz o cantidad de nutrientes, adoptando un enfoque integrativo que considere la plasticidad fenotípica y los patrones de expresión génica es fundamental para comprender la capacidad de resiliencia de la simbiosis coral-Symbiodinaceae ante el cambio climático global en su contexto ecológico. El estudio de la capacidad de aclimatación fisiológica de dinoflagelados endosimbiontes *Cladocopium* sp. asociados al coral *Porites panamensis* en regiones altamente variables, como lo es BLA, permitirá comprender la simbiosis de Symbiodinaceae en otros corales, y aportará conocimiento acerca del establecimiento y mantenimiento de esta asociación simbiótica.

BLA es un sitio con condiciones variantes a lo largo de año, que se considerarían desfavorables para el crecimiento coralino. Sin embargo, se han descrito poblaciones de *P. panamensis* que habitan en diversos sitios en la Bahía, principalmente en el sitio extensamente estudiado “La Llave”, en donde se ha registrado una alta tasa de reclutamiento y estabilidad del microbioma coralino. En contraste con el sitio recién descrito y menos estudiado “El Rincón”, el cual presenta una mayor atenuación de luz, turbidez y material orgánico disuelto. Las marcadas diferencias ambientales entre ambos sitios así como las diferencias en la morfología del coral y el genotipo de los simbiontes, indican una adaptación local dentro de la Bahía. Por lo que se sugiere que los simbiontes de cada sitio presenten una respuesta fisiológica distinta entre las temporadas tan marcadas que existen en BLA.

1.3 Hipótesis

Dadas las condiciones contrastantes de atenuación lumínica y turbidez entre los sitios de La Llave (menor atenuación; $K_d490 = 0.8 \text{ m}^{-1}$) y El Rincón (mayor turbidez; $\text{Chl-}a = 25 \text{ mg m}^{-3}$, $\text{POC} = 1000 \text{ mg m}^{-3}$), además de la diferencia de temperatura entre temporadas cálidas ($29 \text{ }^\circ\text{C}$ - $31 \text{ }^\circ\text{C}$) y frías ($16 \text{ }^\circ\text{C}$ - $18 \text{ }^\circ\text{C}$) en Bahía de los Ángeles, se espera que:

- Los niveles de expresión relativa de los genes de interés asociados a la fotosíntesis, así como al transporte de nitrógeno serán: 1) mayores en los simbiontes de La Llave durante la temporada cálida, caracterizada por una menor atenuación lumínica, en comparación con la temporada fría, 2) menores en El Rincón durante la temporada cálida que durante la temporada fría, debido a la

turbidez del sitio y a una mayor atenuación lumínica y 3) los simbiontes de La Llave, presentarán estrategias distintas de aclimatación mediante una mayor expresión relativa de los genes de interés asociados a los procesos de fotosíntesis y el transporte de nitrógeno, en comparación con simbiontes de El Rincón, debido a las diferencias de atenuación, turbidez y concentración de carbono orgánico particulado (POC).

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la expresión relativa de genes de *Cladocopium* sp. en respuesta a los cambios de irradiancia, temperatura, turbidez, y las características oceanográficas y ambientales de sitios con distintas ubicaciones dentro de la Bahía de los Ángeles, Baja California, y determinar su relación con la aclimatación fisiológica ante la variabilidad espacial y estacional.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar las diferencias en la expresión relativa de genes de *Cladocopium* sp. entre los sitios El Rincón y La Llave.
- Determinar las diferencias de expresión relativa de genes de *Cladocopium* sp. entre la temporada fría y la temporada cálida en El Rincón y La Llave.
- Evaluar la relación entre los niveles de expresión relativa y las características ambientales y oceanográficas de cada sitio.

Capítulo 2. Metodología

2.1 Área de estudio

2.1.1 Golfo de California

El Golfo de California es una región en Pacífico mexicano de más de mil kilómetros de longitud y entre cuarenta a doscientos kilómetros de ancho. La circulación y la composición de las aguas son influenciadas por el clima y los procesos oceánicos de la región. Generalmente las surgencias y los vientos inducen la mezcla vertical a lo largo del golfo, lo que da como resultado una alta productividad biológica (Vázquez-Figueroa et al., 2009; SEMARNAT & CONANP, 2014). Por su ubicación geográfica, contiene una diversidad única de ecosistemas y tiene enorme importancia en la industria pesquera y turística (Arizpe, 2004; Gómez, 2007; Salomón-Aguilar et al., 2009; Cisneros-Montemayor et al., 2020). Ambientalmente, se caracteriza por contener grandes cantidades de sedimentos que se mantienen en suspensión regularmente por fuertes interacciones de las corrientes marinas. Dichos sedimentos son ricos en nutrientes, carbono inorgánico disuelto y elementos traza (Lluch-Cota et al., 2007; Espinosa-Carreón & Escobedo-Urías, 2017; Jara-Marini et al., 2008; Jara-Marini et al., 2012; Valladolid-Garnica et al., 2023; Young, 2016).

La estacionalidad es generalmente bien marcada, así como su dinámica física, los vientos débiles del sureste viajan durante el verano y los más fuertes del noroeste durante el invierno (Lluch-Cota et al., 2007; Lluch-Cota et al., 2010). En la superficie, las condiciones fisicoquímicas están dominadas en gran medida por el viento y la dinámica oceánica a lo largo del año (Pardo Rueda et al., 2009; Hernández-Ayón et al., 2013; Bustos-Serrano & Castro-Valdez, 2006). Las temperaturas ambientales más altas se encuentran al norte y sur del golfo durante el verano, mientras que las más bajas se encuentran en la mitad de la parte norte y alrededor de las grandes islas durante invierno (Lluch-Cota et al., 2007; Halfar et al., 2004; Galland et al., 2019; Soto-Mardones et al., 1999).

El Golfo de California se divide en sur, central y norte. Dentro de esta división se encuentran regiones de importancia oceanográfica: en la parte norte se encuentra la región de las Grandes Islas, con tres bahías importantes: Bahía de las Ánimas, Bahía San Rafael y Bahía de los Ángeles (Danemann & Ezcurra, 2008).

Esta última está situada en la costa oriental de Baja California frente a la isla Ángel de la Guarda (Buenrostro et al., 1991).

2.1.2 Bahía de los Ángeles

Bahía de los Ángeles (BLA) está situada dentro del Golfo de California y se ubica a los 29° 00' N y 113°O. Esta zona tiene un clima árido y variable, alta evaporación y vientos cambiantes a lo largo del año (Buenrostro et al., 1991). Las temporadas de lluvia mayormente son en verano e invierno. La temperatura está marcada por temporadas, y se han registrado hasta 35 °C en temporada cálida, y julio y agosto son los meses más cálidos; en temporada fría se ha registrado hasta 11 °C, y son enero y febrero los meses más fríos. La media anual es de 22 °C (Cavazos, 2008; Hidalgo González et al., 1997; SEMARNAT & CONANP, 2014). Las masas de agua superficiales son ocupadas generalmente por las corrientes que entran desde el sur del golfo, llegan al Canal de Ballenas, donde finalmente se descargan hacia BLA, lo que mantiene condiciones biogeoquímicas cambiantes a lo largo del año en esta zona (Martínez-Fuentes et al., 2022; Lavaniegos, 2012). Los procesos oceanográficos controlan principalmente la productividad primaria en BLA; con un aumento de biomasa por la influencia de los vientos y las surgencias en invierno (Martínez-Fuentes et al., 2022; Hernández-Nava & Álvarez-Borrego, 2013; Lavaniegos, 2012). El sur de BLA presenta una mayor productividad 6-36 mgC m⁻³ h⁻¹ y alto contenido de nitratos NO₃ (5.5-17.1 μM). En comparación con la entrada de la bahía cerca de la región de las grandes islas, donde se ha reportado una productividad de 1.7-8.2 mgC m⁻³ h⁻¹ (Álvarez-Borrego, 2010). Finalmente, en BLA se han obtenido valores de pH de alrededor de 8.1 disminuyendo a 7.9 para los primeros 100 m de profundidad. Además, la salinidad es constante durante el año (35.2-38.2) (Danemann & Ezcurra, 2008; Halfar et al., 2005).

2.1.3 Sitios de muestreo

Se realizaron cuatro muestreos: dos en 2022, uno en temporada fría (Marzo) en La Llave y otro en la misma temporada (Diciembre) en El Rincón. De igual forma en 2023 se realizaron 2 muestreos en temporada cálida, uno en La Llave y el otro en El Rincón, ambos en Agosto. Se recolectaron fragmentos de colonias de *Porites panamensis* en cada muestreo en estos sitios diferentes de BLA: La Llave (28°59'57.1'' N 113°31'11.1'' W), que se localiza en la zona este de la isla La Llave, y está protegido de corrientes por un grupo de islas. El segundo sitio es El Rincón (28°91'49'' N 113°47'37'' W), situado al sur de BLA, en la

zona adentrada de la bahía, donde no está protegido por islas, además que se encuentra más cerca de la costa continental (Figura 1).

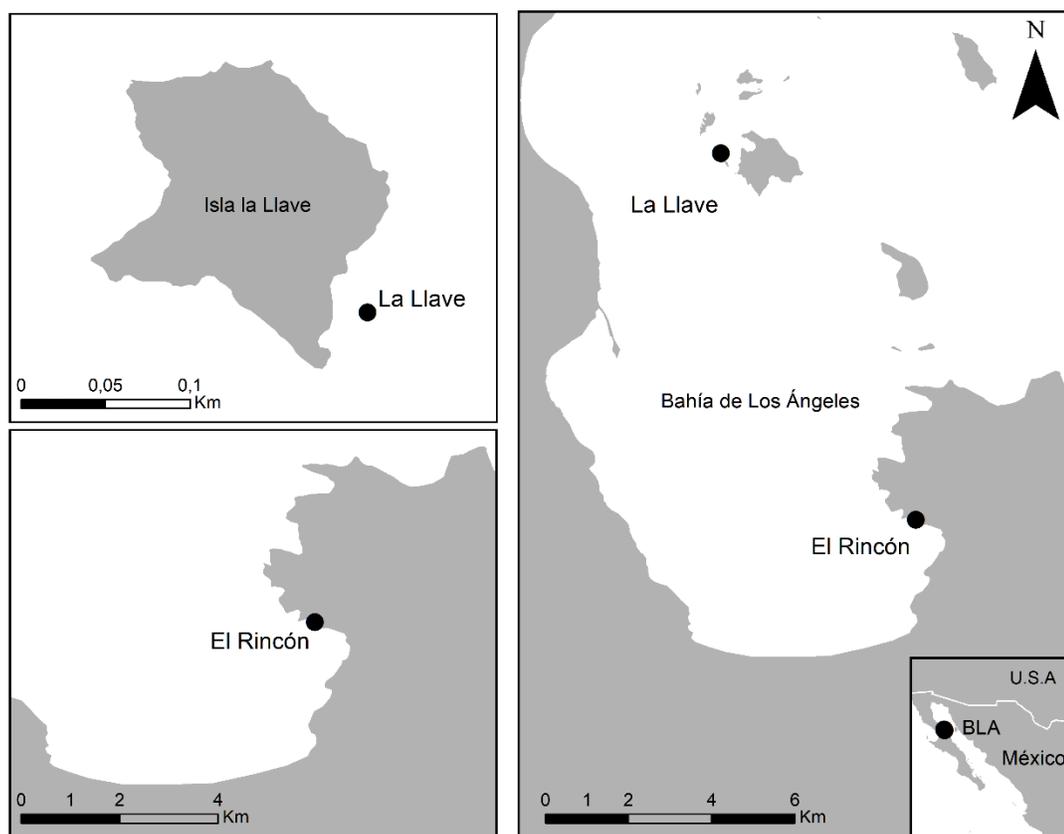


Figura 1. Bahía de los Ángeles (BLA). Ubicado en el mar de Cortés a lo largo de la costa de la península de Baja California, México en el municipio de San Quintín. Los recuadros de la izquierda representan la ubicación geográfica de los sitios de muestreo (La Llave y El Rincón).

Los fragmentos de colonias de *P. panamensis* fueron tomados de colonias incrustadas en rocas volcánicas mediante buceo SCUBA. Las colonias fueron tomadas a una profundidad de entre 3 a 5 metros. Se seleccionaron las colonias que no presentaran señales de blanqueamiento o enfermedad. Se tomaron fragmentos de la parte exterior de las colonias con un tamaño aproximado de 5 cm cada uno con cincel y martillo. Los fragmentos se enjuagaron con agua ultrapura y se colocaron inmediatamente en tubos plásticos estériles de fondo cónico de 50 mL con NAP buffer, el cual contiene: EDTA 0.019 M, citrato de sodio 0.018 M, sulfato de amonio 3.8 M, ajustando el pH a 5.2 usando H_2SO_4 . Se mantuvieron a 4 °C hasta su transporte al CICESE, donde se mantuvieron en el laboratorio de Genómica Funcional a -20 °C hasta su análisis.

2.1.4 Variables ambientales

Con el fin de representar la variabilidad ambiental de cada sitio (La Llave y El Rincón) y su dinámica estacional, en los meses y años de muestreo se obtuvieron las variables ambientales de temperatura de la superficie del mar (SST), clorofila *a* (Chl-*a*), el índice de atenuación de la luz (Kd490) y el carbono orgánico particulado (POC) a través de datos satelitales usando la plataforma Giovanni (<http://giovanni.gsfc.nasa.gov>). Los datos satelitales contemplan la serie de tiempo de los años 2022 y 2023, a partir de promedios semanales con una resolución espacial de 4 Km. Mediante la plataforma RStudio se comprobaron los supuestos de normalidad (Prueba Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Prueba de Bartlett). Una vez corroborados los supuestos, se analizaron mediante estadística no paramétrica (Kruskal Wallis) y posteriormente se realizó una prueba *post hoc* KWmc con ajuste de Bonferroni para encontrar diferencias entre las variables por sitios y temporadas e identificar las diferencias entre los grupos con una significancia estadística de $p < 0.05$.

2.2 Análisis de expresión de genes asociados a fotosíntesis y asimilación de nitrógeno

2.2.1 Búsqueda y diseño de cebadores

Mediante una extensa revisión bibliográfica se seleccionaron los genes de interés (genes blanco) y se obtuvieron las secuencias de cebadores a partir de la literatura consultada (Rosic et al., 2011; Pang et al., 2022; McGinley et al., 2012; Mayfield et al., 2014). Se obtuvo un par de cebadores para cada gen, uno en dirección sentido o *forward* (Fwd, por sus siglas en inglés) y otro en dirección reversa o *reverse* (Rev, por sus siglas en inglés). La selección se enfocó en dos rutas principales: 1) genes de fotosíntesis, *rbcL* (RuBisCO), *psbA* (proteína D1) y *psaA* (proteína A1)) y 2) genes del transporte de nitrógeno, *AMT2* (transportador de amonio 2) y *NRT2* (transportador de nitrato 2). Para la selección de los genes de referencia también se consideró la bibliografía consultada (Rosic et al., 2011) y se seleccionaron dos pares de cebadores (Fwd y Rev) de los genes *Cyc* (ciclofilina) y *SAM* (S-adenosil metionina). Finalmente, se diseñó un tercer par de cebadores (Fwd y Rev), a partir de la secuencia del gen *Tub* (tubulina) obtenida a partir del transcriptoma de *Cladocopium* sp. aislado a partir de muestras de *Porites panamensis* de BLA y confirmado mediante secuencias homólogas en NCBI.

Para comprobar la ausencia de ADN genómico en todas las muestras de ARN total extraído del holobionte después del tratamiento con la enzima DNasa mediante una PCR punto final se utilizaron los cebadores SYM-VAR (Tabla 1) de la región del espaciador interno transcrito 2 del ADN nuclear ribosomal (ADNr) (Hume et al., 2018), los cuales fueron específicos para la familia Symbiodinaceae. En la Tabla 1 se muestran las secuencias de los oligonucleótidos con sus características (longitud y T_A).

Tabla 1. Cebadores seleccionados para los ensayos de expresión mediante qPCR y PCR punto final.

| Nombre | Cebadores (5'-3') | Tamaño de amplicón (pb) | T_A (°C) | Referencia |
|-------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|-------------------------|------------|-------------------|
| Cyc (Cyclophilin) | Fw: ATGTGCCAGGGTGGAGACTT Rv: CCTGTGTGCTTCAGGGTGAA | 101 | 58 | Rosic, 2011 |
| SAM (S-adenosyl methionine synthetase) | Fw: GCCTACATTTGCCGACAGATG Rv: AATGGCTTGGAACACCAAT | 101 | 59 | Rosic, 2011 |
| Tub (Tubulin alpha chain) | Fw: CGCGCTTTTCAAGCTTTCCT Rv: CGGCATCTGACCATCAGGT | 141 | 62 | Este estudio |
| rbcL (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) | Fw: CAGTGAACGTGGAGGACATGT Rv: AGTAGCACGCCTCACCGAAA | 126 | 61 | Mayfield., 2014 |
| psbA (Chlorophyll a apoprotein B1) | Fw: TGCAGAACTGCAGGAGATATTAGCC Rv: TACTCCAAGGGCAGTGAACC | 214 | 53 | McGinley, 2012 |
| psaA (Chlorophyll a Apoprotein A1) | Fw: AAGAATTGGGAACAGCAGAT Rv: TCACAGGGATAAGTAAAACCAA | 150 | 48 | McGinley, 2012 |
| NRT2 (Nitrate Transporter 2) | Fw: AGAATGATGATACCAATCCCAC Rv: CAAACACAGTCCGCCAG | 115 | 56 | Pang et al., 2022 |
| AMT2 (Ammonium Transporter 2) | Fw: GTCCATGGGAATCGTGAAT Rv: AAGGCAGCGAACACCAA | 177 | 57 | Pang et al., 2022 |
| SYM_VAR (Internal Transcribed Spacer 2) | Fw: GAATTGCAGAACTCCGTGAACC Rv:CGGGTTCWCTTGTYTGACTTCATGC | 420 | 56 | Hume et al., 2018 |

Para cada par de cebadores, se analizaron y se evaluaron *in silico*. Se corroboró que cumplieran las características óptimas para su amplificación mediante PCR en tiempo real incluyendo: la longitud del fragmento (pb), la temperatura de fusión (T_m) y el porcentaje de guaninas y citocinas (%G/C), mediante

dos plataformas OligoAnalyzer™Tool de IDT (Integrated DNA Technologies) (<https://www.idtdna.com/site/Account/AccountSetup?returnurl=/calc/analyzer>) y PrimerBlast de NCBI (National Center of Biotechnology Information) (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>). Adicionalmente, se analizó la probabilidad de formación de estructuras secundarias como horquillas por autocomplementación, homodímeros y heterodímeros, usando como referencia los rangos establecidos para los valores de ΔG y ΔH . Los valores de la formación de horquillas (ΔH) y homodímeros (ΔG) fueron menores a $-3.5 \text{ Kcal mol}^{-1}$ y los valores de la formación de heterodímeros fue menor de -9 Kcal mol^{-1} (Tabla 4 Anexos). Finalmente, mediante la herramienta BLAST en el portal del NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) se analizaron secuencias homólogas que permitieron corroborar la identidad y porcentaje de similitud de los genes seleccionados. Las secuencias de los cebadores seleccionados y diseñados se sintetizaron en la empresa T4oligo (Irapuato, Guanajuato).

2.2.2 Extracción de ARN

La extracción de ARN se realizó a partir de fragmentos de coral de $\sim 1 \text{ cm}^2$, los cuales fueron pesados en una balanza analítica (Adventurer Pro, OHAUS, New Jersey, USA). Se analizaron tres colonias distintas por sitio y temporada, de cada colonia se obtuvieron tres réplicas biológicas. Se emplearon entre 400-500 mg de cada muestra biológica compuesta del tejido del coral, células simbiotas, moco y esqueleto. La muestra fue macerada en un mortero estéril presionando con un pistilo suavemente hasta formar una pasta homogénea. La pasta se transfirió a un tubo nuevo de 1.5 mL, manteniéndolo en hielo a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ para evitar la degradación del material nucleico. Para remover el exceso de NAP buffer, la muestra se lavó con 1 mL de H_2O libre de nucleasas (Promega, Wisconsin, USA) mediante agitación suave (invirtiendo el tubo) y se centrifugó a $14,000 \times g$ por 5 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ (Centrífuga 5424R, Eppendorf, Hamburgo, Alemania). Se desechó el sobrenadante y se agregó 1 mL de Tri Reagent (Sigma-Aldrich, Misuri, USA), y 1 μL de HCl 6 M. La mezcla se homogeneizó con un pistilo hasta obtener un color turbio. Posteriormente, el lisado se centrifugó a $14,000 \times g$ por 5 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. El sobrenadante se transfirió a un tubo nuevo de 1.5 mL, y se incubó a temperatura ambiente ($21 \text{ }^\circ\text{C}$) por 5 min. Se añadieron 300 μL de cloroformo (99.9%, Sigma-Aldrich, Misuri, USA), se agitó suavemente y se incubó a temperatura ambiente ($21 \text{ }^\circ\text{C}$) por 5 min. Se centrifugó a $14,000 \times g$ por 15 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. Se recuperó la fase acuosa, se agregó 1 V de etanol al 100% (99.7%, Fermont, Monterrey, México), se agitó suavemente y se dejó precipitando 1 h a $-80 \text{ }^\circ\text{C}$. El precipitado se centrifugó a $14,000 \times g$ por 15 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$ y se retiró el sobrenadante. Posteriormente se hicieron dos lavados con 1 mL de etanol al 75% (99.7%, Fermont, Monterrey, México), y se centrifugó cada vez a $14,000 \times g$ por 5 min a $4 \text{ }^\circ\text{C}$. El pellet se secó a temperatura ambiente ($21 \text{ }^\circ\text{C}$) por 10 min. Las pastillas

se resuspendieron en 40 μL de H_2O libre de nucleasas. La integridad del RNA se analizó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.3%, utilizando buffer de carga 6X con Gel-Red como colorante (BIOTIUM, Fremont, CA). La concentración del RNA total fue determinada por medio de un espectrofotómetro por absorbancia a 260 nm (Nanodrop 2000, Thermo Scientific™, Massachusetts, USA).

La extracción de ARN total del holobionte utilizando el protocolo descrito resultó en una calidad óptima de ARN para los análisis posteriores. Por el procesamiento de la muestra no se lograron apreciar las bandas ribosomales en algunas muestras, sin embargo, todas las muestras se pudieron trabajar para sintetizar ADNc (Figuras 20 y 21 ANEXOS). La cuantificación del material genético permitió obtener una cantidad óptima de ARN de *Cladocopium* sp., el simbiote asociado, dado que el ARN de este último forma parte del ARN total extraído del holobionte.

2.2.3 Purificación de ARN (Tratamiento con DNAsa)

El ARN total extraído se purificó mediante un tratamiento con DNAsa (Promega, Wisconsin, USA) para eliminar la contaminación por ADN genómico (ADNg). En tubos de 1.5 mL se realizó una mezcla que contenía lo siguiente: para cada reacción de limpieza se utilizaron 5 μg de RNA, se agregó 1 U de RQ1 DNAsa (Promega, Wisconsin, USA) por cada 1 μg de ARN (5 μL), 1X (5 μL) de RQ1 Buffer 10x y agua libre de nucleasas (Promega, Wisconsin, USA) para un volumen de reacción de 50 μL . La mezcla se incubó a 37 $^{\circ}\text{C}$ por 30 min. Posteriormente, se centrifugó brevemente por 3 s en una microcentrífuga (USA Scientific, Florida, USA) para recuperar el condensado y se colocó en hielo inmediatamente. Se agregó 1 μL de RQ1 DNase STOP solution (Promega, Wisconsin, USA) por cada μg de ARN utilizado, para inactivar la DNAsa. La mezcla se incubó a 65 $^{\circ}\text{C}$ por 10 min, se centrifugó por 3 s para recuperar el condensado y se colocó en hielo. Se agregaron 1/10 de volumen de acetato de sodio 3M pH 5.2, 3 volúmenes de etanol absoluto y se agitaron suavemente. El ARN purificado se precipitó a -80 $^{\circ}\text{C}$ por 1 hr. Posteriormente, se centrifugó a 13,000 x g por 10 min a 4 $^{\circ}\text{C}$ y se descartó el sobrenadante. Se realizó un lavado con 200 μL de etanol al 75%, se agitó cuidadosamente y se dejó en hielo por 5 min. Después se centrifugó a 7,500 x g por 10 min a 4 $^{\circ}\text{C}$ y se descartó el sobrenadante. Finalmente, el pellet se secó a temperatura ambiente (21 $^{\circ}\text{C}$) por 10 min y se resuspendió en H_2O libre de nucleasas en una relación 1:2. La integridad del ARN se analizó por medio de electroforesis en gel de agarosa al 1.2%, utilizando buffer de carga 6X con Gel-Red (BIOTIUM, Fremont, CA) como colorante. La concentración del ARN total fue determinada con un espectrofotómetro por absorbancia a 260 nm. Se realizó una PCR punto final para verificar que se hubiera eliminado el ADN genómico; se utilizó el termociclador C1000 Touch Thermal Cycler (Bio-Rad, Hércules, CA, USA). La correcta

eliminación del ADNg, se verificó mediante la no amplificación en las muestras de RNA usando una PCR punto final con las siguientes condiciones de reacción: 0.25 U de Go Taq polimeras (Promega), 1X de Buffer de reacción, 3 mM de MgCl₂, 0.2 μM de cebadores SYM-VAR, *forward* y *reverse* respectivamente (Tabla 1), H₂O libre de nucleasas y 1 μL de RNA como templado en un volumen final de reacción de 10 μL. Como control positivo se usó ADN total extraído de *Porites Panamensis* y como control negativo se utilizó agua. El programa de amplificación consistió en: 2 min a 95 °C, seguido por 30 ciclos de 1 min a 95 °C, 30 s a 56 °C, 40 s a 72 °C, y una extensión final de 5 min a 72 °C. El producto de amplificación se corroboró en un gel de agarosa al 1.3% (Figura ANEXO 22).

2.2.4 Síntesis de ADN complementario (ADNc)

A partir de las muestras purificadas, se tomaron 2 μg de ARN total del holobionte para cada reacción de síntesis; estos se mezclaron con 0.5 μg de cebadores aleatorios (hexámeros con secuencias aleatorias) por cada μg de RNA (2 μL) y agua libre de nucleasas para obtener un volumen de reacción de 14 μL. Posteriormente, se incubaron a 70 °C por 5 min, se colocaron en hielo y se centrifugaron para colectar el condensado. Se preparó una segunda mezcla con 8 μL (1X) de Improm II 5x Rx Buffer (Promega, Wisconsin, USA), 6.4 μL (6 mM) de MgCl₂ (25 mM), 0.5 mM (2 μL) de dNTP Mix 10 mM, 40 U (1.0 μL) de ARNsin recombinante, 2 μL de Improm II Transcriptasa reversa y H₂O libre de nucleasas para un volumen final de 26 μL para cada reacción. Esta última mezcla se agregó a los 14 μL de la primera reacción correspondiente de cada muestra problema para obtener un volumen final de 40 μL. Las reacciones de 40 μL se mezclaron mediante pipeteo y se incubaron a 25 °C por 5 min, posteriormente a 42 °C por 1 h y finalmente a 70 °C por 15 min. Las reacciones fueron centrifugadas para recolectar el condensado, puestas inmediatamente en hielo y almacenadas a -80 °C hasta su análisis. Del total de muestras, se seleccionaron varias al azar, procurando tomar al menos una muestra de cada temporada y sitio para verificar la correcta síntesis de ADNc. Se realizaron varias PCR punto final con el ADNc previamente sintetizado con las siguientes cantidades para cada reacción: 0.25 U de Go Taq polimera (Promega), 1X de Buffer de reacción, 3 mM de MgCl₂, 0.2 μM de primers para *SAM*, *forward* y *reverse*, y H₂O libre de nucleasas y 1 μL de la muestra de ADNc como templado en un volumen final de reacción de 10 μL. Como control positivo se utilizó un ADNc sintetizado y enriquecido (con aumento en la abundancia de transcritos para una alta representación en la muestra) a partir de ARN total del holobionte. El programa de amplificación consistió en: 2 min a 95 °C, seguido por 30 ciclos de 1 min a 95 °C, 30 s a 60 °C y 30 s a 72 °C, y una extensión final de 5 min a 72 °C.

2.2.5 Amplificación de los fragmentos de interés mediante PCR en punto final

Una vez verificada la síntesis de ADNc, se evaluaron los cebadores que se seleccionaron y mandaron a sintetizar previamente, corroborando el amplicón para cada gen. Para amplificar los fragmentos se utilizó ADNc del holobionte, diluido 1:5.

Las reacciones de PCR para un volumen final de reacción de 20 μL por muestra consistieron de: 4 μL (1X) de Buffer GoTaq 5x (Promega, Wisconsin, USA), 2.4 μL de MgCl_2 (3 mM), 0.4 μL (0.2 mM) de dNTP Mix 10 mM, 0.4 μL (0.2 μM) de cada cebador *forward* y *reverse*, agua libre de nucleasas y finalmente 3 μL de templado. El programa de amplificación consistió en: 2 min a 95 $^{\circ}\text{C}$, seguido por 30 ciclos de 30 s a 95 $^{\circ}\text{C}$, 30 s a 55 $^{\circ}\text{C}$ – 62 $^{\circ}\text{C}$ (la temperatura de alineamiento utilizada para cada gen se muestra en la Tabla 1), 30 s a 72 $^{\circ}\text{C}$ y una extensión final de 72 $^{\circ}\text{C}$ por 1 min. El tiempo de extensión en la reacción de amplificación, se ajustó de acuerdo al tamaño del amplicon esperado, a razón de 1 min de extensión por cada 1000 pb, además de considerar la temperatura óptima de la enzima Go Taq Flexi DNA polimerasa (Madison, Wisconsin, USA), que va de 68-72 $^{\circ}\text{C}$, siendo la temperatura de 72 $^{\circ}\text{C}$ la más eficiente. Las reacciones se llevaron a cabo en el termociclador C100 Touch Thermal Cycler (Hércules, CA, USA). Los productos de amplificación se corroboraron en un gel de agarosa al 2% como se ejemplifica en la Figura 23 ANEXOS. Todos los oligonucleótidos amplificaron el fragmento deseado.

2.3 Cuantificación de la expresión génica

2.3.1 Curvas estándar

Para establecer las mejores condiciones de amplificación y determinar la especificidad de cada gen blanco y de referencia, se generó una curva estándar por cada gen. Para realizar estas curvas estándar se preparó un pool de cDNA que representa todas las muestras problema, este pool se utilizó como templado para preparar las diluciones. A partir de este templado, se hicieron 5 diluciones seriadas con un factor de dilución 1:5 (0.2). Cada reacción contenía 5 μL de Master Mix Evagreen (2x) (Tabla 3 ANEXOS), 0.2 μM del cada oligo (*forward* y *reverse*) y 1.6 μL de en H_2O ultrapura libre de nucleasas y 3 μL del templado para un volumen final de 10 μL . Cada reacción se realizó por triplicado. El diseño de placa para las curvas estándar se puede observar en la Figura 2. La mezcla de amplificación se homogenizó y se agregaron los 7 μL de la mezcla de amplificación a cada pocillo en una placa estéril para qPCR. Posteriormente se agregaron los 3

μL de templado (*pool* de ADNc). El diseño de la placa para las curvas estándar se puede observar en la Figura 2.

| | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|-------|-------|-------|---|
| A | Dil 1 | Dil 1 | Dil 1 | |
| B | Dil 2 | Dil 2 | Dil 2 | |
| C | Dil 3 | Dil 3 | Dil 3 | |
| D | Dil 4 | Dil 4 | Dil 4 | |
| E | Dil 5 | Dil 5 | Dil 5 | |
| F | NTC | NTC | NTC | |
| G | | | | |

Figura 2. Diseño de placa para curvas estándar. Se pueden observar las cinco diluciones seriadas por triplicado y el control negativo (NTC); este control no tiene templado.

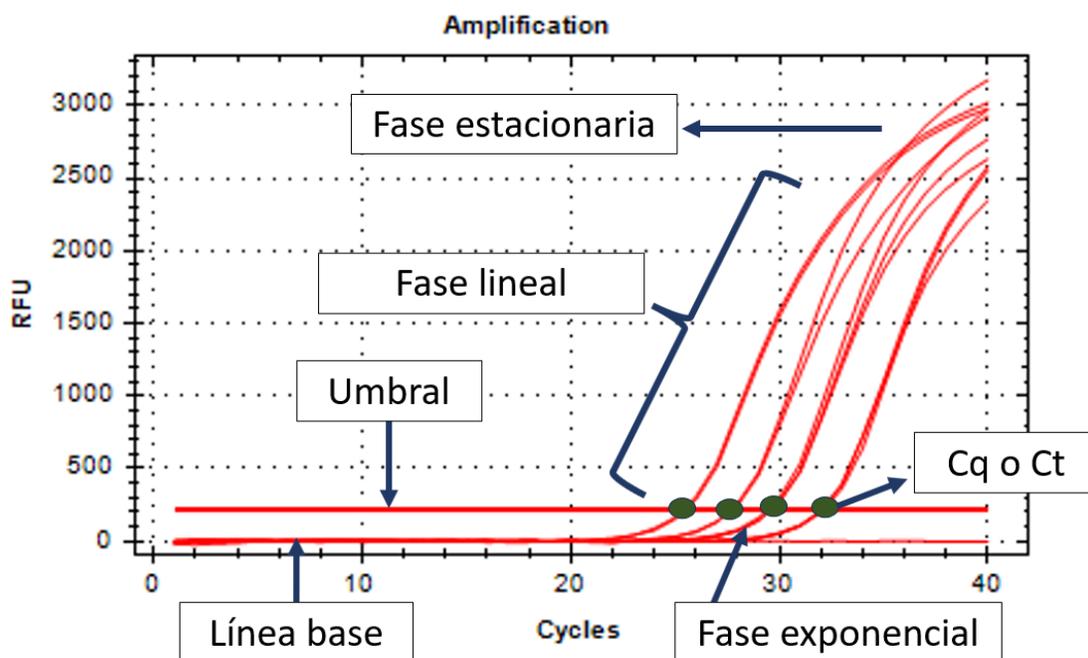


Figura 3. Ejemplo de una curva estándar de amplificación. En el eje X se encuentran los números de ciclos de la qPCR y en el eje Y la fluorescencia emitida (RFU). Las flechas azules señalan las fases de amplificación, así como el umbral predeterminado. En círculos verdes se muestra la intersección del umbral con la fase exponencial de las curvas, donde se obtiene el dato de Cq final.

Teóricamente, una reacción de qPCR puede alcanzar hasta un 100% de eficiencia, lo que significa que en

cada ciclo la cantidad de producto será duplicada. Esto ocurre solamente durante la fase exponencial de amplificación. Los valores C_q obtenidos para cada dilución son los puntos de intercepción entre un umbral predeterminado y la fase exponencial de la curva de amplificación (Figura 3). Para obtener los valores de eficiencia de amplificación, los valores de C_q fueron graficados contra el logaritmo de la concentración y se ajustó una regresión lineal cuya pendiente está relacionada con la eficiencia de la reacción. La pendiente de esta línea y la eficiencia de amplificación se determinan usando la siguiente ecuación:

$$E = 10 \left(\frac{-1}{slope} \right) \quad (1)$$

Donde E es la eficiencia de la reacción y $slope$ se refiere al valor de la pendiente. Una pendiente entre -3.6 y -3.1 corresponde a una eficiencia entre 90% a 110% (Fraga et al, 2008). En la Figura 4 se ejemplifica lo mencionado.

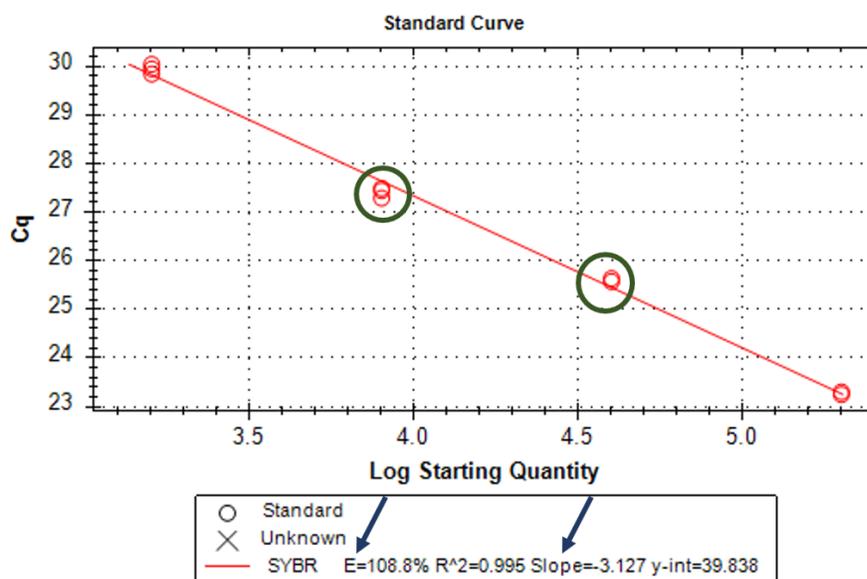


Figura 4. Curva estándar o gráfica de regresión lineal. En el eje X se encuentra el logaritmo de la cantidad inicial de templado y en el eje Y los valores de C_q . Los círculos verdes representan los valores de C_q de los triplicados de cada dilución, ajustados a la recta de regresión lineal trazada. En el recuadro inferior se muestran los valores obtenidos del modelo de regresión lineal. Las flechas azules señalan el valor de eficiencia (E) y la pendiente ($slope$) de la recta para ese conjunto de datos.

2.3.2 Ensayo de qPCR para genes de referencia y genes blanco

Para determinar el nivel de expresión génica tanto de los genes de referencia como de los genes blanco por medio de qPCR, se utilizaron las condiciones de reacción conforme a los resultados de la curva de

estandarización de cada gen. Se utilizó el ADNc sintetizado para cada una de las muestras como templado en una dilución 1:5. Para cada reacción se utilizaron los siguientes componentes y volúmenes: 5 μL de Master Mix EvaGreen 2x (Tabla 3 ANEXOS), 0.2 μL de cebador *forward* 10 μm , 0.2 μL de cebador *reverse* 10 μm , 1.6 μL de H_2O ultrapura libre de nucleasas y 3 μL de templado (ADNc sintetizado). Como control negativo se utilizó H_2O libre de nucleasas. Cada muestra biológica se realizó por triplicado para confirmar su repetibilidad y confianza en los resultados. Los ensayos de qPCR se llevaron a cabo el termociclador CFX96 Real Time System (Hercules, CA, USA). Las condiciones de amplificación se ajustaron para cada gen. Se comenzó con una desnaturalización inicial de 2 min a 95 °C seguidos de 40 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 s, de alineamiento a 55-62 °C (dependiendo de la T_A ° de cada par de cebadores) por 30 s y de extensión a 72 °C por 20 s. Por último, se realizó una curva de disociación de 65 °C a 95 °C con un incremento de temperatura de 0.5 °C cada 0.05 s. A partir de las curvas de disociación se revisó que la amplificación de los genes mostrara un producto único y específico visualizado como un solo pico, como se ejemplifica en la Figura 5.

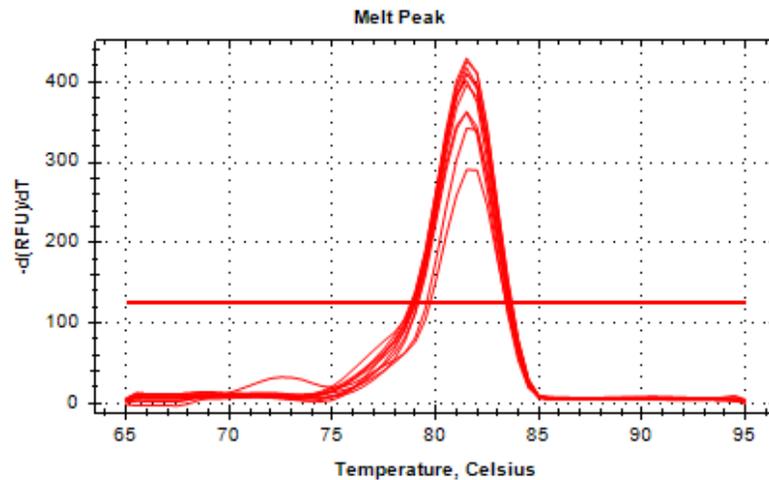


Figura 5. Curva de disociación. La curva muestra la relación de la desnaturalización de un producto de PCR en función de la temperatura (eje x) y la fluorescencia con la que se detecta (eje y), donde se obtiene una temperatura única de fusión para un producto específico que se muestra en forma de pico en la curva. Como se observa la presencia de un único pico en las curvas de reacción indica la presencia de un solo producto específico en la qPCR realizada.

2.3.3 Análisis de estabilidad de genes de referencia o housekeeping

El análisis de estabilidad en la expresión de los genes de referencia seleccionados es esencial para normalizar e interpretar los datos de forma óptima. Huggett et al., (2005) sugieren usar más de un gen de referencia, ya que utilizar un solo gen podría aumentar la posibilidad de sesgos en los resultados finales. Este análisis se basa en los valores C_q obtenidos de todas las muestras conforme a lo descrito en la sección

2.3.2. Se evaluó la estabilidad del nivel de expresión de tres genes de referencia: Tubulin alfa Chain (*Tub*), S-adenosyl methionine synthetase (*SAM*) y Cyclophilin (*Cyc*) con el programa RefFinder (<https://www.ciidirsinaloa.com.mx>), el cual contiene softwares específicos para el análisis de genes de referencia como Genorm (Vandesompele et al., 2002), Normfinder (Andersen et al., 2004) y Bestkeeper (Pfaffl, 2004). Utilizando los valores de Cq obtenidos en los ensayos de qPCR finales, este programa realizó una comparación entre los algoritmos Genorm, NormFinder y BestKeeper para determinar cuál de los genes de referencia era el más estable, según el método empleado por cada uno de los algoritmos. El análisis mostró la media geométrica calculada con los valores de Cq. De esta forma, se obtienen los genes de referencia con la expresión más estable, los cuales fueron óptimos para normalizar los datos de expresión relativa de los genes blanco e interpretar los datos de expresión mediante la aproximación seleccionada.

2.3.4 Obtención de la expresión relativa

La expresión relativa se obtuvo mediante los Cq obtenidos en los ensayos finales de los genes blanco, así como de los genes de referencia más estables y el valor de la eficiencia (*E*) obtenida en la curva estándar para cada gen. El valor de eficiencia funciona como un factor de corrección en el método de cuantificación seleccionado. El método utilizado fue el descrito por Hellemans et al. (2007), en el cual se utilizan dos genes de referencia para normalizar la expresión mediante las siguientes ecuaciones:

$$RQ = (1 + E)^{(Cq\ mean - Cq)} \quad (1)$$

$$Expresión\ relativa = \frac{RQ}{NF} \quad (2)$$

Donde, *RQ* es la cantidad relativa del gen de interés, *E* es el valor de eficiencia de la curva estándar y *NF* es el factor de normalización, el cual se obtiene mediante la media geométrica de las cantidades relativas de los genes de referencia seleccionados, como los más estables.

2.4 Análisis estadísticos

A partir de los datos obtenidos de expresión relativa se eliminaron los datos atípicos u “*outliers*”. Después,

los datos fueron transformados a logaritmo base 2 debido al sesgo que puede existir en los datos de expresión en una escala lineal. Los datos de expresión transformados en logaritmo se vuelven simétricos, lo que permite una respuesta óptima y precisa usando estadística paramétrica (Kennedy & Oswald, 2011). Con ayuda de la plataforma RStudio se comprobaron los supuestos de normalidad (Prueba Shapiro-Wilk) y homogeneidad de varianzas (Prueba de Bartlett). Una vez corroborado los supuestos se realizó un análisis de varianza (ANOVA) de dos vías para encontrar diferencias entre sitios y temporadas. Finalmente, para identificar las diferencias significativas entre los grupos se realizó una prueba *post hoc* Fisher (LSD) con una significancia estadística de $p < 0.05$. Los resultados de expresión se graficaron mediante un gráfico de cajas para comparar y ver las diferencias por temporadas en cada sitio y por sitio para cada temporada. Los gráficos de cajas ayudan a representar la distribución del conjunto de datos, así como los valores máximos y mínimos mediante una barra en sus extremos, lo que permite expresar visualmente cómo se comportan los datos en cada grupo. Los genes se graficaron individualmente para visualizar de mejor forma cómo su expresión se comporta entre temporadas y sitios.

Capítulo 3. Resultados

3.1 Caracterización ambiental

3.1.1 Temperatura de la superficie del mar

Tomando en cuenta las temporadas contrastantes a lo largo del año en BLA (cálida y fría), se realizó una línea de tiempo de la temperatura superficial del mar (SST) de los años 2022 y 2023, en las cuales se observó la variación de temperatura entre la temporada cálida (Junio-Noviembre) y la temporada fría (Diciembre-Mayo) (Figura 6). Se encontraron diferencias significativas mediante la prueba Kruskal-Wallis de los valores promedio de SST entre temporadas de los años 2022 y 2023 ($p < 0.05$). Se observa un comportamiento similar de la temperatura a lo largo de los años entre sitios. El promedio semanal de SST en cada sitio para los días de muestreo en temporada cálida (TC) fueron: La Llave: 29 °C y El Rincón: 31 °C y en la temporada fría: La Llave: 16 °C y El Rincón: 18 °C, de acuerdo con los datos satelitales recopilados.

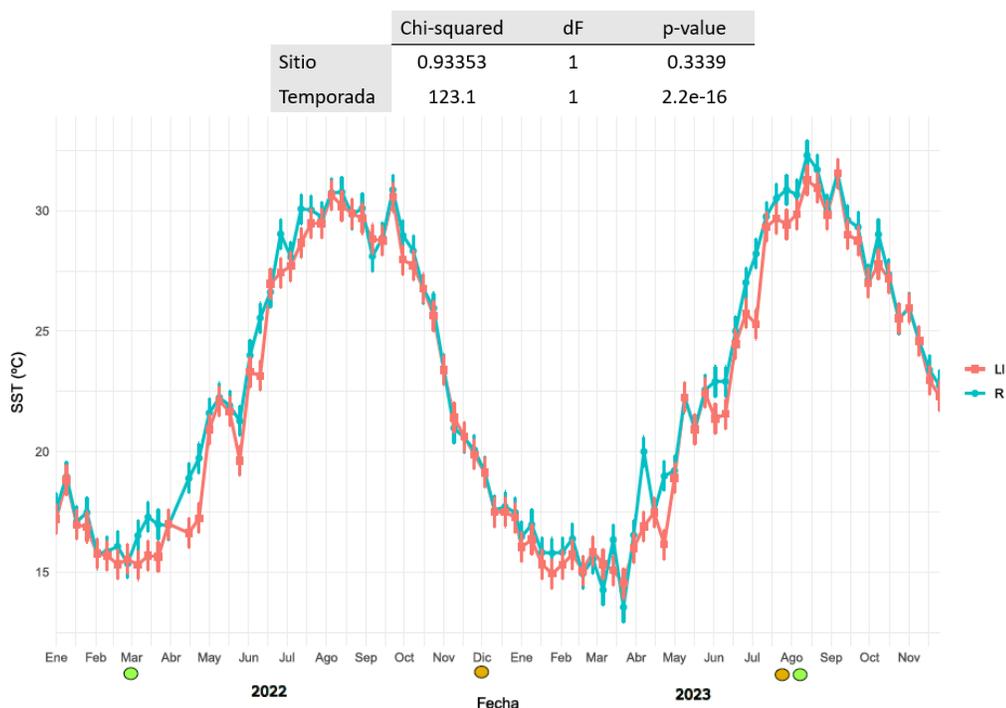


Figura 6. Datos satelitales de la temperatura superficial del mar semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis.

3.1.2 Clorofila *a*

Los datos satelitales de la concentración de clorofila *a* (Chl-*a*) en BLA, mostraron una tendencia diferente de la SST entre ambos sitios durante los años 2022 y 2023. Las gráficas mostraron una mayor concentración significativa ($p < 0.05$) de Chl-*a* en El Rincón durante la mayor parte de ambos años en comparación con La Llave, mediante la prueba Kruskal-Wallis (Figura 7). Sin embargo, se observó un comportamiento similar entre las temporadas cálidas y frías en ambos sitios, ya que, en la temporada cálida la concentración de Chl-*a* disminuyó en La Llave y El Rincón: 1 mg m^{-3} , en comparación con la temporada fría, en el cual la concentración aumentó en ambos sitios. Sin embargo, El Rincón presentó una mayor concentración: 25 mg m^{-3} en comparación con La Llave: 9 mg m^{-3} . Los análisis estadísticos mostraron diferencias significativas entre los promedios anuales entre temporadas ($p < 0.05$), de acuerdo con los datos satelitales recopilados.

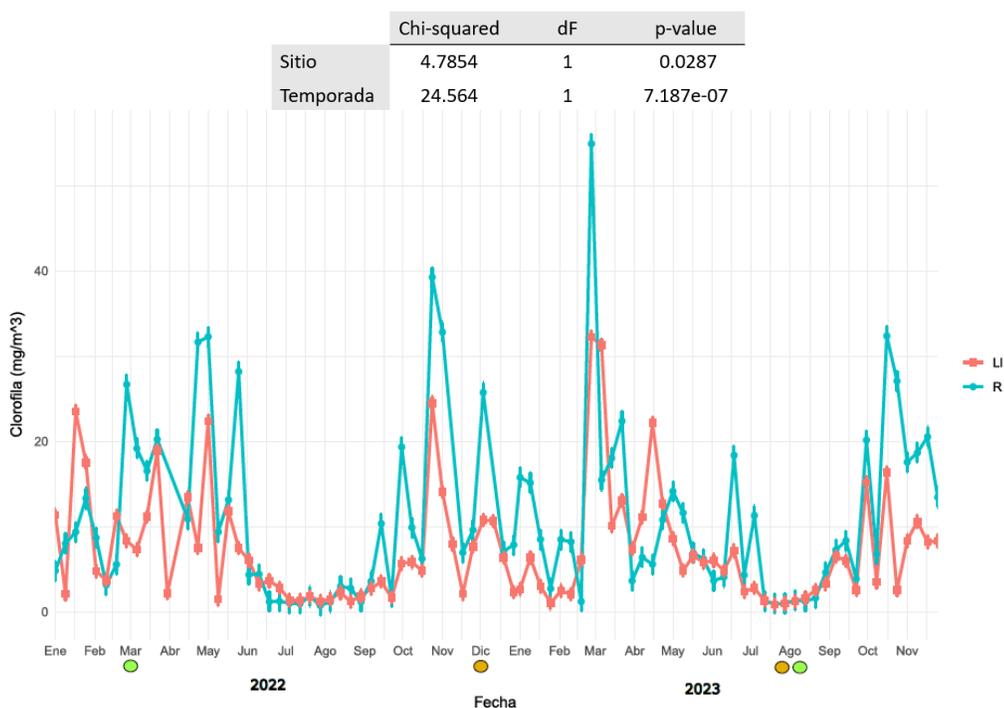


Figura 7. Datos satelitales de la concentración de clorofila *a* semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis.

3.1.3 Índice de atenuación de la luz

La siguiente variable considerada fue el índice de atenuación de luz (K_d490), el cual indica una mayor atenuación entre mayor sea el índice, es decir, una menor penetración de la luz en la superficie oceánica.

Los datos satelitales del índice Kd490 mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre temporadas y sitios mediante la prueba Kruskal-Wallis, donde La Llave muestra un menor índice Kd490 durante la mayor parte de ambos años en comparación con El Rincón (Figura 8), específicamente en la temporada fría, en donde La Llave presentó un índice de 0.8 m^{-1} , en comparación de El Rincón que presentó un mayor índice en esta temporada: 3 m^{-1} . Aunque, curiosamente se comportaron similar a lo largo de las temporadas en ambos años. Por otro lado, aunque, se observó un comportamiento similar al de la $\text{Chl-}a$, durante la temporada cálida entre ambos sitios, en el cual se observa una disminución del índice en ambos: 0.1 m^{-1} aproximadamente. El mes de noviembre del 2022 contiene el mayor índice de atenuación registrado, con un valor de 6 m^{-1} , de acuerdo con los datos satelitales recopilados.

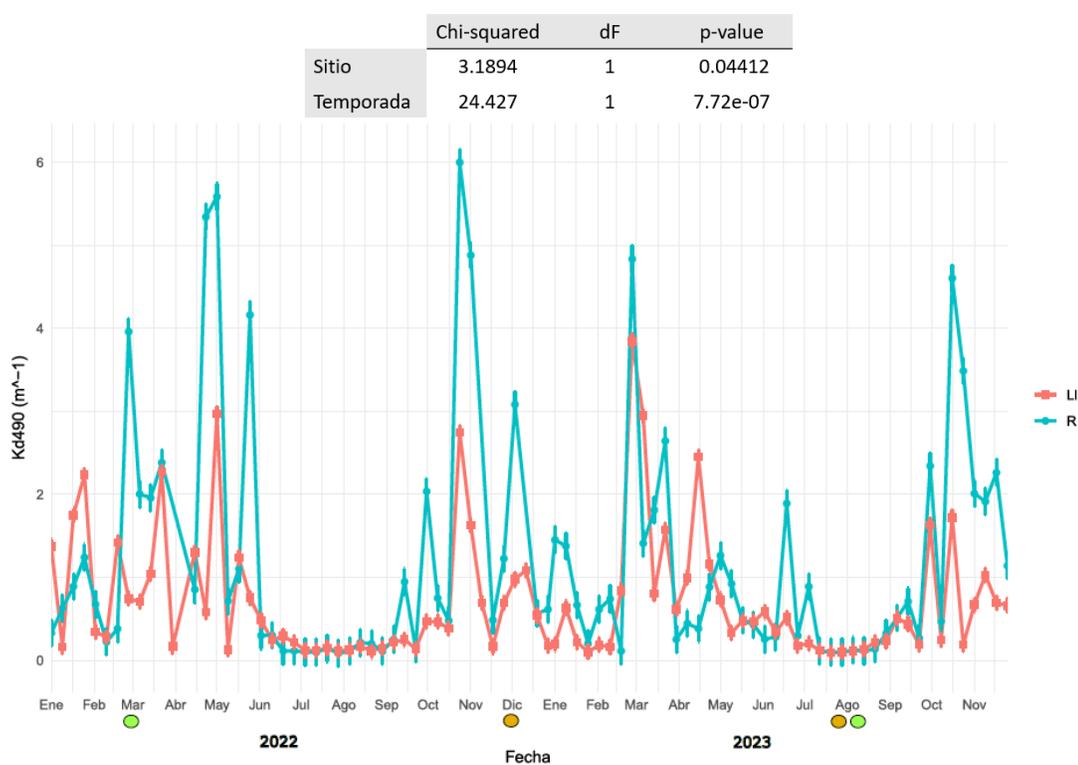


Figura 8. Datos satelitales del índice de atenuación de luz (Kd490) semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis.

3.1.4 Carbono orgánico particulado

La última variable ambiental analizada fue el carbono orgánico particulado (POC). De la misma manera como se observa con las variables anteriores, mediante la prueba Kruskal-Wallis se encontró una diferencia significativa ($p < 0.05$) entre temporada cálida y fría en los años considerados. Ambos sitios, La

Llave y El Rincón muestran valores bajos en la temporada cálida, los cuales son de aproximadamente 230 mg m^{-3} y 240 mg m^{-3} respectivamente en el mes de muestreo de ambos sitios para esta temporada. Por otra parte, durante la temporada fría en ambos sitios presentan valores altos: La Llave: 480 mg m^{-3} , El Rincón: 1000 mg m^{-3} en los meses de muestreo en esta temporada. Entre sitios se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) en los datos anuales promediados, aunque comparten la misma tendencia a lo largo del tiempo. Como se puede observar en la Figura 9, en la mayor parte de 2022 y 2023, el POC fue mayor en el Rincón que en La Llave, especialmente en la temporada fría.

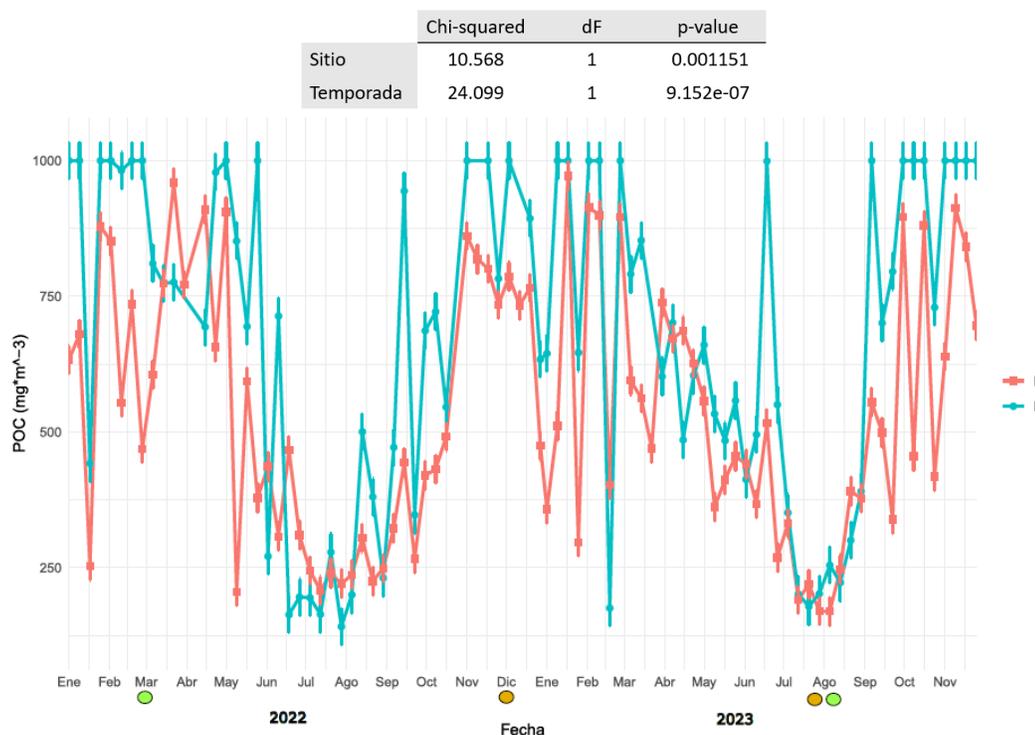


Figura 9. Datos satelitales del carbono orgánico particulado (POC) semanales durante 2022 y 2023 en La Llave (rojo) y El Rincón (azul). Las barras de error representan ± 1 DE. Con círculos verdes se indican los meses de muestreo para La Llave. Con círculos amarillos, los meses de muestreo para El Rincón. En la parte superior se encuentra los resultados del Kruskal-Wallis.

3.2 Obtención de las curvas estándar y eficiencia de reacción

La eficiencia de reacción para cada gen, obtenidas mediante las curvas estándar (Figura 18 ANEXOS), así como la temperatura ideal de alineamiento para amplificar cada gen se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Datos obtenidos a partir de las curvas estándar para genes de referencia y blanco.

| Gen | Tipo | T_A (°C) | Eficiencia |
|-------------|-------------|---------------------------|-------------------|
| <i>Cyc</i> | referencia | 60 | 102.5 |
| <i>SAM</i> | referencia | 60 | 101.5 |
| <i>Tub</i> | referencia | 62 | 107 |
| <i>rbcl</i> | blanco | 60 | 106.4 |
| <i>psbA</i> | blanco | 60 | 108.8 |
| <i>psaA</i> | blanco | 55 | 103.6 |
| <i>NRT2</i> | blanco | 58 | 104.1 |
| <i>AMT2</i> | blanco | 61 | 99.1 |

3.3 Análisis de estabilidad de los genes de referencia

En la Figura 10 se muestra el análisis de estabilidad, en la cual se observa que el gen *SAM* tiene la expresión más estable (1.18), seguido por el gen *Tub* (1.14) y, por último, el menos estable, el gen *Cyc* (3). Los genes de referencia seleccionados fueron *SAM* y *Tub*, con base en los resultados obtenidos del análisis de estabilidad.

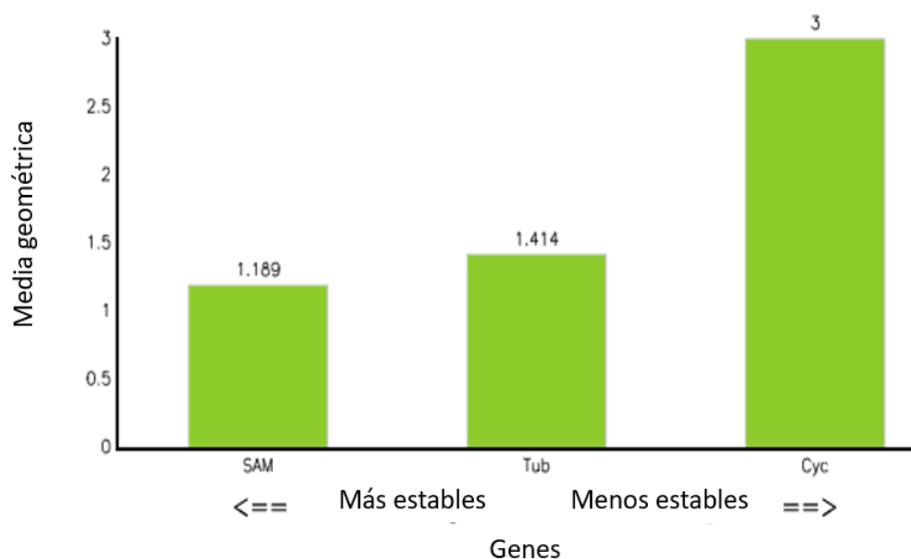


Figura 10. Análisis de estabilidad en RefFinder. Se observa el análisis de estabilidad de los genes de referencia contemplados en este estudio. Según la media geométrica ponderada de los distintos algoritmos utilizados, se observa que el gen *SAM* es el más estable.

3.4 Expresión relativa de genes blanco

La expresión relativa fue calculada con la aproximación descrita por Hellemans et al. (2007), misma que usa dos genes de referencia para normalizar los datos y el valor de eficiencia de la curva estándar de cada gen como método de corrección de los mismos. Los genes de referencia más estables utilizados para la normalización fueron *SAM* y *Tub*.

3.4.1 Genes de fotosíntesis

3.4.1.1 Gen *rbcl*

El primer gen analizado es el *rbcl*, mismo que codifica para la proteína ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), la cual participa en el Ciclo de Calvin-Benson, donde su principal función es fijar el carbono inorgánico en forma de CO_2 que obtiene para generar energía.

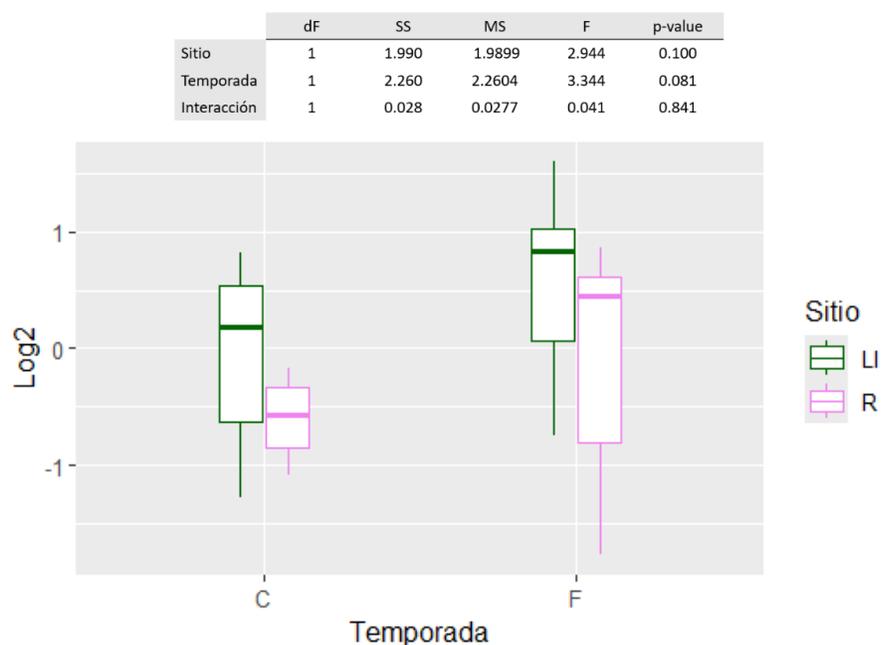


Figura 11. Expresión relativa del gen *rbcl*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA.

La expresión de *rbcl* no mostró diferencias significativas entre temporadas (C: cálida, F: fría) en ambos sitios. Los niveles de expresión entre temporadas para el sitio de La Llave y El Rincón se pueden observar en la Figura 11.

Por otro lado, los niveles de expresión del gen *rbcl* entre sitios tampoco mostraron diferencias significativas (Figura 11).

3.4.1.2 Gen *psbA*

El gen *psbA*, que codifica para la proteína D1, forma parte esencial del fotosistema II (PSII), el cual está localizado en la membrana tilacoide de los cloroplastos. Esta proteína cumple diversas funciones, siendo dos de las más importantes la producción de plastoquinona, un transportador clave de electrones en la cadena de transporte de electrones durante la fotosíntesis, y su participación en la captura de fotones para los procesos autótrofos.

La expresión del gen *psbA* mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre temporadas para el sitio de La Llave, con una expresión significativamente mayor en la temporada cálida en comparación con la temporada fría (Figura 12).

Por otro lado, los niveles de expresión del gen *psbA* entre sitios mostraron diferencias significativas ($p < 0.05$). Para la temporada cálida, La Llave presentó una mayor expresión en comparación con El Rincón. Durante la temporada fría no se presentaron diferencias significativas entre ambos sitios (Figura 12).

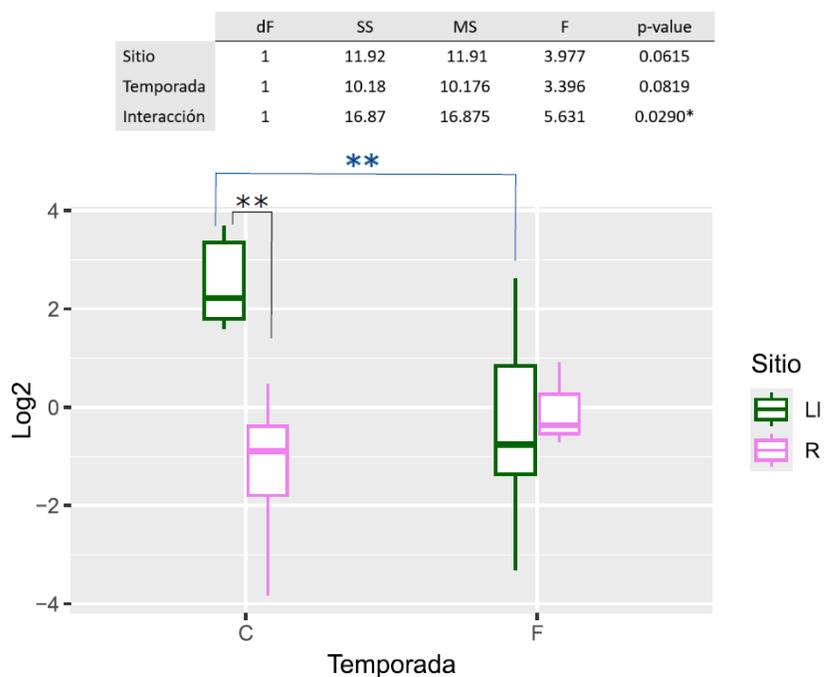


Figura 12. Expresión relativa del gen *psbA*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos negros representan diferencias significativas entre sitios y los azules entre temporadas (** $p < 0.05$; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA.

3.4.1.3 Gen *psaA*

Otro de los genes analizados que tiene funciones en vías asociadas a la fotosíntesis y en el transporte de electrones es el *psaA*. Este gen codifica para la proteína principal del fotosistema I (PSI). El gen *psaA*, igual que el gen *psbA*, es importante en la cadena de electrones que finalmente logra producir moléculas principales, como ATP y NADPH, vitales para el metabolismo del simbiote.

Los resultados de expresión del gen *psaA* no mostraron diferencias significativas entre temporadas de cada sitio como se observa en la Figura 13. Sin embargo, la expresión del gen *psaA* en La Llave fue mayor en la temporada cálida, a comparación de la temporada fría. Por otro lado, El Rincón no presentó una diferencia de expresión significativa entre temporadas.

Por otra parte, la comparación entre sitios mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) entre La Llave y el Rincón, donde La Llave presentó una mayor expresión en comparación con El Rincón en temporada cálida. De igual forma, en temporada fría no hubo diferencias significativas en esta temporada entre los sitios.

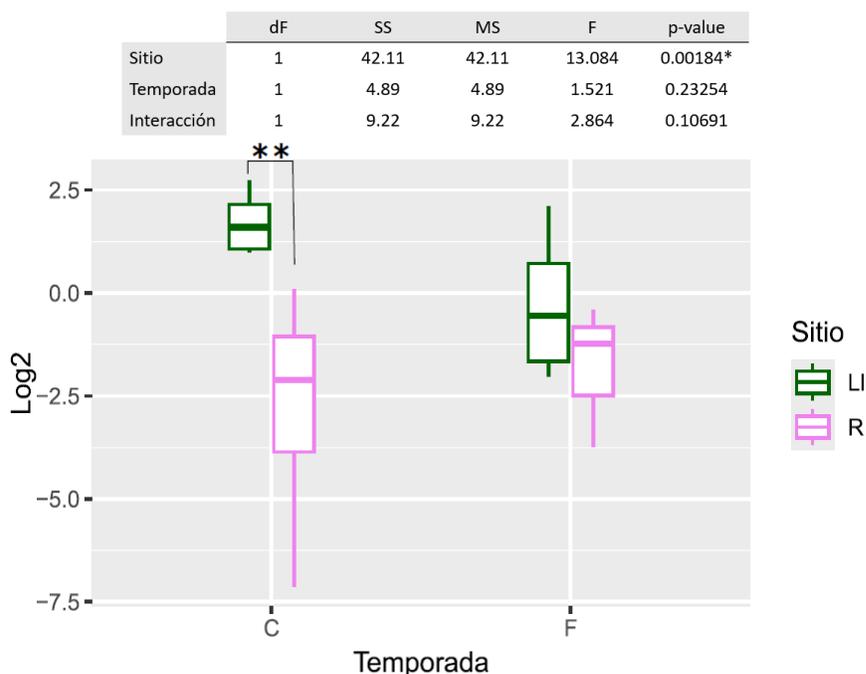


Figura 13. Expresión relativa del gen *psaA*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos representan diferencias significativas entre sitios (** $p < 0.05$; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA.

3.4.2 Genes de transporte de nitrógeno

3.4.2.1 Gen *NRT2*

Otra de las vías importantes para el simbionte es la asimilación del nitrógeno, en la cual participa uno de los genes evaluados conocido como *NRT2*. Este gen codifica para la proteína “Nitrate Transporter 2”, que es una proteína de membrana encargada de transportar el nitrógeno al interior de la célula en su forma

nitrate (NO_3^-). Este gen es importante, ya que el nitrato se utiliza en diversas vías, una de las más importantes es la producción de aminoácidos.

La expresión del gen ***NRT2*** no mostró diferencias significativas entre temporadas en cada sitio (Figura 14). Por otro lado, la comparación entre sitios mostró diferencias significativas ($p < 0.05$) en ambas temporadas: La Llave presentó una mayor expresión, tanto en temporada cálida como en temporada fría en comparación con El Rincón (Figura 14).

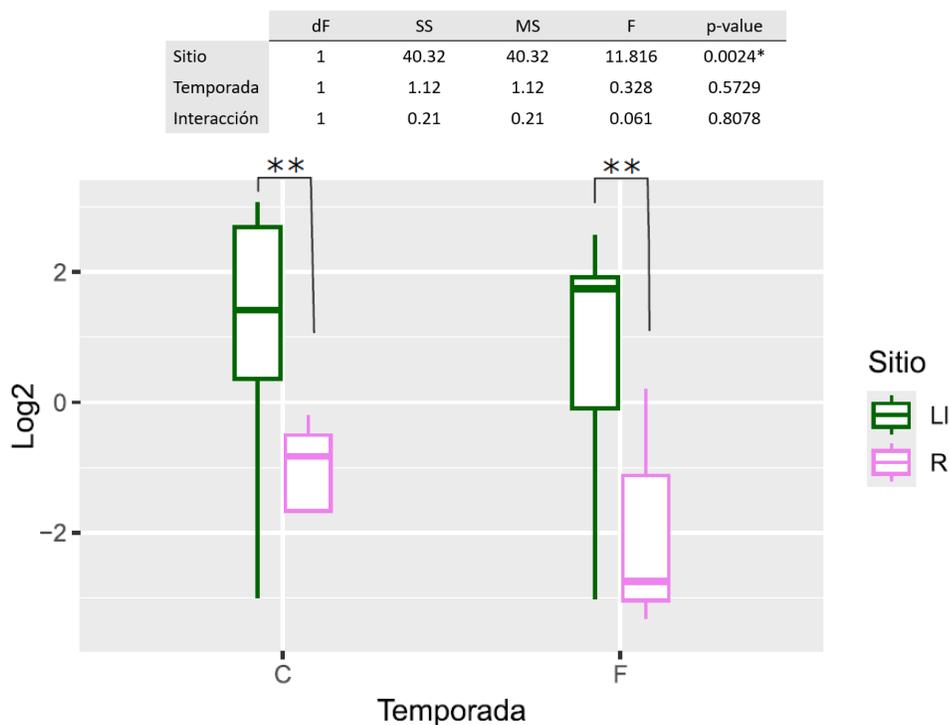


Figura 14. Expresión relativa del gen *NRT2*. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos representan diferencias significativas entre sitios (** $p < 0.05$; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA.

3.4.2.2 Gen *AMT2*

El gen ***AMT2*** codifica para la proteína “Ammonium Transporter 2”, involucrada en la vía de transporte de nitrógeno, ya que transloca nitrógeno al interior del simbiote en su forma NH_4^+ o amonio, y se encuentra en la membrana celular. El amonio es un nutriente importante, utilizado en la producción de aminoácidos para la célula.

La expresión relativa del gen **AMT2** entre temporadas de cada sitio presentó niveles de expresión diferentes. En El Rincón se encontraron diferencias significativas entre ambas temporadas ($p < 0.05$); en la temporada fría la expresión fue mayor. Por otro lado, en La Llave no se observaron diferencias significativas entre temporadas (Figura 15).

La comparación entre sitios mostró que en la temporada cálida hubo diferencias significativas ($p < 0.05$) entre los sitios, y se observó que La Llave presenta una mayor expresión. Por otra parte, en la temporada fría, los sitios no mostraron diferencias significativas (Figura 15).

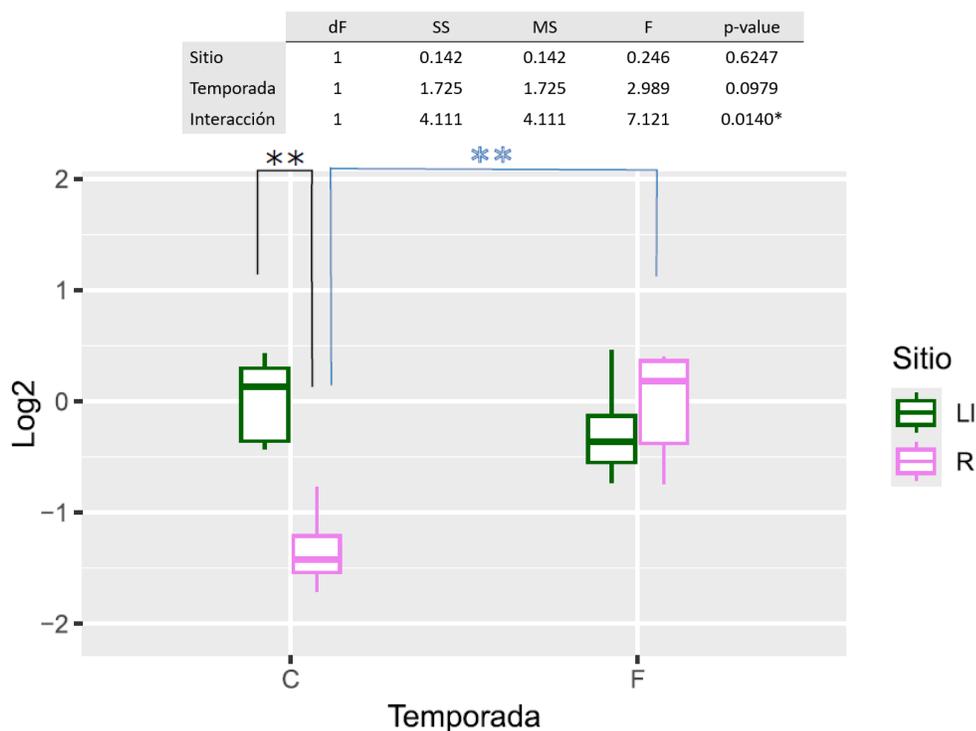


Figura 15. Expresión relativa del gen **AMT2**. En el eje X se observan las temporadas, la temporada cálida (C) y la temporada fría (F). En el eje Y se observa el valor de expresión relativa transformado a Log2. Los sitios se representan en colores diferentes: El Rincón (R) en morado y La Llave (LI) en verde. Los asteriscos azules representan diferencias significativas entre temporadas y los negros entre sitios (** $p < 0.05$; LSD de Fisher). En la parte superior se encuentran los resultados del ANOVA.

Capítulo 4. Discusión

Porites panamensis es un coral escleractinio que se asocia generalmente con simbiontes del género *Cladocopium* (Turnham et al., 2021), su extensa distribución latitudinal a lo largo del Pacífico Oriental Tropical (Glynn et al., 2017) ha despertado el interés sobre su plasticidad fenotípica y la de sus simbiontes. Una de las aproximaciones para entender esta plasticidad es mediante estudios fisiológicos y de expresión génica tanto del coral como de sus simbiontes (Kenkel & Matz, 2016). Por ejemplo, los trabajos de Martínez-Mercado et al., en revisión y Trejo-Estrada et al., 2025 realizados con las mismas colonias de *P. panamensis* de este trabajo, destacan las diferencias ambientales entre tres sitios de Bahía de los Ángeles (Coronado, La Llave y El Rincón), donde el Rincón tiene un mayor índice de atenuación de luz y concentración de clorofila *a* (biomasa), en temporada fría, lo que coincide con lo obtenido en este estudio para ambas variables (Figura 7 y Figura 8). Además, Trejo-Estrada et al., 2025 describen que la diferencia de aclimatación de las colonias de coral *P. panamensis* en La Llave se vió reflejada en marcadores fisiológicos relacionados al simbionte como su densidad dentro del coral y la cantidad de clorofila *a* producida por la célula. En temporadas frías hay una mayor densidad de simbiontes que en temporadas cálidas. Además, sugieren que en temporada cálida hay una mayor concentración de clorofila *a*, producida por el simbionte. Los estudios anteriores sugieren una aclimatación local distinta entre los simbiontes de El Rincón y La Llave, y una respuesta fisiológica mediada por las condiciones ambientales estacionales.

4.1 Expresión de genes de las proteínas fotosintéticas

Partiendo de los trabajos de Martínez-Mercado et al., en revisión y Trejo-Estrada et al., 2025, el presente estudio es el primer trabajo de expresión génica en el simbionte *Cladocopium* sp. asociado a *P. panamensis*, que investiga la forma en la cual los simbiontes responden a través de la aclimatación a los ambientes locales en BLA. Además, los resultados concuerdan con lo reportado por Martínez-Mercado et al., en revisión, ya que el análisis individual de los genes *Cladocopium* sp. entre temporadas (fría y cálida) y sitios (La Llave y El Rincón) mostró diferencias significativas entre todos los genes analizados, con excepción de *rbcl*. Cabe recordar que los genes seleccionados pertenecen a dos vías metabólicas clave de *Cladocopium* sp.: fotosíntesis y transporte de nitrógeno. Entre los genes de fotosíntesis está el gen *rbcl*, que codifica para la proteína ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO), la cual participa en el Ciclo de Calvin-Benson, donde su principal función es fijar el carbono inorgánico (CO₂), el cual es usado para generar compuestos orgánicos (Hauser et al., 2015). El gen *psbA* codifica para la proteína D1 que forma parte esencial del fotosistema II (PSII), que se localiza en la membrana tilacoide de los cloroplastos.

Esta proteína tiene diversas funciones, como la producción de plastoquinona, un transportador crucial de electrones dentro de la cadena transportadora de electrones durante la fotosíntesis y la captura de fotones para procesos autótrofos (Edelman & Mattoo, 2008; Havaux, 2020). El gen ***psaA*** codifica para la proteína A1, la cual es la principal del fotosistema I (PSI). Esta proteína, al igual que la D1, es importante en la cadena de transporte de electrones en el proceso de fotosíntesis que finalmente produce moléculas principales como ATP y NADPH (Tian & Chen, 2024; Wardhan et al., 2017), vitales para el metabolismo del simbionte.

Como se observó en la Figura 12, la expresión del gen ***psbA*** fue significativamente mayor en La Llave que en El Rincón en temporada cálida; además, la expresión génica en La Llave mostró diferencias significativas entre temporadas, y fue durante la temporada cálida cuando el gen ***psbA*** presentó una mayor expresión. Nuestros resultados indicaron que hay una mayor cantidad de luz disponible para el simbionte en La Llave anualmente (Figura 8), por lo que, un mayor número de fotones podrían ser captados por la proteína D1. Esto se traduce en un mayor requerimiento de esta proteína y, por lo tanto, una mayor expresión del gen que la codifica. Además, a medida que la radiación UV irradia a la proteína D1, esta se va degradando constantemente (Chaturvedi & Shyam, 2000; Kettunen et al., 1997), lo que desencadena un proceso de autorreparación de dicha proteína del fotosistema II a través de un aumento en la expresión del gen ***psbA*** ante este daño lumínico (McGinley et al., 2012; Mulo et al., 2012). Ambos procesos, captación de fotones y autorreparación por parte de la proteína D1, serían significativamente mayores en los simbiontes de La Llave en comparación con El Rincón, debido a las diferencias de atenuación de la luz por efecto de una menor y mayor turbidez del agua, respectivamente.

El proceso de degradación y autorreparación de la proteína D1 incrementa cuando se presenta estrés térmico (McGinley et al., 2012), además altas concentraciones de nitrógeno pueden aumentar la susceptibilidad al estrés térmico, donde en El Rincón puede existir una alta concentración de este nutriente (Figura 9) (Wiedenmann et al., 2013; Wooldridge, 2013). Experimentos *in vitro* con cultivos de *Cladocopium* sp. sugieren que, al aumentar la temperatura, en condiciones de luz controlada, la expresión de ***psbA***, incrementa hasta llegar a los 32 °C. Pasando este umbral de temperatura, la expresión del gen disminuye (McGinley et al., 2012), e incluso se inhibe su expresión como se ha observado en el género *Symbiodinium* sp. (Schrameyer et al., 2016), este proceso se conoce como fotoinhibición (Hennige et al., 2012). La temperatura más alta registrada en temporada cálida en BLA fue de aproximadamente 31 °C (Figura 6) para El Rincón, lo que sugiere que los niveles bajos de expresión de ***psbA*** en *Cladocopium* sp. se derivaron de la temperatura, mostrando posiblemente fotoinhibición por estrés térmico (Mulo et al., 2012), además de la cantidad de nitrógeno pudo ser factor para su susceptibilidad ante este estrés. Aunque, a lo largo del año, el Rincón tiene mayor índice de atenuación (Figura 8), en el mes de muestreo se presentó

el mismo índice entre los sitios. Esto indica que la cantidad de luz (fotones) e intensidad de radiación UV fueron otros factores que influyeron directamente en la expresión del gen ***psbA***. Por otro lado, en la temporada fría la temperatura disminuyó a 16 °C en La Llave y 18 °C en El Rincón (Figura 6). Además, la penetración de luz se vio limitada debido al aumento de nutrientes, productividad primaria, materia orgánica (Figura 7 y 9) y de biomasa en BLA (Martínez-Fuentes et al., 2022). Estas condiciones podrían disminuir significativamente la expresión del gen ***psbA***, sobre todo en El Rincón, que es un sitio con mayor turbidez a lo largo del año (Martínez-Fuentes et al., 2022), por lo que el simbionte no requeriría una constante expresión del gen ***psbA*** en El Rincón, en comparación con La Llave. Además, en corales como *Montipora digitata* se observó *in vitro* una disminución de la eficiencia fotosintética de sus simbiontes a temperaturas menores a 20 °C (Saxby et al., 2003).

La expresión del gen ***psaA***, confirma lo anterior, pues su expresión fue similar a lo observado en la expresión del gen ***psbA*** entre los sitios estudiados en BLA (Figura 12). En La Llave, su expresión fue mayor en comparación con El Rincón para ambas temporadas. Dadas las características de La Llave, es posible que haya una constante reparación de la proteína A1 que codifica este gen como sucede con el gen ***psbA*** (McGinley et al., 2013). Como lo muestran algunos estudios, estos genes tienden a tener respuestas similares ante las mismas condiciones de irradiación e incluso en condiciones de estrés térmico (McGinley et al., 2012; Bellantuono et al., 2019; Danilova et al., 2018; Yang et al., 2024). Sin embargo, la expresión del gen ***psaA*** no mostró diferencias significativas entre temporadas (Figura 13). Para El Rincón, mostró una expresión ligeramente menor en la temporada cálida a comparación de la temporada fría, similar a lo observado con el gen ***psbA***. Además, el gen ***psaA*** no tuvo diferencias significativas entre temporadas en La Llave, lo que sugiere que *Cladocopium* sp. podría tener mecanismos alternos para mantener la función del fotosistema I, ya que el daño fotosintético se acumula en su mayoría en el fotosistema II por absorber fotones de más alta energía (Vasilikiotis & Melis, 1994; Kato et al., 2003; Yordanov & Velikova, 2000; Aro et al., 1993; Larkum, 2003; Ivanov et al., 2017), por lo que su la expresión del gen ***psaA*** sería más estable durante los cambios de temperatura (Figura 6), penetración de luz (Figura 8) y radiación UV, entre las temporadas cálida y fría en BLA.

El tercer gen involucrado en las vías fotosintéticas y metabólicas de *Cladocopium* sp., es ***rbcl***, el cual codifica para la proteína RuBisCO, misma que cataliza la primera etapa del ciclo de Calvin-Benson, que consiste en la fijación del CO₂. Este paso es crucial para la síntesis de azúcares y otros compuestos orgánicos (Prywes et al., 2023). Se sabe que la expresión de ***rbcl*** puede ser sobrerregulada en parte por la cantidad de luz y temperatura (Mayfield et al., 2014; Chong et al., 2017) y en cultivos de *Symbiodinium* sp., se ha observado incluso su sobreexpresión en condiciones de estrés térmico (Gierz et al., 2017). A pesar de que

no se encontraron diferencias significativas en la expresión de *rbcl* entre sitios, los datos muestran una tendencia consistente hacia una mayor expresión en La Llave durante ambas temporadas (Figura 11). Este resultado podría deberse a que La Llave en temporada cálida recibe más luz dado su menor índice de atenuación (Martínez-Mercado et al., en revisión), lo que favorece a los simbioses y podría promover una mayor expresión de *rbcl*. Por otro lado, El Rincón es una zona más turbia con una menor penetración de luz (Figura 8), lo que podría haber reducido las condiciones necesarias para una mayor expresión de este gen, aunque no se observó una diferencia estadísticamente significativa. Estos resultados sugieren que, aunque las condiciones ambientales entre los sitios varían, estos factores, temperatura y luz no fueron suficientes para generar diferencias importantes en la expresión de *rbcl* en este estudio.

Los resultados al contrastar entre temporadas, por otro lado, muestran un comportamiento contrario al que se esperaría. En la temporada cálida, por la regulación de luz y temperatura, se esperaría que dichas variables incidieran en la expresión de *rbcl*, aumentándola (Mayfield et al., 2014; Chong et al., 2017). Sin embargo, la temporada fría fue la que mostró una mayor expresión en ambos sitios (Figura 11). Esto puede deberse a tres factores principales: en primer lugar, se ha observado que la expresión de *rbcl* en plantas y en algunas algas se mantiene estable, incluso en periodos de obscuridad (Shiina et al., 1998; Singh et al., 2001). Este fenómeno ha sido relacionado con la regulación post-transcripcional de *rbcl* mediante enzimas como MRL1, la cual mantiene estable a la proteína RuBisCO, a pesar de la fotoinhibición de los fotosistemas II y I (Johnson et al., 2010). Además, existen regiones conservadas de la subunidad pequeña de la RuBisCO que permite la estabilidad de la proteína bajo factores ambientales estresantes, mejorando su capacidad de estabilidad térmica (Du et al., 2000), por lo que las ligeras diferencias de expresión entre ambas temporadas pueden ser causadas por los diferentes factores de transcripción involucrados en la expresión de los genes *psbA*, *psaA* y *rbcl*, presentándose en este último mecanismos de regulación distintos (Saibo et al., 2009; Sage & Kubien, 2007). El segundo factor puede ser derivado a la cantidad de CO₂ disponible en cada temporada; dado que el simbiote no está expuesto al carbono inorgánico ambiental, el coral puede limitar la cantidad de CO₂ que recibe el simbiote (Tansik et al., 2017; Wooldridge, 2010; Allemand, et al., 1998). Se ha observado que, durante la temporada fría, hay un mayor aporte de Carbono Inorgánico Disuelto (DIC, por sus siglas en inglés) asociado a la presencia de corrientes ricas en nutrientes que llegan desde el Canal de Ballenas, además de la mezcla vertical por surgencias que hay en esta temporada (Martínez-Fuentes et al., 2022; Hernández-Ayón et al., 2013; Liu et al., 2010). El DIC incluye compuestos como ácido carbónico (H₂CO₃), bicarbonato (HCO₃⁻) y carbonato (CO₃⁻²), el simbiote recibe el CO₂ a través del HCO₃⁻ adquirido por el coral; este es catalizado por la anhidrasa carbónica, la cual libera una molécula de CO₂, misma que es fijada por la RuBisCO (Zoccola et al., 2015; Ros et al., 2020). La mayor expresión del gen *rbcl* en El Rincón podría estar relacionada con la disminución de

luz y/o el aumento en la disponibilidad de DIC en temporada fría (invierno). Esto podría sugerir que los simbiontes mantienen o mejoran su capacidad fotosintética como una estrategia para llevar a cabo una fotosíntesis óptima en sitios ricos en DIC (Roberty et al., 2020), como BLA.

Los patrones de expresión de los genes *psbA*, *psaA* y *rbcl* podrían indicar que los simbiontes *Cladocopium* sp., tienen una regulación de la capacidad y los requerimientos fotosintéticos mediada por la respuesta fisiológica del holobionte al ambiente de cada sitio y que las diferencias ambientales entre La Llave y El Rincón son observables a través de esta respuesta de aclimatación diferencial de los simbiontes *in hospite*, donde la actividad fotosintética pudiera ser mayor en La Llave y menor en El Rincón debido principalmente a la diferencia de la irradiancia entre cada sitio.

4.2 Expresión de genes de los transportadores de nitrógeno

Otra ruta metabólica, que ha sido poco estudiada en comparación con la fotosíntesis en los simbiontes, pero que está estrechamente vinculada a su actividad fotosintética y que es esencial para la síntesis de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, es la asimilación del nitrógeno inorgánico en dos de sus formas moleculares: nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) (DiRoberts et al., 2021) (Stevenne, 2024). Por una parte, el coral provee y en parte limita la cantidad de nitrógeno que le proporciona al simbionte (Pang et al., 2021; DiRoberts et al., 2021). En cambio, en el holobionte, los simbiontes son la principal fuente de asimilación de NH_4^+ (Grover et al., 2002; Pernice et al., 2012) y sólo ellos poseen la maquinaria enzimática para asimilar el NO_3^- (Dagenais-Bellefeuille & Morse 2013; Sanz-Luque et al., 2015). Entre los genes de asimilación de nitrógeno que se han confirmado en el genoma de Symbiodiniaceae (Sproles et al. 2018), se encuentran aquellos que codifican para ciertas proteínas de membrana conocidas como transportador 2 de nitrato (NRT2) y transportador 2 de amonio (AMT2), los cuales permiten el transporte de nitrógeno del exterior (compartimentos del coral) al interior del simbionte en sus formas NO_3^- y NH_4^+ , respectivamente.

Los resultados mostraron que la expresión de **NRT2** entre temporadas no presentó diferencias significativas en ninguno de los sitios, lo que sugiere que la expresión se mantiene constante entre temporadas (Figura 14). En la temporada cálida la expresión fue mayor en ambos sitios, con una diferencia mínima. Estos resultados son contrarios a lo observado con relación al Carbono Orgánico Particulado (POC, por sus siglas en inglés) y clorofila *a*, que es un *proxy* de la biomasa fitoplanctónica (Vereshchaka et al., 2022). Ya que, en temporada fría, estas variables fueron mayores en BLA (Figuras 7 y 9), derivado de las corrientes que proveen nutrientes disueltos, enriqueciendo la bahía en esta temporada (Martínez-Fuentes

et al., 2022). A pesar de que en este estudio se esperaba observar una mayor expresión de **NRT2**, tal como mencionan Sanz-Luque et al. (2015), donde describen que la abundancia de la proteína NRT2 podría reflejar la cantidad de nitrato absorbido, lo cual podría indicar los niveles de nitrato presentes en el entorno exterior del holobionte. Sin embargo, la abundancia de nitrógeno disponible para el simbiote depende del coral, ya que, el simbiote no tiene acceso al nitrógeno del ambiente, el coral se lo proporciona mediante los desechos metabólicos al consumir materia orgánica como POC (Muscatine & Porter, 1977). Entre más alimento disponible en el ambiente, el coral recurre a una mayor alimentación heterotrófica (Houlbrèque & Ferrier-Pagès, 2009), lo que podría incrementar la disponibilidad de nutrientes para el simbiote (Martinez et al., 2022). Tomando en cuenta lo anterior, se esperaría un mayor aporte de nitrógeno del coral al simbiote en temporada fría, tanto en La Llave como en El Rincón, debido a que en esta temporada los sitios son ricos en POC y nutrientes inorgánicos (Figura 9) (Martínez-Fuentes et al., 2022; Hidalgo-González et al., 1997; Millán-Nuñez & Yentsch, 2000), lo que se traduciría en una mayor expresión de **NRT2** para transportar el nitrógeno. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre temporadas en ambos sitios, lo que indica que la alimentación heterotrófica del coral y la cantidad de nitrógeno que este le provee a los simbiotes no influyó en la expresión de **NRT2** en ambas temporadas. De igual forma, la temperatura tampoco condicionó la expresión de **NRT2**, ya que, como se observa en la Figura 14, su expresión no mostró diferencias entre temporadas, pese a que entre los sitios se observó una diferencia significativa de temperatura entre temporadas (Figura 6).

Por otra parte, sí se encontraron diferencias significativas entre los sitios, tanto en la temporada cálida como en la temporada fría (Figura 14). En ambas temporadas, *Cladocopium* sp. presentó una expresión significativamente mayor en La Llave en comparación con El Rincón, lo que podría deberse a los requerimientos fisiológicos de los simbiotes de La Llave debido a la alta actividad de los fotosistemas en este sitio. Los simbiotes necesitan mantener una relación de C:N equilibrada en lugares donde hay mayor disponibilidad de luz como La Llave, para regular y optimizar dichos nutrientes en el holobionte, ya que en dicha estequiometría, el coral está limitado para obtener nitrógeno molecular, por lo que el carbono se encuentra en mayor proporción dentro del simbiote, esta relación estequiométrica varía dependiendo del tipo de coral que alberga al simbiote y sus requerimientos fisiológicos (Dubinsky & Jokiel, 1994; Blanckaert et al., 2020). Por otro lado, El Rincón presenta una menor expresión del gen **NRT2**, lo que podría deberse a la preferencia del simbiote por otros compuestos nitrogenados como el amonio, ya que en este sitio, hay una mayor concentración de materia orgánica (Figura 9) y de nutrientes inorgánicos (Martínez-Fuentes et al., 2022; Hidalgo-González et al., 1997). Energéticamente, es más costoso asimilar nitratos que asimilar amonio, tanto para el coral como para los simbiotes (Rädecker et al., 2015). Además, la disponibilidad de amonio puede inhibir la asimilación de nitratos (Domotor & D'Elia, 1984), lo que

explicaría la baja expresión de **NRT2** en El Rincón, donde el simbiote asimilaría preferentemente amonio derivado del metabolismo del coral, evitando el gasto energético que implica reducir los nitratos a nitritos para producir principalmente óxido nítrico (NO) en este sitio (Rottier et al., 2020), donde la actividad fotosintética podría no ser suficiente para mantener los requerimientos metabólicos del holobionte.

El amonio (NH_4^+) es transportado al interior de la célula simbiote mediante una proteína de membrana conocida como transportador 2 de amonio (AMT2). Este es un nutriente que podría competir con la asimilación de nitrato y ocasionar variaciones en la expresión de los transportadores de nitrógeno (Rädecker et al., 2015; Pernice et al 2012). Al contrario de la expresión de **NRT2**, la expresión del gen **AMT2** mostró diferencias significativas entre temporadas para El Rincón (Figura 15), y fue la temporada fría en la cual hubo una expresión significativamente mayor. La expresión de este transportador se relaciona con la cantidad de materia orgánica disponible para el coral en temporada fría en este sitio (Figura 9), tal como han descrito otros autores (Sproles, 2017; Rädecker et al., 2015; Pernice et al 2012). *Cladocopium* sp. puede sobreexpresar el gen **AMT2** en condiciones variantes de nitrógeno (Sproles, 2017), como sucede en El Rincón, puesto que es más fácil de asimilar y transportar desde el coral al simbiote (Rädecker et al., 2015; Pernice et al 2012). Además, como se mencionó anteriormente, la nutrición autótrofa del coral puede verse limitada debido al bajo índice de irradiancia y alta turbidez en El Rincón, especialmente en temporada fría, por lo que el coral recurre a la nutrición heterótrofa. Lo que se traduce en una mayor disponibilidad de amonio de los desechos metabólicos (Muscatine & Porter, 1977), que el simbiote puede transportar al interior de la célula expresando mayor **AMT2**. Adicionalmente, esta mayor expresión de **AMT2** en temporada fría coincide con lo observado por Fan et al. (2020), quienes describen que en algas verdes el gen **AMT2** puede desempeñar un papel más importante a temperaturas bajas. Sin embargo, los organismos de La Llave no presentaron diferencias entre temporadas, lo que sugiere que tanto la temperatura como la cantidad de POC no son variables que influyan directamente en la expresión de **AMT2** en este lugar.

Por otro lado, la comparación entre sitios mostró diferencias significativas entre La Llave y El Rincón en temporada cálida. Los simbioses de La Llave mostraron una mayor expresión de **AMT2** en comparación con los de El Rincón. Según lo observado por Martínez-Mercado et al. (en revisión) y Trejo-Estrada et al. (2025), la densidad de simbioses es menor en temporada cálida para ambos sitios, por lo que una menor cantidad de simbioses en las colonias puede permitir que se exprese **AMT2** para capturar más amonio a manera de compensación (Krueger et al., 2020). Sin embargo, el coral limita el suministro de nitrógeno al simbiote, para controlar la densidad simbiótica y evitar su proliferación descontrolada (Rädecker et al., 2015; Yellowlees et al., 2008; Muscatine et al., 1989). Por lo que un menor suministro de amonio (y

nitratos) a los simbioses de La Llave, por parte del coral, podría ocasionar un mayor requerimiento y por ende una mayor expresión de los transportadores de nitrógeno del simbiote. Por otro lado, el simbiote asimila la cantidad de amonio necesaria según sus requerimientos fisiológicos (Pernice et al., 2012). Lo que sugiere que en la temporada cálida los simbioses están metabólicamente más activos, como se observa en las vías fotosintéticas, derivado de la alta irradiancia en La Llave. Esto significaría que los simbioses requieren mayor cantidad de nitrógeno para compensar los requerimientos de vías como el ciclo Glutamato sintasa, Glutamato oxoglutarato aminotransferasa (GS/GOGAT) y el ciclo de Krebs (Pernice et al., 2012). De igual forma el coral necesitaría más nitrógeno para mantener la tasa de calcificación en temperaturas cálidas (Béraud et al., 2013).

Por lo que se sugiere que la expresión de **AMT2** en temporada cálida se vio influenciada por la densidad simbiótica, así como la expresión del gen **NRT2**, donde mantienen un metabolismo más activo en esta región en comparación con El Rincón, además, *Cladocopium* sp necesita una óptima relación C:N ante la demanda energética en La Llave. A pesar de que la expresión de **AMT2** podría depender de la luz según lo observado en algas fotosintéticas por Ermilova et al. (2010), esta también dependería de la cantidad de amonio disponible. Lo observado en el Rincón muestra una aclimatación en temporada fría, donde al ser rica en nutrientes y contar con un mayor índice de atenuación de luz, el holobionte recurre a su nutrición heterótrofa, regulada por la disponibilidad alimento en el ambiente. Sin embargo, aún es poco estudiada la asimilación y transporte de nitrógeno y amonio *in hospite* en simbioses como *Cladocopium* sp. y los procesos fisiológicos implicados en la simbiosis coral-Symbiodinaceae.

4.3 Vías de fotosíntesis y asimilación de nitrógeno en respuesta a los factores ambientales

En general, la exploración de la respuesta fisiológica mediante la expresión de los genes estudiados en este trabajo puede darnos una interpretación de los requerimientos fisiológicos de los simbioses *in hospite* entre los sitios estudiados y sus temporadas. Como se muestra en las Figuras 16 y 17, nos enfocamos en dos vías principales: fotosíntesis, en la que participan los genes **psbA**, **psaA** y **rbcl** (Figura 16) y transporte de nitrógeno, en la que se ven involucrados los genes **NRT2** y **AMT2** (Figura 17).

La Llave presentó una mayor expresión en los genes **psbA** y **psaA**, además de los genes **NRT2** y **AMT2** en temporada cálida en comparación con lo observado en El Rincón. Lo anterior sugiere una mayor eficiencia metabólica de los simbioses (Yellowlees et al., 2008) de la Llave, en dicha temporada. Las diferentes

capacidades fotosintéticas entre los endosimbionte de cada sitio se pueden ver afectadas por la cantidad de luz que reciben, donde La Llave presenta un menor índice de atenuación de luz (Martínez-Mercado et al., en revisión), además de la temperatura y nutrientes que llega a cada sitio, dónde La Llave presentó una mayor expresión relativa de **psbA** y **psaA**. El gen **psbA** es el que cuenta con una mayor expresión en temporada cálida, ya que este gen, perteneciente al fotosistema II, está involucrado en la síntesis de la proteína D1, la cual es más susceptible a estrés térmico y la alta irradiancia (Hoogenboom et al., 2012). Estos resultados coinciden con otros trabajos que describen la sobreexpresión de este gen en sitios con altas condiciones de luz y temperatura (Hill et al., 2011; Supasri et al., 2021; Warner et al., 1999; Lin et al., 2019; Raymond, 2021). Sin embargo, diversos trabajos coinciden que arriba de 30 °C, *Cladocopium* sp. entra en un estrés térmico que afecta principalmente las proteínas D1 y A1 de los fotosistemas (Bellantuono et al., 2019; Lilley et al., 2010), pudiendo desencadenar un proceso de fotoinhibición térmico (Mulo et al., 2012).

El gen **rbcl**, no presentó diferencias de expresión relativa entre los sitios y las temporadas de BLA. La estabilidad de expresión del gen **rbcl** en *Cladocopium* sp. en el rango de temperaturas de BLA, sugiere que este endosimbionte es capaz de aprovechar y fijar el CO₂ a temperaturas variables (desde 16 °C hasta 31 °C), lo que indica que la producción de azúcares no se ve alterada (Figura 16)., lo que podría estar pasando en El Rincón con los genes **psbA** (Figura 12) y **psaA** (Figura 13). Además, en este trabajo el nivel de expresión del gen **rbcl** presentó estabilidad ante las diferentes condiciones y sitios, que, como lo describe Chong et al. (2017), puede ser utilizado como un gen de referencia o “housekeeping”. Aunque, esto podría depender de la tolerancia térmica específica de los endosimbiontes de la familia Symbiodinacea, ya que suele variar entre géneros e incluso entre especies (McGinley et al., 2012; Parkinson et al., 2016; Salas et al., 2017; Pochon et al., 2014).

La ruta de asimilación de nitrógeno en *Cladocopium* sp. es crucial para el correcto funcionamiento del holobionte (Rädecker et al., 2015), ya que es aprovechada por el coral para el suministro y limitación del nitrógeno a los simbiosomas, lo que regula la densidad de células de *Cladocopium* sp. que alberga (DiRoberts et al., 2021). Por lo tanto, tiene una gran importancia ecológica en el ciclo de nitrógeno. La Llave y El Rincón presentan diferencias en la expresión de los genes **AMT2** y **NRT2**, lo que indica el uso de diferentes estrategias fisiológicas para el funcionamiento de las vías principales asociadas al nitrógeno (Figura 17).

Como se mencionó anteriormente, en general, los endosimbiontes de La Llave presentaron mayor expresión, de los genes **NRT2** y **AMT2** especialmente en temporada cálida. Los niveles de expresión de

ambos genes están relacionados con la necesidad de satisfacer los requerimientos energéticos debido a que las altas temperaturas demandan un mayor gasto energético. Además la asimilación de nitrógeno en forma de amonio desempeña un papel importante en la capacidad de tolerancia térmica del holobionte, al aumentar la capacidad fotosintética y hacerla más eficiente (Roberty et al., 2020; Béraud et al., 2013). Durante la temporada fría, la expresión del gen *NRT2* fue mayor en La Llave mientras que, de manera interesante, la expresión del gen *AMT2* fue mayor en El Rincón (Figuras 18 y 19). Se sabe que El Rincón, sobre todo en temporada fría, es rico en nutrientes, POC y biomasa, lo que deriva en la alta turbidez observada en el sitio y la poca penetración de la luz (Martínez-Fuentes et al., 2022; Trejo-Estrada et al., 2025).

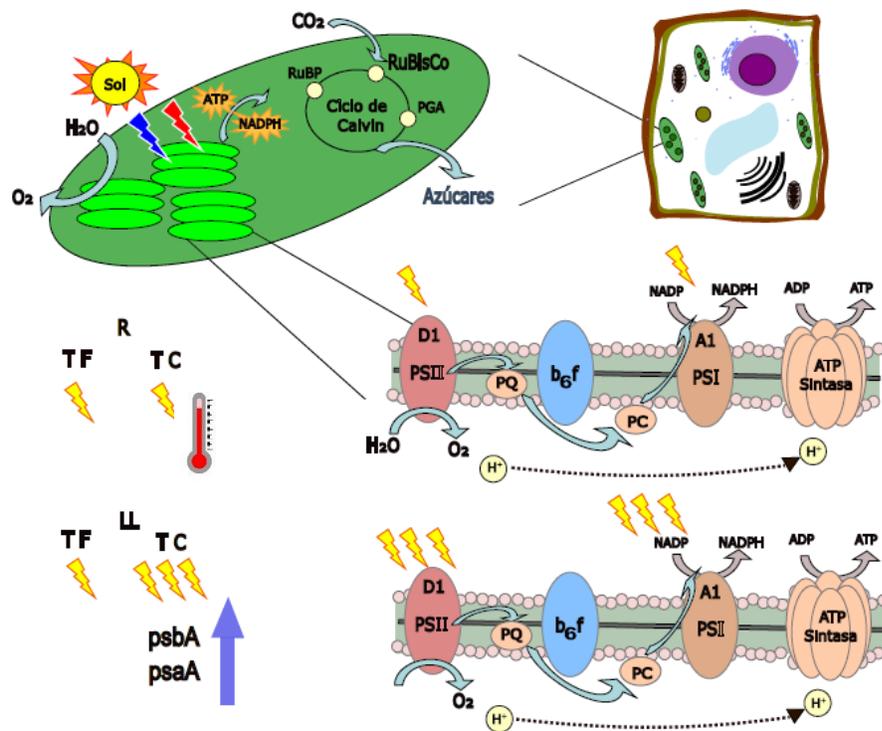


Figura 16. Vía fotosintética en *Cladocopium sp. in hospite*. Mecanismo de la respuesta fisiológica en la vía fotosintética entre temporadas (TF: temporada fría, TC: Temporada cálida) y sitios (R: Rincón, LL: Llave).

En ausencia de estrés térmico, los simbiontes *Cladocopium sp.* tienden a translocar grandes cantidades de nitrógeno asimilado al coral en comparación con otros géneros endosimbiontes (Ezzat et al., 2017; Baker et al., 2013). Debido a las bajas cantidades de luz que reciben los endosimbiontes en El Rincón, y por lo tanto, las bajas tasas de fotosíntesis en la temporada fría, el coral podría recurrir a la nutrición heterótrofa como fuente de nutrientes a través del nitrógeno inorgánico disuelto y el POC capturado del ambiente. En esta situación, es preferible para *Cladocopium sp.* expresar una mayor cantidad del gen *AMT2*, ya que se

ha descrito en diversos estudios que los simbioses prefieren asimilar amonio antes que nitratos, puesto que su asimilación no requiere un paso extra de reducción por la nitrato reductasa como con los nitratos (DiRoberts et al., 2021; Stevenne, 2024), e incluso pudiendo inhibir la expresión del gen **NRT2** (Li et al., 2021; Avila Magana, 2020). El metabolismo del nitrógeno es vital para la nutrición del coral *Porites panamensis*, en el cual las estrategias de asimilación de este nutriente podrían definir su respuesta fisiológica y aclimatación local. Además, la capacidad específica de *Cladocopium* sp. para fijar carbono y de translocar nitratos al coral, podría en parte explicar la preferencia de *P. panamensis* a asociarse con este género de simbioses en BLA (Ezzat et al., 2015; Pernice et al., 2012; Ezzat et al., 2017).

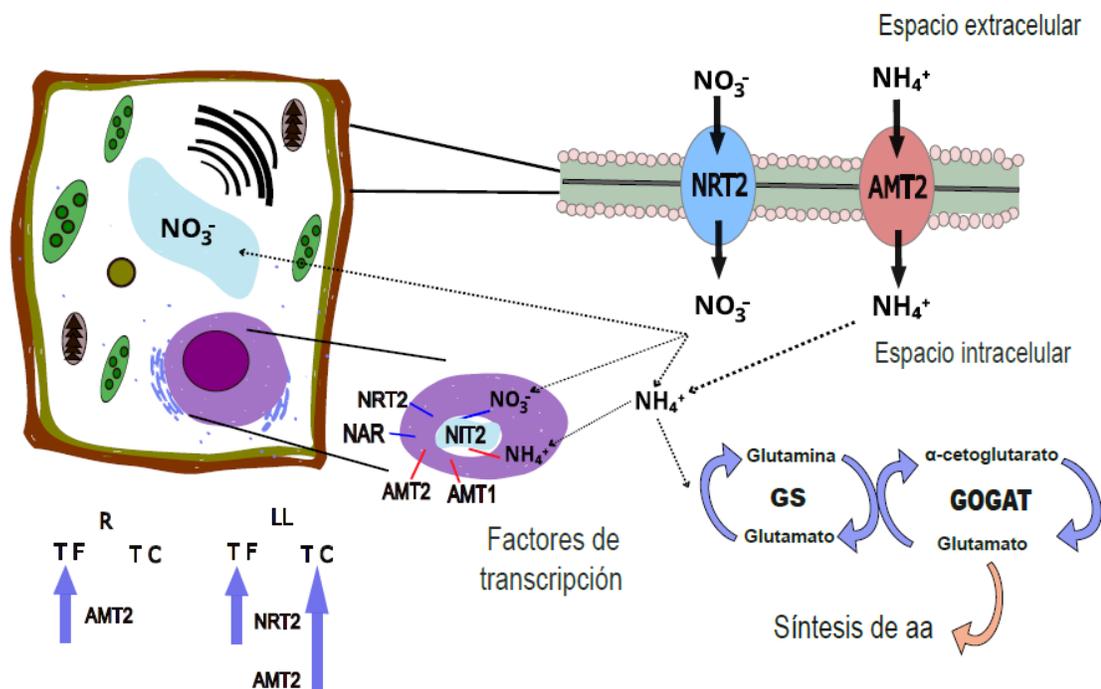


Figura 17. Vía de asimilación de nitrógeno en *Cladocopium* sp. *in hospite*. Mecanismo de la respuesta fisiológica en la vía fotosintética entre temporadas (TF: temporada fría, TC: Temporada cálida) y sitios (R: Rincón, LL: Llave).

Capítulo 5. Conclusiones

En conclusión, los resultados de este estudio indican que las diferencias en la expresión de genes fotosintéticos y de asimilación de nitrógeno de *Cladocopium* sp. entre La Llave y El Rincón están asociados a los cambios estacionales y sugieren diferentes estrategias fisiológicas de los simbiontes. La mayor eficiencia metabólica observada en La Llave sugiere un mejor aprovechamiento de los recursos disponibles, especialmente en temporadas cálidas, mientras que la alta expresión del gen *AMT2* en El Rincón, a pesar de la alta disponibilidad de POC, indica la preferencia del simbionte por el amonio. Estas dinámicas resaltan la compleja interrelación entre los corales y sus simbiontes, y cómo la variabilidad en la disponibilidad de nutrientes puede influir en sus estrategias de asimilación y, en última instancia, en la salud del holobionte.

Los resultados de expresión de estos genes coinciden con lo reportado en otros trabajos realizados en BLA, en cuanto a la diversidad genética de *Cladocopium* sp. (Martínez-Mercado et al., en revisión); y la respuesta fisiológica de *P. panamensis* (Trejo-Estrada et al., 2025). Además, contribuyen a comprender cómo el modelo simbiótico *Porites panamensis-Cladocopium* sp. es exitoso en esta región con una gran variabilidad estacional y diferencias en la dinámica oceánica entre los sitios estudiados. Las estrategias fisiológicas estudiadas se suman a los diversos mecanismos de aclimatación de este y otros modelos simbióticos cndiario-Symbiodiniaceae. Por lo que el estudio de estos mecanismos es crucial para la conservación y manejo de los ecosistemas coralinos ante los cambios ambientales actuales.

Literatura citada

- Aburto-Oropeza, O., & Balart, E. F. (2001). Community Structure of Reef Fish in Several Habitats of a Rocky Reef in the Gulf of California. *Marine Ecology*, 22(4), 283–305. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0485.2001.01747.x>.
- Agostini, S., Suzuki, Y., Higuchi, T., Casareto, B. E., Yoshinaga, K., Nakano, Y., & Fujimura, H. (2011). Biological and chemical characteristics of the coral gastric cavity. *Coral Reefs*, 31(1), 147–156. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0831-6>.
- Al-Hammady, M. A., Silva, T. F., Hussein, H. N., Saxena, G., Modolo, L. V., Belasy, M. B., & Farag, M. A. (2022). How do algae endosymbionts mediate for their coral host fitness under heat stress? A comprehensive mechanistic overview. *Algal Research*, 67, 102850. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102850>.
- Allemand, D., Furla, P., & Bénazet-Tambutté, S. (1998). Mechanisms of carbon acquisition for endosymbiont photosynthesis in Anthozoa. *Canadian Journal of Botany*, 76(6), 925–941. <https://doi.org/10.1139/b98-086>.
- Alvarado, J. J., Aburto-Oropeza, O., Abad, R., Barraza, E., Brandt, M., Cantera, J., Priscila, E., Gaymer, C. F., Guzmán-Mora, A. G., Herlan, J. J. & Maté, J. L. (2017). Coral reef conservation in the eastern tropical Pacific. In: Glynn, P., Manzello, D., Enochs, I. (eds) *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment*. Coral Reefs of the World, vol 8. Springer, 565-591. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_21.
- Alvarado, J. J., Sánchez-Noguera, C., Arias-Godínez, G., Araya, T., Fernández-García, C., & Guzmán, A. G. (2020). Impact of El Niño 2015-2016 on the coral reefs of the Pacific of Costa Rica: the potential role of marine protection. *Revista de Biología Tropical*, 68(1), 271-282. <https://dx.doi.org/10.15517/rbt.v68is1.41190>.
- Ivarez-Borrego S. (2010) Physical, chemical and biological oceanography of the Gulf of California. In: Brusca RC (ed) *The Gulf of California: biodiversity and conservation*. The University of Arizona Press, Tucson, pp 22–48 https://www.researchgate.net/publication/270395947_Physical_Chemical_and_Biological_Oceanography_of_the_Gulf_of_California.
- Amario, M., Villela, L.B., Jardim-Messeder, D., Silva-Lima, A.W., Rosado, P.M., de Moura, R.L., Sachetto-Martins, G., Chaloub, R.M. & Salomon, P.S. (2023) Physiological response of Symbiodiniaceae to thermal stress: Reactive oxygen species, photosynthesis, and relative cell size. *PLoS ONE*. 18(8): e0284717. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0284717>.
- Andersen, C. L., Jensen, J. L., & Ørntoft, T. F. (2004). Normalization of Real-Time Quantitative Reverse Transcription-PCR Data: A Model-Based Variance Estimation Approach to Identify Genes Suited for Normalization. *Applied to Bladder and Colon Cancer Data Sets*. *Cancer Research*, 64(15), 5245–5250. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0496>.
- Arizpe, Ó. (2004). El turismo como alternativa a la pesca en el manejo de un arrecife coralino. Caso Cabo Pulmo, Golfo de California. *El manejo costero en México*, 574-577 <http://etzna.uacam.mx/epomex/pdf/mancos/cap42.pdf>.

- Armstrong, E.J., Lê-Hoang, J., Carradec, Q., Aury, J.-M., Noel, B., Hume, B.C.C., Voolstra, C.R., Poulain, J., Belser, C., Paz-García, D.A., Cruaud, C., Labadie, K., Da Silva, C., Moulin, C., Boissin, E., Bourdin, G., Iwankow, G., Romac, S., Agostini, S., Banaigs, B., Boss, E., Bowler, C., de Vargas, C., Douville, E., Flores, M., Forcioli, D., Furla, P., Galand, P. E., Gilson, E., Lombard, F., Pesant, S., Reynaud, S., Sulliban, M. B., Sunagawa, S., Thomas, O. P., Troublé, R., Thurber, R. V., Zoccola, D., Planes, S., Allemand, D. & Wincker, P. (2023). Host transcriptomic plasticity and photosymbiotic fidelity underpin *Pocillopora* acclimatization across thermal regimes in the Pacific Ocean. *Nature Communications* 14 (1), 3056. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-38610-6>.
- Aro, E. M., McCaffery, S., & Anderson, J. M. (1993). Photoinhibition and D1 Protein Degradation in Peas Acclimated to Different Growth Irradiances. *Plant Physiology*, 103(3), 835–843. <https://doi.org/10.1104/pp.103.3.835>.
- Avila Magana, V. (2020). Gene regulation in cnidarian photosymbioses: A comparative approach. [Tesis de doctorado de Penn State]. Repositorio institucional: https://etda.libraries.psu.edu/files/final_submissions/21059.
- Avila-Magaña, V., Kamel, B., DeSalvo, M., Gómez-Campo, K., Enríquez, S., Kitano, H., Rohlf, R. V., Iglesias-Prieto, R. & Medina, M. (2021). Elucidating gene expression adaptation of phylogenetically divergent coral holobionts under heat stress. *Nature communications*, 12(1), 5731. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-25950-4>.
- Baird, A. H., Bhagooli, R., Ralph, P. J., & Takahashi, S. (2009). Coral bleaching: the role of the host. *Trends in Ecology & Evolution*, 24(1), 16–20. [https://www.cell.com/ajhg/abstract/S0169-5347\(08\)00323-6](https://www.cell.com/ajhg/abstract/S0169-5347(08)00323-6).
- Baker, A.C., Correa, A.M.S., Cunning, R. (2017). Diversity, Distribution and Stability of *Symbiodinium* in Reef Corals of the Eastern Tropical Pacific. In: Glynn, P., Manzello, D., Enochs, I. (eds) *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_13.
- Baker, D. M., Andras, J. P., Jordán-Garza, A. G., & Fogel, M. L. (2013). Nitrate competition in a coral symbiosis varies with temperature among *Symbiodinium* clades. *The ISME Journal*, 7(6), 1248–1251. <https://doi.org/10.1038/ismej.2013.12>.
- Barati, B., Gan, S.-Y., Lim, P.-E., Beardall, J., & Phang, S.-M. (2019). Green algal molecular responses to temperature stress. *Acta Physiologiae Plantarum*, 41(2). <https://doi.org/10.1007/s11738-019-2813-1>.
- Barraza, J.-E. (2023). Eventos de blanqueamiento del coral *Porites lobata* (2006-2022) y actividades de restauración en el sitio Ramsar "Complejo Los Cóbano", El Salvador. *Revista de Biología Tropical*, 71(1), e54739. <https://dx.doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v71is1.54739>.
- Baskett, M. L., Gaines, S. D., & Nisbet, R. M. (2009). Symbiont diversity may help coral reefs survive moderate climate change. *Ecological Applications*, 19(1), 3–17. <https://doi.org/10.1890/08-0139.1>.
- Beger, M., Sommer, B., Harrison, P. L., Smith, S. D. A., & Pandolfi, J. M. (2014). Conserving potential coral reef refuges at high latitudes. *Diversity and Distributions*. 20(3), 245–257. <https://doi.org/10.1111/ddi.12140>.
- Bellantuono, A. J., Dougan, K. E., Granados-Cifuentes, C., & Rodríguez-Lanetty, M. (2019). Free-living and symbiotic lifestyles of a thermotolerant coral endosymbiont display profoundly distinct

- transcriptomes under both stable and heat stress conditions. *Molecular Ecology*. 28(24), 5265-5281. <https://doi.org/10.1111/mec.15300>.
- Bellwood, D. R., Streit, R. P., Brandl, S. J., & Tebbett, S. B. (2019). The meaning of the term 'function' in ecology: A coral reef perspective. *Functional Ecology*, 33(6), 948-961. <https://doi.org/10.1111/1365-2435.13265>.
- Beraud, E., Gevaert, F., Rottier, C., & Ferrier-Pages, C. (2013). The response of the scleractinian coral *Turbinaria reniformis* to thermal stress depends on the nitrogen status of the coral holobiont. *Journal of Experimental Biology*. 216(14), 2665–2674. <https://doi.org/10.1242/jeb.085183>.
- Berkelmans, R., & van Oppen, M. J. (2006). 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. <https://doi.org/10.1098/rspb.2006.3567>.
- Biswal, B., Joshi, P. N., Raval, M. K., & Biswal, U. C. (2011). Photosynthesis, a global sensor of environmental stress in green plants: stress signalling and adaptation. *Current Science*. 101(1), 47–56. <http://www.ijstor.org/stable/24077862>.
- Blanckaert, A. C., Reef, R., Pandolfi, J. M., & Lovelock, C. E. (2020). Variation in the elemental stoichiometry of the coral–zooxanthellae symbiosis. *Coral Reefs*, 39(4), 1071-1079. <https://doi.org/10.1111/mec.13400>.
- Blanckaert, A.C.A., Reef, R., Pandolfi, J.M. *et al.* Variation in the elemental stoichiometry of the coral–zooxanthellae symbiosis. *Coral Reefs* 39, 1071–1079 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01932-8>.
- Booy, G., Hendriks, R. J. J., Smulders, M. J. M., Groenendael, J. M., & Vosman, B. (2000). Genetic Diversity and the Survival of Populations. *Plant Biology*, 2(4), 379–395. <https://doi.org/10.1055/s-2000-5958>.
- Boulay, J. N., Hellberg, M. E., Cortés, J., & Baums, I. B. (2014) Unrecognized coral species diversity masks differences in functional ecology. *Proc. R. Soc.*, 281(1776). B.28120131580. <http://doi.org/10.1098/rspb.2013.1580>.
- Brandl, S. J., Rasher, D. B., Côté, I. M., Casey, J. M., Darling, E. S., Lefcheck, J. S., & Duffy, J. E. (2019). Coral reef ecosystem functioning: Eight core processes and the role of biodiversity. *Frontiers in Ecology and the Environment*. 17(8), 445-454. <https://doi.org/10.1002/fee.2088>.
- Brown, B. E., & Bythell, J. C. (2005). Perspectives on mucus secretion in reef corals. *Marine Ecology Progress Series*. 296, 291-309. <https://www.int-res.com/articles/meps2005/296/m296p291.pdf>.
- Brusca, R. C. (2010). *The Gulf of California: biodiversity and conservation*. (Ed.) University of Arizona. Press and The Arizona-Sonora Desert Museum, Tucson. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=wuQcvNBGrGgC&oi=fnd&pg=PA1&dq=-Brusca,+R.+C.+\(Ed.\).+\(2010\).+The+Gulf+of+California:+biodiversity+and+conservation.+University+of+Arizona+Press.book&ots=UR81sd1a2a&sig=pxwl5EHHCQCcD8qHs9x482Qc5Ok&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=wuQcvNBGrGgC&oi=fnd&pg=PA1&dq=-Brusca,+R.+C.+(Ed.).+(2010).+The+Gulf+of+California:+biodiversity+and+conservation.+University+of+Arizona+Press.book&ots=UR81sd1a2a&sig=pxwl5EHHCQCcD8qHs9x482Qc5Ok&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
- Buenrostro, A. A., Guzmán, S. J. S., & Espinosa, M. L. A. (1991). Modelado numérico de la circulación inducida por el viento en Bahía de Los Ángeles, BC, México. *Ciencias Marinas*. 17(3), 39-57. <http://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/1825>.

- Bustos-Serrano, H., & Castro-Valdez, R. (2006). Flux of nutrients in the Gulf of California: Geostrophic approach. *Marine Chemistry*. 99(1-4), 210-219. <https://doi.org/10.1016/j.marchem.2005.09.012>.
- Cabello-Pasini, A., Zertuche-González, J. A., & Pacheco-Ruíz, I. (2003). Photosynthesis, Growth and Nitrogen Uptake of Competing Marine Macrophytes in the Gulf of California. *Botanica Marina*. 46(6). <https://doi.org/10.1515/BOT.2003.052>.
- Cabral-Tena, R. A., Reyes-Bonilla, H., Lluch-Cota, S., Paz-García, D., Calderón-Aguilera, L., Norzagaray-López, O., & Balart, E. (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. <https://doi.org/10.3354/meps10269>.
- Camp, E. F., Kahlke, T., Nitschke, M. R., Varkey, D., Fisher, N. L., Fujise, L., Goyen, S., Hughes, D. J., Lawson, C. A., Ros, M., Woodcock, S., Xiao, K., Leggat, W., & Suggett, D. J. (2020). Revealing changes in the microbiome of Symbiodiniaceae under thermal stress. *Environmental Microbiology*. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.14935>.
- Carballo-Bolaños, R., Soto, D., & Chen, C. A. (2020). Thermal Stress and Resilience of Corals in a Climate-Changing World. *Journal of Marine Science and Engineering*, 8(1), 15. <https://doi.org/10.3390/jmse8010015>.
- Cárdenas-Alvarado, M. A., Nava, H., González-Rodríguez, A., Maldonado-López, Y., & Rodríguez-Lanetty, M. (2021). Higher population genetic diversity within the algal symbiont *Durusdinium* in *Pocillopora verrucosa* from Mexican Pacific reefs correlates with higher resistance to bleaching after the El Niño 2015–16 event. *Marine Ecology*, 42(4), e12667. <https://doi.org/10.1111/maec.12667>.
- Casado Núñez, I. (2013). Limitado potencial adaptativo al calentamiento global en los corales. *Universidad Autónoma de Barcelona*. Recuperado de: https://ddd.uab.cat/pub/tfg/2013/113486/TFG_irinacasadonunez.pdf.
- Cavazos, T. (2007). Clima. En: *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad: línea base 2007*. Danemann y Ezcurra. México. pp. 67-90. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=kSP02XgNpbIC&oi=fnd&pg=PA9&dq=-Cavazos,+T.+\(2008\),+Clima,+in+Bahia+de+los+Angeles:+Recursos+Naturales+y+Comunidad,+Linea+Base+2007,+edited+by+G.+D.+Danemann,+and+E.+Ezcurra,+pp.+67%E2%80%9392,+SEMARNAT,+Mexico.67-90.&ots=IRiyBjleNO&sig=Hy_rYVwGn40A2OACZyWTg1-JsHA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=kSP02XgNpbIC&oi=fnd&pg=PA9&dq=-Cavazos,+T.+(2008),+Clima,+in+Bahia+de+los+Angeles:+Recursos+Naturales+y+Comunidad,+Linea+Base+2007,+edited+by+G.+D.+Danemann,+and+E.+Ezcurra,+pp.+67%E2%80%9392,+SEMARNAT,+Mexico.67-90.&ots=IRiyBjleNO&sig=Hy_rYVwGn40A2OACZyWTg1-JsHA&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false).
- Chaturvedi, R., & Shyam, A. (2000). Degradation and de novo synthesis of D1 protein and psb A transcript in *reinhardtii* during UV-B inactivation of photosynthesis. *Journal of Biosciences*. 25(1), 65–71. <https://doi.org/10.1007/bf02985183>.
- Chen, B., Yu, K., Qin, Z., Liang, J., Wang, G., Huang, X., Wu, Q., & Jiang, L. (2020). Dispersal, genetic variation, and symbiont interaction network of heat-tolerant endosymbiont *Durusdinium trenchii*: Insights into the adaptive potential of coral to climate change. *Science of The Total Environment*. 723, 138026. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.138026>.
- Chong, G., Kuo, F.-W., Tsai, S., & Lin, C. (2017). Validation of reference genes for cryopreservation studies with the gorgonian coral endosymbiont *Symbiodinium*. *Scientific Reports*. 7(1). <https://doi.org/10.1038/srep39396>.

- Cisneros-Montemayor, A. M., Townsel, A., Gonzales, C. M., Haas, A. R., Navarro-Holm, E. E., Salorio-Zuñiga, T., & Johnson, A. F. (2020). Nature-based marine tourism in the Gulf of California and Baja California Peninsula: Economic benefits and key species. *Natural Resources Forum*. 44(2), 111-128. <https://doi.org/10.1111/1477-8947.12193>.
- Cortés, J. (1997). Biology and geology of eastern Pacific coral reefs. *Coral Reefs*. 16(5), S39–S46. <https://doi.org/10.1007/s003380050240>.
- Császár, N. B. M., Ralph, P. J., Frankham, R., Berkelmans, R., & van Oppen, M. J. H. (2010). Estimating the Potential for Adaptation of Corals to Climate Warming. *PLoS ONE*. 5(3), e9751. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0009751>.
- Dagenais-Bellefeuille, S., & Morse, D. (2013). Putting the N in dinoflagellates. *Frontiers in Microbiology*. 4, 62433. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00369>.
- Danemann, G. D., & Ezcurra, E. (2008). *Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad: Línea base 2007*. Instituto Nacional de Ecología, Mexico. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=kSP02XgNpbIC&oi=fnd&pg=PA9&dq=Danemann,+G.+D.,+%26+Ezcurra,+E.+\(2008\).+Bah%C3%ADa+de+los+%C3%81ngeles:+recursos+naturales+y+comunidad:+L%C3%ADnea+base+2007.+Instituto+Nacional+de+Ecolog%C3%ADa.&ots=IRiyBjliML&sig=DpyPssJ5UNHMD8urm1zxPEUHW_E&redir_esc=y#v=onepage&q=Danemann%2C%20G.%20D.%2C%20%26%20Ezcurra%2C%20E.%20\(2008\).%20Bah%C3%ADa%20de%20los%20%C3%81ngeles%3A%20recursos%20naturales%20y%20comunidad%3A%20L%C3%ADnea%20base%202007.%20Instituto%20Nacional%20de%20Ecolog%C3%ADa.&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=kSP02XgNpbIC&oi=fnd&pg=PA9&dq=Danemann,+G.+D.,+%26+Ezcurra,+E.+(2008).+Bah%C3%ADa+de+los+%C3%81ngeles:+recursos+naturales+y+comunidad:+L%C3%ADnea+base+2007.+Instituto+Nacional+de+Ecolog%C3%ADa.&ots=IRiyBjliML&sig=DpyPssJ5UNHMD8urm1zxPEUHW_E&redir_esc=y#v=onepage&q=Danemann%2C%20G.%20D.%2C%20%26%20Ezcurra%2C%20E.%20(2008).%20Bah%C3%ADa%20de%20los%20%C3%81ngeles%3A%20recursos%20naturales%20y%20comunidad%3A%20L%C3%ADnea%20base%202007.%20Instituto%20Nacional%20de%20Ecolog%C3%ADa.&f=false).
- Danilova, M. N., Kudryakova, N. V., Andreeva, A. A., Doroshenko, A. S., Pojidaeva, E. S., & Kusnetsov, V. V. (2018). Differential impact of heat stress on the expression of chloroplast-encoded genes. *Plant Physiology and Biochemistry*. 129, 90-100. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2018.05.023>.
- Davy, S. K., Allemand, D., & Weis, V. M. (2012). Cell Biology of Cnidarian-Dinoflagellate Symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 76(2), 229-261. <https://doi.org/10.1128/mubr.05014-11>.
- De'ath, G., Fabricius, K. E., Sweatman, H., & Puotinen, M. (2012). The 27-year decline of coral cover on the Great Barrier Reef and its causes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 109(44), 17995–17999. <https://doi.org/10.1073/pnas.1208909109>.
- Demetriou, G., Neonaki, C., Navakoudis, E., & Kotzabasis, K. (2007). Salt stress impact on the molecular structure and function of the photosynthetic apparatus—The protective role of polyamines. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics*. 1767(4), 272-280. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2007.02.020>.
- DiRoberts, L. E., Dudek, A., Ray, N. E., Fulweiler, R. W., & Rotjan, R. D. (2021). Testing assumptions of nitrogen cycling between a temperate, model coral host and its facultative symbiont: symbiotic contributions to dissolved inorganic nitrogen assimilation. *Marine Ecology Progress Series*. 670, 61-74. <https://doi.org/10.3354/meps13731>.
- Domotor, S. L., & D'Elia, C. F. (1984). Nutrient uptake kinetics and growth of zooxanthellae maintained in laboratory culture. *Marine Biology*, 80(1), 93–101. <https://doi.org/10.1007/BF00393132>.

- Drury, C. (2020). Resilience in reef-building corals: The ecological and evolutionary importance of the host response to thermal stress. *Molecular Ecology*. 29(3), 448-465. <https://doi.org/10.1111/mec.15337>.
- Du, Y.-C., Hong, S., & Spreitzer, R. J. (2000). RbcS suppressor mutations improve the thermal stability and CO₂/O₂ specificity of rbcL- mutant ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 97(26), 14206–14211. <https://doi.org/10.1073/pnas.260503997>.
- Dubinsky, Z., & Jokiel, P. L. (1994). Ratio of energy and nutrient fluxes regulates symbiosis between zooxanthellae and corals. *Pacific Science*. 48(3): 313-324. <http://hdl.handle.net/10125/2241>.
- Dungan, A. M., Hartman, L. M., Tortorelli, G., Beldero, R., Lamb, A. M., Pisan, L., McFadden, G. I., Blackall, L. L., & van Oppen, M. J. H. (2020). *Exaiptasia diaphana* from the great barrier reef: a valuable resource for coral symbiosis research. *Symbiosis*. 80, 195–206. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00665-0>.
- Edelman, M., & Mattoo, A. K. (2008). D1-protein dynamics in photosystem II: the lingering enigma. *Photosynthesis Research*. 98(1-3), 609–620. <https://doi.org/10.1007/s11120-008-9342-x>.
- Ermilova, E. V., Zalutskaya, Z. M., Nikitin, M. M., Lapina, T. V., & Fernández, E. (2010). Regulation by light of ammonium transport systems in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Plant, Cell & Environment*. 33(6), 1049-1056. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02126.x>.
- Espinosa-Carreón, T. L., & Escobedo-Urías, D. (2017). South region of the Gulf of California large marine ecosystem upwelling, fluxes of CO₂ and nutrients. *Environmental Development*. 22, 42-51. <https://doi.org/10.1016/j.envdev.2017.03.005>.
- Ezzat, L., Fine, M., Maguer, J.-F., Grover, R., & Ferrier-Pagès, C. (2017). Carbon and Nitrogen Acquisition in Shallow and Deep Holobionts of the Scleractinian Coral *S. pistillata*. *Frontiers in Marine Science*. 4, 245520. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00102>.
- Ezzat, L., Maguer, J.-F., Grover, R., & Ferrier-Pagès, C. (2015). New insights into carbon acquisition and exchanges within the coral–dinoflagellate symbiosis under NH₄⁺ and NO₃⁻ supply. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 282(1812), 20150610. <https://doi.org/10.1098/rspb.2015.0610>.
- Fan, X., Xu, D., Wang, D., Wang, Y., Zhang, X., & Ye, N. (2020). Nutrient uptake and transporter gene expression of ammonium, nitrate, and phosphorus in *Ulva linza*: adaptation to variable concentrations and temperatures. *Journal of Applied Phycology*. 32(2), 1311–1322. <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02050-2>.
- Finney, J. C., Pettay, D. T., Sampayo, E. M., Warner, M. E., Oxenford, H. A., & LaJeunesse, T. C. (2010). The Relative Significance of Host–Habitat, Depth, and Geography on the Ecology, Endemism, and Speciation of Coral Endosymbionts in the Genus *Symbiodinium*. *Microbial Ecology*. 60(1), 250–263. <https://doi.org/10.1007/s00248-010-9681-y>.
- Fournier, A. (2013). The story of symbiosis with zooxanthellae, or how they enable their host to thrive in a nutrient poor environment. *Master Biosci Rev-Ec Norm Supérieure Lyon*. 8. <https://biologie.ens-lyon.fr/ressources/bibliographies/pdf/m1-12-13-biosci-reviews-fournier-a-2c-m.pdf?lang=fr>.

- Fraga, D., Meulia, T., & Fenster, S. (2008). Real Time- PCR. Recuperado de: <http://www.currentprotocols.com/WileyCDA/CPUnit/refid-et1003.html>.
- Galland, G. R., Hastings, P. A., & Leichter, J. J. (2019). Fluctuating thermal environments of shallow-water rocky reefs in the Gulf of California, Mexico. *Scientific Reports*. 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53730-0>.
- Ganot, P., Moya, A., Magnone, V., Allemand, D., Furla, P., & Sabourault, C. (2011). Adaptations to Endosymbiosis in a Cnidarian-Dinoflagellate Association: Differential Gene Expression and Specific Gene Duplications. *PLoS Genetics*. 7(7), e1002187. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1002187>.
- Gierz, S. L., Forêt, S., & Leggat, W. (2017). Transcriptomic Analysis of Thermally Stressed Symbiodinium Reveals Differential Expression of Stress and Metabolism Genes. *Frontiers in Plant Science*. 8, 229697. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00271>.
- Gil-Agudelo, D. L., Cintra-Buenrostro, C. E., Brenner, J., González-Díaz, P., Kiene, W., Lustic, C., & Pérez-España, H. (2020). Coral Reefs in the Gulf of Mexico Large Marine Ecosystem: Conservation Status, Challenges, and Opportunities. *Frontiers in Marine Science*. 6, 491860. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00807>.
- Glynn, P. W. (1998). Coral Mortality and Disturbances to Coral Reefs in the Tropical Eastern Pacific. *Elsevier Oceanography Series*, 52, 55-126. [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)70033-35](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)70033-35).
- Glynn, P. W., & Ault, J. S. (2000). A biogeographic analysis and review of the far eastern Pacific coral reef region. *Coral Reefs*. 19(1), 1–23. <https://doi.org/10.1007/s003380050220>.
- Glynn, P. W., Alvarado, J. J., Banks, S., Cortés, J., Feingold, J. S., Jiménez, C., Maragos, J. E., Martínez, P., Maté, J. L., Moanga, D. A., Navarrete, S., Reyes-Bonilla, H., Riegl, B., Rivera, F., Vargas-ÁNGEL, B., Wieters, E. A., & Zapata, F. A. (2017). *Eastern Pacific Coral Reef Provinces, Coral Community Structure and Composition: An Overview*. In: Glynn, P., Manzello, D., Enochs, I. (Ed) *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_5.
- Glynn, P. W., Manzello, D. P., & Enochs, I. (2016). *Coral reefs of the eastern tropical Pacific: Persistence and loss in a dynamic environment (Vol. 8)*. Springer. [https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=mKLVDAQAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Glynn,+P.+W.,+Manzello,+D.+P.,+%26+Enochs,+I.+C.+\(Eds.\).+\(2016\).+Coral+reefs+of+the+eastern+tropical+Pacific:+Persistence+and+loss+in+a+dynamic+environment+\(Vol.+8\).+Springer&ots=VktQjxqPhF&sig=uCSL6C3kb4YS-7fBp7EJ1flKfx0&redir_esc=y#v=onepage&q=Glynn%2C%20P.%20W.%2C%20Manzello%2C%20D.%20P.%2C%20%26%20Enochs%2C%20I.%20C.%20\(Eds.\).%20\(2016\).%20Coral%20reefs%20of%20the%20eastern%20tropical%20Pacific%3A%20Persistence%20and%20loss%20in%20a%20dynamic%20environment%20\(Vol.%208\).%20Springer&f=false](https://books.google.com.mx/books?hl=es&lr=&id=mKLVDAQAQBAJ&oi=fnd&pg=PR7&dq=Glynn,+P.+W.,+Manzello,+D.+P.,+%26+Enochs,+I.+C.+(Eds.).+(2016).+Coral+reefs+of+the+eastern+tropical+Pacific:+Persistence+and+loss+in+a+dynamic+environment+(Vol.+8).+Springer&ots=VktQjxqPhF&sig=uCSL6C3kb4YS-7fBp7EJ1flKfx0&redir_esc=y#v=onepage&q=Glynn%2C%20P.%20W.%2C%20Manzello%2C%20D.%20P.%2C%20%26%20Enochs%2C%20I.%20C.%20(Eds.).%20(2016).%20Coral%20reefs%20of%20the%20eastern%20tropical%20Pacific%3A%20Persistence%20and%20loss%20in%20a%20dynamic%20environment%20(Vol.%208).%20Springer&f=false).
- Glynn, P. W., Mones, A. B., Podestá, G. P., Colbert, A., & Colgan, M. W. (2016). *El Niño-Southern Oscillation: Effects on Eastern Pacific Coral Reefs and Associated Biota*. In: Glynn, P., Manzello, D., Enochs, I. (Ed) *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_8.

- Goldberg, W. M. (2002). Gastrodermal structure and feeding responses in the scleractinian *Mycetophyllia reesi*, a coral with novel digestive filaments. *Tissue and Cell*. 34(4), 246-261. [https://doi.org/10.1016/S0040-8166\(02\)00008-3](https://doi.org/10.1016/S0040-8166(02)00008-3).
- Gómez, D. L. A. E. (2007). La construcción de la región del Golfo de California desde lo ambiental y lo indígena. *Ra Ximhai*. 3(1), 83-116. Recuperado de: <http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-07articulosPDF/Art%204%20Golfo.pdf>.
- González-Pech, A. R., Ragan, M. A., & Chan, C. X. (2017). Signatures of adaptation and symbiosis in genomes and transcriptomes of *Symbiodinium*. *Scientific Reports*. 7(1), 15021. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-15029-w>.
- Gordon, B. R., & Leggat, W. (2010). *Symbiodinium*—Invertebrate Symbioses and the Role of Metabolomics. *Marine Drugs*. 8(10), 2546–2568. <https://doi.org/10.3390/md8102546>.
- Grover, R., Maguer, F., Reynaud-Vaganay, S., & Ferrier-Pagès, C. (2002). Uptake of ammonium by the scleractinian coral *Stylophora pistillata*: Effect of feeding, light, and ammonium concentrations. *Limnology and Oceanography*. 47(3), 782-790. <https://doi.org/10.4319/lo.2002.47.3.0782>.
- Halfar, J., Godinez-Orta, L., Riegl, B., Valdez-Holguin, J. E., & Borges, J. M. (2005). Living on the edge: high-latitude *Porites* carbonate production under temperate eutrophic conditions. *Coral Reefs*. 24(4), 582–592. <https://doi.org/10.1007/s00338-005-0029-x>.
- Halfar, J., Godinez-Orta, L., Mutti, M., Valdez-Holguín, J. E., & Borges, J. M. (2004). Nutrient and temperature controls on modern carbonate production: An example from the Gulf of California, Mexico. *Geology*. 32(3), 213-216. <https://doi.org/10.1130/G20298.1>.
- Hauser, T., Popilka, L., Hartl, F. U., & Hayer-Hartl, M. (2015). Role of auxiliary proteins in Rubisco biogenesis and function. *Nature Plants*. 1(6), 15065. <https://doi.org/10.1038/nplants.2015.65>.
- Havaux, M. (2020). Plastoquinone in and beyond photosynthesis. *Trends in Plant Science*, 25(12), 1252-1265. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2020.06.011>.
- Hellemans, J., Mortier, G., De Paepe, A., Speleman, F., & Vandesompele, J. (2007). qBase relative quantification framework and software for management and automated analysis of real-time quantitative PCR data. *Genome Biology*. 8(2), R19. <https://doi.org/10.1186/gb-2007-8-2-r19>.
- Hennige, S. J., McGinley, M. P., Grottoli, A. G., & Warner, M. E. (2011). Photoinhibition of *Symbiodinium* spp. within the reef corals *Montastraea faveolata* and *Porites astreoides*: implications for coral bleaching. *Mar Biol* 158, 2515–2526. <https://doi.org/10.1007/s00227-011-1752-1>.
- Hernández-Ayón, J. M., Chapa-Balcorta, C., Delgadillo-Hinojosa, F., Camacho-Ibar, V. F., Huerta-Díaz, M. A., Santamaría-del-Angel, E., Galindo-Bect, S., & Segovia-Zavala, J. A. (2013). Dinámica del carbono inorgánico disuelto en la región de las grandes islas del golfo de California: Influencia de las masas de agua. *Ciencias marinas*. 39(2), 183-201. <https://doi.org/10.7773/cm.v39i2.2243>.
- Hernández-Nava, M. F., & Álvarez-Borrego, S. (2013). Zooplankton in a whale shark (*Rhincodon typus*) feeding area of Bahía de los Ángeles (Gulf of California). *Hidrobiológica*. 23(2), 198-208. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57829975006>.

- Hidaka, M. (2016). *Life History and Stress Response of Scleractinian Corals*. In: Kayanne, H. (Ed) Coral Reef Science. Coral Reefs of the World, vol 5. Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/978-4-431-54364-0_1.
- Hidalgo-González, R., Álvarez-Borrego, S., & Zirino, A. (1997). Mixing in the region of the midrift islands of the Gulf of California: effect on surface pCO₂. *Ciencias Marinas*. 23(3), 317–327. <https://doi.org/10.7773/cm.v23i3.813>.
- Hill, R., Brown, C. M., DeZeeuw, K., Campbell, D. A., & Ralph, P. J. (2011). Increased rate of D1 repair in coral symbionts during bleaching is insufficient to counter accelerated photo-inactivation. *Limnology and Oceanography*. 56(1), 139-146. <https://doi.org/10.4319/lo.2011.56.1.0139>.
- Hoadley, K. D., Lewis, A. M., Wham, D. C., Pettay, D. T., Grasso, C., Smith, R., Kemp, D. W., Lajeunesse, T. C. & Warner, M. E. (2019). Host–symbiont combinations dictate the photo-physiological response of reef-building corals to thermal stress. *Scientific Reports*. 9(1), 9985. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-46412-4>.
- Hoadley, K. D., Pettay, D. T., Dodge, D., & Warner, M. E. (2016). Contrasting physiological plasticity in response to environmental stress within different cnidarians and their respective symbionts. *Coral Reefs*. 35(2), 529–542. <https://doi.org/10.1007/s00338-016-1404-5>.
- Hoogenboom, M. O., Campbell, D. A., Beraud, E., DeZeeuw, K., & Ferrier-Pagès, C. Effects of Light, Food Availability and Temperature Stress on the Function of Photosystem II and Photosystem I of Coral Symbionts. *PLOS ONE*. 7(1), e30167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030167>.
- Houlbrèque, F., & Ferrier-Pagès, C. (2009). Heterotrophy in Tropical Scleractinian Corals. *Biological Reviews*, 84(1), 1-17. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.2008.00058>.
- Howells, E. J., Berkelmans, R., van Oppen, M. J. H., Willis, B. L., & Bay, L. K. (2013). Historical thermal regimes define limits to coral acclimatization. *Ecology*. 94(5), 1078–1088. <https://doi.org/10.1890/12-1257.1>.
- Huggett, J., Dheda, K., Bustin, S., & Zumla, A. (2005). Real-time RT-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes & Immunity*. 6(4), 279-284. <https://doi.org/10.1038/sj.gene.6364190>.
- Hughes, T. P., Rodrigues, M. J., Bellwood, D. R., Ceccarelli, D., Hoegh-Guldberg, O., McCook, L., Moltschanowskyj, N., Pratchett, M. S., Steneck, R., S., & Willis, B. (2007). Phase Shifts, Herbivory, and the Resilience of Coral Reefs to Climate Change. *Current Biology*. 17(4), 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2006.12.049>.
- Hume, B. C. C., Ziegler, M., Poulain, J., Pochon, X., Romac, S., Boissin, E., de Vargas, C., Planes, S., Wincker, P., & Voolstra, C. R. (2018). An improved primer set and amplification protocol with increased specificity and sensitivity targeting the Symbiodinium ITS2 region. *PeerJ*. 6, e4816. <https://doi.org/10.7717/peerj.4816>.
- Iglesias-Prieto, R., Beltran, V. H., Lajeunesse, T. C., Reyes-Bonilla, H., & Thome, P. E. (2004). Different algal symbionts explain the vertical distribution of dominant reef corals in the eastern Pacific. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 271(1549), 1757–1763. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2757>.

- Ip, J. C. H., Zhang, Y., Xie, J. Y., Yeung, Y. H., & Qiu, J. (2022). Comparative transcriptomics of two coral holobionts collected during the 2017 El Niño heat wave reveal differential stress response mechanisms. *Marine Pollution Bulletin*, 182, 114017. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2022.114017>.
- Ivanov, A. G., Velitchkova, M. Y., Allakhverdiev, S. I., & Huner, N. P. A. (2017). Heat stress-induced effects of photosystem I: an overview of structural and functional responses. *Photosynthesis Research*, 133(1-3), 17–30. <https://doi.org/10.1007/s11120-017-0383-x>.
- Jara-Marini, M. E., Soto-Jiménez, M. F., & Páez-Osuna, F. (2008). Trace metals accumulation patterns in a mangrove lagoon ecosystem, Mazatlán Harbor, southeast Gulf of California. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 43(9), 995–1005. <https://doi.org/10.1080/10934520802059797>.
- Jara-Marini, M. E., Soto-Jiménez, M. F., & Páez-Osuna, F. (2012). Mercury transfer in a subtropical coastal lagoon food web (SE Gulf of California) under two contrasting climatic conditions. *Environmental Toxicology*, 27(9), 526-536. <https://doi.org/10.1002/tox.20670>.
- Jiang, J., Wang, A., Deng, X., Zhou, W., Gan, Q., & Lu, Y. (2021). How Symbiodiniaceae meets the challenges of life during coral bleaching. *Coral Reefs*, 40(4), 1339–1353. <https://doi.org/10.1007/s00338-021-02115-9>.
- Johnson, X., Wostrickoff, K., Finazzi, G., Kuras, R., Schwarz, C., Bujaldon, S., Nickelsen, J., Stern, D. B., Wollman, F., & Vallon, O. (2010). MRL1, a Conserved Pentatricopeptide Repeat Protein, Is Required for Stabilization of *rbcl* mRNA in *Chlamydomonas* and *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 22(1), 234-248. <https://doi.org/10.1105/tpc.109.066266>.
- Juárez, Oscar E., Morales-Guerrero, Blanca, Liñán-Cabello, Marco A., Carpizo-Ituarte, Eugenio, Delgadillo-Nuño, Erick, Delgadillo-Nuño, Manuel Alejandro, Gómez-Reyes, Ricardo, Ventura-López, Claudia, Cabral-Tena, Rafael A., & Galindo-Sánchez, Clara E.. (2024). Transcriptome characterization of *Pocillopora grandis* transplanted into reefs with different health conditions: potential stress indicators at the holobiont level. *Latin American journal of aquatic research*, 52(1), 119-149. <https://dx.doi.org/10.3856/vol52-issue1-fulltext-2991>.
- Kang, K., & Rynearson, T. A. (2019). Identification and Expression Analyses of the Nitrate Transporter Gene (NRT2) Family Among *Skeletonema* species (Bacillariophyceae). *Journal of Phycology*, 55(5), 1115-1125. <https://doi.org/10.1111/jpy.12896>.
- Karim, W., Nakaema, S., & Hidaka, M. (2015). Temperature Effects on the Growth Rates and Photosynthetic Activities of Symbiodinium Cells. *Journal of Marine Science and Engineering*, 3(2), 368-381. <https://doi.org/10.3390/jmse3020368>.
- Kato, M. C., Hikosaka, K., Hirotsu, N., Makino, A., & Hirose, T. (2003). The Excess Light Energy that is neither Utilized in Photosynthesis nor Dissipated by Photoprotective Mechanisms Determines the Rate of Photoinactivation in Photosystem II. *Plant and Cell Physiology*, 44(3), 318-325. <https://doi.org/10.1093/pcp/pcg045>.
- Kenkel, C. D., & Matz, M. V. (2016). Gene expression plasticity as a mechanism of coral adaptation to a variable environment. *Nature Ecology & Evolution*, 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.1038/s41559-016-0014>.

- Kennedy, S., & Oswald, N. (2011). *PCR troubleshooting and optimization: the essential guide*. (Ed) Norfolk: Caister Academic Press. Recuperado de: <https://library.wur.nl/WebQuery/titel/1960741>.
- Kettunen, R., Pursiheimo, S., Rintamäki, E., Wijk, J. V., & Aro, M. (1997). Transcriptional and Translational Adjustments of Psba Gene Expression in Mature Chloroplasts During Photoinhibition and Subsequent Repair of Photosystem II. *European Journal of Biochemistry*. 247(1), 441-448. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1997.00441.x>.
- Krueger, T., Fisher, P. L., Becker, S., Pontasch, S., Dove, S., Hoegh-Guldberg, O., Leggat, W., & Davy, S. K. (2015). Transcriptomic characterization of the enzymatic antioxidants FeSOD, MnSOD, APX and KatG in the dinoflagellate genus Symbiodinium. *BMC Evolutionary Biology*. 15(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s12862-015-0326-0>.
- Krueger, T., Horwitz, N., Bodin, J., Giovani, M.-E., Escrig, S., Fine, M., & Meibom, A. (2020). Intracellular competition for nitrogen controls dinoflagellate population density in corals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 287(1922), 20200049. <https://doi.org/10.1098/rspb.2020.0049>.
- Lachmann, S. C., Mettler-Altmann, T., Wacker, A., & Spijkerman, E. (2019). Nitrate or ammonium: Influences of nitrogen source on the physiology of a green alga. *Ecology and Evolution*. 9(3), 1070-1082. <https://doi.org/10.1002/ece3.4790>.
- LaJeunesse, T. C., Bonilla, H. R., Warner, M. E., Wills, M., Schmidt, G. W., & Fitt, W. K. (2008). Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral-algal symbioses. *Limnology and Oceanography*. 53(2), 719-727. <https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.2.0719>.
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic Revision of Symbiodiniaceae Highlights the Antiquity and Diversity of Coral Endosymbionts. *Current Biology*. 28(16), 2570–2580.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.008>.
- LaJeunesse, T. C., Smith, R., Walther, M., Pinzon, J., Pettay, D. T., McGinley, M., Aschaffenburg, M., Medina-Rosas, P., Cupul-Magaña, A. L., Pérez, A. L., Reyes-Bonilla, H., & Warner, M. E. (2010). Host-symbiont recombination versus natural selection in the response of coral-dinoflagellate symbioses to environmental disturbance. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 277(1696), 2925–2934. <https://doi.org/10.1098/rspb.2010.0385>.
- Larkum, A.W.D. (2003). *Light-Harvesting Systems in Algae*. In: Larkum, A.W.D., Douglas, S.E., Raven, J.A. (Ed) Photosynthesis in Algae. Advances in Photosynthesis and Respiration, vol 14. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2_13.
- Lavaniegos, BE, Heckel, G, & Ladrón de Guevara P, P. (2012). Variabilidad estacional de copépodos y cladóceros de bahía de los Ángeles (golfo de California) e importancia de Acartia clausi como alimento del tiburón ballena. *Ciencias marinas*, 38(1a), 11-30. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S018538802012000100002&lng=es&tlng=es.
- Leggat, W., Hoegh-Guldberg, O., Dove, S., & Yellowlees, D. (2007). Analysis of an EST library from the dinoflagellate (Symbiodinium sp.) symbiont of reef-building corals1. *Journal of Phycology*. 43(5), 1010-1021. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2007.00387.x>.

- Leggat, W., Seneca, F., Wasmund, K., Ukani, L., Yellowlees, D., & Ainsworth, T. D. (2011). Differential Responses of the Coral Host and Their Algal Symbiont to Thermal Stress. *PLOS ONE*. 6(10), e26687. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026687>.
- Lesser, M. P. (1996). Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*. 41(2), 271-283. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.2.0271>.
- Li, M., Tian, H., & Gao, Y. (2021). A genome-wide analysis of NPF and NRT2 transporter gene families in bread wheat provides new insights into the distribution, function, regulation and evolution of nitrate transporters. *Plant and Soil*. 465(1-2), 47–63. <https://doi.org/10.1007/s11104-021-04927-8>.
- Lilley, R. M., Ralph, P. J., & D. Larkum, A. W. (2010). The determination of activity of the enzyme Rubisco in cell extracts of the dinoflagellate alga *Symbiodinium* sp. By manganese chemiluminescence and its response to short-term thermal stress of the alga. *Plant, Cell & Environment*. 33(6), 995-1004. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02121.x>.
- Lin, S., Cheng, S., Song, B., Zhong, X., Lin, X., Li, W., Li, L., Zhang, Y., Zhang, H., Ji, Z., Cai, M., Zhuang, Y., Shi, X., Lin, L., Wang, L., Wang, Z., Liu, X., Yu, S., Zeng, P., Hao, H., Zou, Q., Chen, C., Li, Y., Wang, Y., Xu, C., Meng, S., Xu, X., Wang, J., Yang, H., Campbell, D. A., Sturm, N. R., Dagenais-Bellefeuille, S., & Morse, D. (2015). The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis. *Science*. 350(6261), 691-694. <https://doi.org/aad0408>.
- Lin, S., Yu, L., & Zhang, H. (2019). Transcriptomic Responses to Thermal Stress and Varied Phosphorus Conditions in *Fugacium kawagutii*. *Microorganisms*. 7(4), 96. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7040096>.
- Liu, Z., Dreybrodt, W., & Wang, H. (2010). A new direction in effective accounting for the atmospheric CO₂ budget: Considering the combined action of carbonate dissolution, the global water cycle and photosynthetic uptake of DIC by aquatic organisms. *Earth-Science Reviews*. 99(3-4), 162-172. <https://doi.org/10.1016/j.earscirev.2010.03.001>.
- Lluch-Cota, S. E., Aragon-Noriega, E. A., Arreguín-Sánchez, F., Aurióles-Gamboa, D., Bautista-Romero, J. J., Brusca, R. C., Cervantes-Duarte, R., Cortés-Altamirano, R., Del-Monte-Luna, P., Esquivel-Herrera, A., Fernández, G., Hendrickx, M. E., Hernández-Vázquez, S., Herrera-Cervantes, H., Kahru, M., Lavín, M., Lluch-Belda, D., Lluch-Cota, D. B., López-Martínez, J., Marinone, S. G. & Sierra-Beltrán, A. P. (2007). The Gulf of California: review of ecosystem status and sustainability challenges. *Progress in oceanography*. 73(1), 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2007.01.013>.
- Lluch-Cota, S. E., Parés-Sierra, A., Magaña-Rueda, V. O., Arreguín-Sánchez, F., Bazzino, G., Herrera-Cervantes, H., & Lluch-Belda, D. (2010). Changing climate in the Gulf of California. *Progress in Oceanography*. 87(1-4), 114-126. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2010.09.007>.
- López-Pérez, R. A. (2013). Species composition and morphologic variation of *Porites* in the Gulf of California. *Coral Reefs*. 32(3), 867–878. <https://doi.org/10.1007/s00338-013-1031-3>.
- Maor-Landaw, K., Oppen, M. J. H., & McFadden, G. I. (2019). Symbiotic lifestyle triggers drastic changes in the gene expression of the algal endosymbiont *Breviolum minutum* (Symbiodiniaceae). *Ecology and Evolution*. 10(1), 451–466. <https://doi.org/10.1002/ece3.5910>.

- Maragos, J. E., & Williams, G. J. (2011). Pacific coral reefs: an introduction. In: Hopley D, ed. *Encyclopedia of Modern Coral Reefs*. Springer: New York, NY. 753-776. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/76660001/978-90-481-2639-2_123-libre.pdf?1639745457=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPersian Arabian Gulf Coral Reefs.pdf&Expires=1731999458&Signature=Pnh5~NaMg0CD~pPdgdGDC9nN8Xxq9PieqDcJ4hw4gz4XFC1jdLrpFNILWDimq7P8TtTpIoyvP1eQLutogJ-Eo1taazed1MyO3L33KP1qbpDiiSrZ~VQeG1N3YINJAOnfMjI4hcoc51E5mOUAH5p3vSoBsKJ2x1AldiFFbTf0gDT11Pg-8Z5n8wbwd-xZ8mftCYIz450aAGN4poLegYQPnBF7rfd3uj0HDP6eqTMZRF~DiSJWOwfJ5yBpifL7RDAegmbpBcrejZ5q0hKyElb4F1TXsr-FJbHEncOOU4rPpKx9WJXZi7~zISRjIS5sNX1QD2aoswvXs~0JpmNvig_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/76660001/978-90-481-2639-2_123-libre.pdf?1639745457=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPersian%20Arabian%20Gulf%20Coral%20Reefs.pdf&Expires=1731999458&Signature=Pnh5~NaMg0CD~pPdgdGDC9nN8Xxq9PieqDcJ4hw4gz4XFC1jdLrpFNILWDimq7P8TtTpIoyvP1eQLutogJ-Eo1taazed1MyO3L33KP1qbpDiiSrZ~VQeG1N3YINJAOnfMjI4hcoc51E5mOUAH5p3vSoBsKJ2x1AldiFFbTf0gDT11Pg-8Z5n8wbwd-xZ8mftCYIz450aAGN4poLegYQPnBF7rfd3uj0HDP6eqTMZRF~DiSJWOwfJ5yBpifL7RDAegmbpBcrejZ5q0hKyElb4F1TXsr-FJbHEncOOU4rPpKx9WJXZi7~zISRjIS5sNX1QD2aoswvXs~0JpmNvig_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA).
- Martinez, S., & Grover, R. (2022). Symbiont starvation affects the stability of the coral–Symbiodiniaceae symbiosis. *Frontiers in Marine Science*. 9, 979563. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.979563>.
- Martinez, S., Grover, R., Baker, D. M., & Ferrier-Pagès, C. (2022). Symbiodiniaceae Are the First Site of Heterotrophic Nitrogen Assimilation in Reef-Building Corals. *mBio*13:e01601-22. <https://doi.org/10.1128/mbio.01601-22>.
- Martínez-Castillo, V., Rodríguez-Troncoso, A. P., Bautista-Guerrero, E., & Cupul-Magaña, A. L. (2022). Symbiont-coral relationship in the main reef building scleractinians of the Central Mexican Pacific. *Symbiosis*. 86(3), 315-323. <https://doi.org/10.1007/s13199-022-00848-x>.
- Martínez-Díaz-de-León, A., Pacheco-Ruíz, I., Delgadillo-Hinojosa, F., Zertuche-González, J. A., Chee-Barragán, A., Blanco-Betancourt, R., Guzmán-Cálderón, J. M., & Gálvez-Telles, A. (2006). Spatial and temporal variability of the sea surface temperature in the Ballenas-Salsipuedes Channel (central Gulf of California). *Journal of Geophysical Research*. 111(C2). <https://doi.org/10.1029/2005JC002940>.
- Martínez-Fuentes, L., Norzagaray-López, C., Hernández-Ayón, J., Solana-Arellano, M., Uribe-López, A., Valdivieso-Ojeda, J., Camacho-Ibar, V., Mejía-Trejo, A., Delgadillo-Hinojosa, F., & Cabral-Tena, R. (2022). Influence of the advection of water masses in the Ballenas Channel on the CO₂ system in Bahía de los Angeles (Mexico). *Regional Studies in Marine Science*. 55, 102505. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2022.102505>.
- Martinez-Mercado, M. A., Delgadillo-Nuño, M. A., Trejo-Estrada, A. E., López-García, E., Ventura-López, C., Sánchez-Castrejón, E., Galindo-Sánchez, C. E. & Cabral-Tena, R. A. (en revisión). Symbiodiniaceae diversity in *Porites panamensis* in an extreme and marginal environment of the eastern Pacific. *Coral Reefs*.
- Mayfield, A. B., Hsiao, Y.-Y., Chen, H.-K., & Chen, C.-S. (2014). Rubisco Expression in the Dinoflagellate *Symbiodinium* sp. Is Influenced by Both Photoperiod and Endosymbiotic Lifestyle. *Marine Biotechnology*. 16(4), 371–384. <https://doi.org/10.1007/s10126-014-9558-z>.
- McGinley, M. P., Aschaffenburg, M. D., Pettay, D. T., Smith, R. T., LaJeunesse, T. C., & Warner, M. E. (2012). Transcriptional Response of Two Core Photosystem Genes in *Symbiodinium* spp. Exposed to Thermal Stress. *PLOS ONE*. 7(12), e50439. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050439>.

- McGinley, M. P., Suggett, D. J., & Warner, M. E. (2013). Transcript patterns of chloroplast-encoded genes in cultured *Symbiodinium* spp. (Dinophyceae): Testing the influence of a light shift and diel periodicity. *Journal of Phycology*, 49(4), 709-718. <https://doi.org/10.1111/jpy.12079>.
- Méndez, S. M. M. (2016). *Diversidad genética de los dinoflagelados simbióticos (Symbiodinium) del coral Porites panamensis en el Pacífico Oriental Tropical*. [Tesis de Licenciatura de la Universidad de San Carlos, Guatemala]. <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/tesis/B267.pdf>.
- Millán-Nuñez, E., & Yentsch, C. M. (2000). El Canal de Ballenas, Baja California, como ambiente favorable para el desarrollo del fitoplancton. *Hidrobiológica*, 10(2), 91-100. https://www.researchgate.net/publication/237036728_El_Canal_de_Ballenas_Baja_California_cmo_ambiente_favorable_para_el_desarrollo_del_fitoplancton.
- Muller-Parker, G., D'Elia, C.F., Cook, C.B. (2015). *Interactions Between Corals and Their Symbiotic Algae*. In: *Birkeland, C.* (Ed) *Coral Reefs in the Anthropocene*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7249-5_5.
- Mulo, P., Sakurai, I., & Aro, E. (2012). Strategies for psbA gene expression in cyanobacteria, green algae and higher plants: From transcription to PSII repair. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Bioenergetics*, 1817(1), 247-257. <https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.04.011>.
- Muscatine, L., & Porter, J. W. (1977). Reef Corals: Mutualistic Symbioses Adapted to Nutrient-Poor Environments. *BioScience*, 27(7), 454-460. <https://doi.org/10.2307/1297526>.
- Muscatine L. , Falkowski P. G. , Dubinsky Z. , Cook P. A. & McCloskey L. R. (1989).The effect of external nutrient resources on the population dynamics of zooxanthellae in a reef coral.*Proc. R. Soc. Lond.* B236311–324. <http://doi.org/10.1098/rspb.1989.0025>.
- Muscatine, L., Goiran, C., Land, L., Jaubert, J., Cuif, J., & Allemand, D. (2005). Stable isotopes ($\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^{15}\text{N}$) of organic matrix from coral skeleton. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(5), 1525-1530. <https://doi.org/10.1073/pnas.040892110>.
- Neelam, S., & Subramanyam, R. (2013). Alteration of photochemistry and protein degradation of photosystem II from *Chlamydomonas reinhardtii* under high salt grown cells. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 124, 63-70. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.04.007>.
- Nitschke, M. R., Rosset, S. L., Oakley, C. A., Gardner, S. G., Camp, E. F., Suggett, D. J., & Davy, S. K. (2022). The diversity and ecology of Symbiodiniaceae: A traits-based review. *Advances in Marine Biology*, 92, 55-127. <https://doi.org/10.1016/bs.amb.2022.07.001>.
- Norzagaray-López, C. O., Calderon-Aguilera, L. E., Hernández-Ayón, J. M., Reyes-Bonilla, H., Carricart-Ganivet, J. P., Cabral-Tena, R. A., & Balart, E. F. (2015). Low calcification rates and calcium carbonate production in *Porites panamensis* at its northernmost geographic distribution. *Marine Ecology*, 36(4), 1244-1255. <https://doi.org/10.1111/maec.12227>.
- Olguín-López, N., Gutiérrez-Chávez, C., Hernández-Elizárraga, V. H., Ibarra-Alvarado, C., & Molina, A. R. (2018). Coral Reef Bleaching: An Ecological and Biological Overview. *Corals in a Changing World*. <https://www.intechopen.com/chapters/56347>.

- Olivier, D., Loiseau, N., Petatán-Ramírez, D., Millán, O. T., Suárez-Castillo, A. N., Torre, J., Munguia-Vega, A., & Reyes-Bonilla, H. (2018). Functional-biogeography of the reef fishes of the islands of the Gulf of California: Integrating functional divergence into marine conservation. *Global Ecology and Conservation*. 16, e00506. <https://doi.org/10.1016/j.gecco.2018.e00506>.
- Oporto-Guerrero, T., Reyes-Bonilla, H., & Ladah, L. B. (2018). Presence of the reef-building coral, *Porites panamensis*, in a shallow hydrothermal field in the Gulf of California. *Marine Biodiversity*. 48(1), 703–708. <https://doi.org/10.1007/s12526-016-0546-6>.
- Oppen, M. J. H. van., Mahiny, A. J., & Done, T. J. (2005). Geographic distribution of zooxanthella types in three coral species on the Great Barrier Reef sampled after the 2002 bleaching event. *Coral Reefs*. 24(3), 482–487. <https://doi.org/10.1007/s00338-005-0487-1>.
- Pang, C. Z., Ip, Y. K., & Chew, S. F. (2021). Using Transcript Levels of Nitrate Transporter 2 as Molecular Indicators to Estimate the Potentials of Nitrate Transport in Symbiodinium, Cladocopium, and Durusdinium of the Fluted Giant Clam, *Tridacna squamosa*. *Frontiers in Marine Science*. 8, 784662. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.784662>.
- Pang, C. Z., Ip, Y. K., & Chew, S. F. (2022). Ammonia transporter 2 as a molecular marker to elucidate the potentials of ammonia transport in phylotypes of Symbiodinium, Cladocopium and Durusdinium in the fluted giant clam, *Tridacna squamosa*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*. 269, 111225. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2022.111225>.
- Pardo Rueda, M. A. (2009). *Condiciones fisicoquímicas y biológicas que modulan la abundancia de cetáceos sobre Cuenca Alfonso, Golfo de California*. [Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional]. <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/6554/CONDICFISICOQUIM.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- Parkinson, J. E., & Baums, I. B. (2014). The extended phenotypes of marine symbioses: Ecological and evolutionary consequences of intraspecific genetic diversity in coral–algal associations. *Frontiers in Microbiology*. 5, 96662. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00445>.
- Parkinson, J. E., Baumgarten, S., Michell, C. T., Baums, I. B., LaJeunesse, T. C., & Voolstra, C. R. (2016). Gene Expression Variation Resolves Species and Individual Strains among Coral-Associated Dinoflagellates within the Genus Symbiodinium. *Genome Biology and Evolution*. 8(3), 665-680. <https://doi.org/10.1093/gbe/evw019>.
- Paz-García, D. A., LaJeunesse, T. C., Chávez-Romo, H. E., Correa-Sandoval, F., & Reyes-Bonilla, H. (2008). Differences in the distribution of Symbiodinium spp. among morphotypes and genotypes of *Porites panamensis* from the Gulf of California, Mexico. In *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium*. Nova Southeastern University, Lauderdale. 164-167. [https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/7183974/Paz-Garcia et al 2009c Differences in the distribution of Symbiodinium spp- libre.pdf?1390850309=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDifferences in the distribution of Symbi.pdf&Expires=1731973090&Signature=GMmpVkbkKkt-C4GNiWeBNqD6a0N5ZfbgnmYcY5g9l~Fh2sGDrl-3kFYyoZCUyxZ9kfGRQlZm2O86qB8aSoaAl9kZpidDtginXmYuog--syEy9JkGSVugdV9rigp31zudwU2N2yEiyGS8Wjl2RCywoLXKgWTFxo4xZlp2SWVQ~8OcBgQi3O4PbbO WVpRgQd286WtFcaOcp7YWGFfl8PGmCGsox5cT7Xd-kvBtvBsVjeJbHtZ7TTXgFTXq5zsRxUg511i~hwzFIE8~0BhFNuMe6nqEG06VmhcH8JBDbeVoAe8Ao-7JmEv9aYXxOIXp6pg7H7dxDC24u6jRemwVmHIWUQ_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA](https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/7183974/Paz-Garcia%20et%20al%202009c%20Differences%20in%20the%20distribution%20of%20Symbiodinium%20spp%20-%20libre.pdf?1390850309=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DDifferences%20in%20the%20distribution%20of%20Symbi.pdf&Expires=1731973090&Signature=GMmpVkbkKkt-C4GNiWeBNqD6a0N5ZfbgnmYcY5g9l~Fh2sGDrl-3kFYyoZCUyxZ9kfGRQlZm2O86qB8aSoaAl9kZpidDtginXmYuog--syEy9JkGSVugdV9rigp31zudwU2N2yEiyGS8Wjl2RCywoLXKgWTFxo4xZlp2SWVQ~8OcBgQi3O4PbbO WVpRgQd286WtFcaOcp7YWGFfl8PGmCGsox5cT7Xd-kvBtvBsVjeJbHtZ7TTXgFTXq5zsRxUg511i~hwzFIE8~0BhFNuMe6nqEG06VmhcH8JBDbeVoAe8Ao-7JmEv9aYXxOIXp6pg7H7dxDC24u6jRemwVmHIWUQ_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA).

- Pernice, M., Meibom, A., Van Den Heuvel, A., Kopp, C., Domart-Coulon, I., Hoegh-Guldberg, O., & Dove, S. (2012). A single-cell view of ammonium assimilation in coral–dinoflagellate symbiosis. *The ISME Journal*. 6(7), 1314–1324. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.196>.
- Pfaffl, M. W., Tichopad, A., Prgomet, C., & Neuvians, T. P. (2004). Determination of stable housekeeping genes, differentially regulated target genes and sample integrity: BestKeeper – Excel-based tool using pair-wise correlations. *Biotechnology Letters*. 26(6), 509–515. <https://doi.org/10.1023/B:BILE.0000019559.84305.47>.
- Pochon, X., Putnam, H. M., & Gates, R. D. (2014). Multi-gene analysis of Symbiodinium dinoflagellates: a perspective on rarity, symbiosis, and evolution. *PeerJ*. 2, e394. <https://doi.org/10.7717/peerj.394>.
- Poquita-Du, R. C., Huang, D., Chou, L. M., & Todd, P. A. (2020). The contribution of stress-tolerant endosymbiotic dinoflagellate Durusdinium to Pocillopora acuta survival in a highly urbanized reef system. *Coral Reefs*. 39, 745–755. <https://doi.org/10.1007/s00338-020-01902-0>.
- Prywes, N., Phillips, N. R., Tuck, O. T., Valentin-Alvarado, L. E., & Savage, D. F. (2023). Rubisco function, evolution, and engineering. *Annual review of biochemistry*. 92(1), 385-410. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-040320-101244>.
- Putnam, H. M., Mayfield, A. B., Fan, T. Y., Chen, C. S., & Gates, R. D. (2013). The physiological and molecular responses of larvae from the reef-building coral Pocillopora damicornis exposed to near-future increases in temperature and pCO₂. *Marine Biology*. 160(8), 2157–2173. <https://doi.org/10.1007/s00227-012-2129-9>.
- Putnam, H. M., Stat, M., Pochon, X., & Gates, R. D. (2012). Endosymbiotic flexibility associates with environmental sensitivity in scleractinian corals. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*. 279(1746), 4352–4361. <https://doi.org/10.1098/rspb.2012.1454>.
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Voolstra, C. R., Wiedenmann, J., & Wild, C. (2015). Nitrogen cycling in corals: the key to understanding holobiont functioning?. *Trends in Microbiology*. 23(8), 490–497. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2015.03.008>.
- Ramos, C. M. G. (2019). *Cambios en la cobertura de coral en el Pacífico mexicano causados por el evento El Niño de 2015*. [Tesis de doctorado de la Universidad Autónoma de Baja California Sur]. <https://biblio.uabcs.mx/tesis/te4111.pdf>.
- Raymond, E. (2021). *The influence of nutrient availability on the thermotolerance of symbiotic dinoflagellates of family Symbiodiniaceae*. [Tesis de doctorado de la Universidad de Wellington]. <https://doi.org/10.26686/wgtn.16533087.v1>.
- Reyes, G. G., Villagrana L., C., & Alvarez, G. L. (1999). Environmental Conditions and Pesticide Pollution of Two Coastal Ecosystems in the Gulf of California, Mexico. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 44(3), 280-286. <https://doi.org/10.1006/eesa.1999.1836>.
- Reyes-Bonilla, H. (2003). Coral reefs of the Pacific coast of México. *Latin American Coral Reefs*. 331-349. <https://doi.org/10.1016/B978-044451388-5/50015-1>.
- Reyes-Bonilla, H., González-Romero, S., Cruz-Piñón, G., y Calderón-Aguilera, L. E. (2008). *Corales pétreos En: Danemann GD, Ezcurra E. (Ed) Bahía de los Ángeles: recursos naturales y comunidad: línea base 2007*.

<https://books.google.com/sv/books?id=kSP02XgNpblC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>.

- Roberty, S., & Plumier, J. C. (2022). Bleaching physiology: who's the 'weakest link'—host vs. symbiont?. *Emerging Topics in Life Sciences*. 6(1), 17-32. <https://doi.org/10.1042/ETLS20210228>.
- Roberty, S., Béraud, E., Grover, R., & Ferrier-Pagès, C. (2020). Coral Productivity Is Co-Limited by Bicarbonate and Ammonium Availability. *Microorganisms*. 8(5), 640. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050640>.
- Ros, M., Camp, E. F., Hughes, D. J., Crosswell, J. R., Warner, M. E., Leggat, W. P., & Suggett, D. J. (2020). Unlocking the black-box of inorganic carbon-uptake and utilization strategies among coral endosymbionts (Symbiodiniaceae). *Limnology and Oceanography*. 65(8), 1747-1763. <https://doi.org/10.1002/lno.11416>.
- Rose, N. H., Bay, R. A., Morikawa, M. K., & Palumbi, S. R. (2018). Polygenic evolution drives species divergence and climate adaptation in corals. *Evolution*. 72(1), 82-94. <https://doi.org/10.1111/evo.13385>.
- Rosic, N. N., Pernice, M., Dunn, S., Dove, S., & Hoegh-Guldberg, O. (2010). Differential Regulation by Heat Stress of Novel Cytochrome P450 Genes from the Dinoflagellate Symbionts of Reef-Building Corals. *Applied and Environmental Microbiology*. 76(9), 2823–2829. <https://doi.org/10.1128/AEM.02984-09>.
- Rosic, N. N., Pernice, M., Rodriguez-Lanetty, M., & Hoegh-Guldberg, O. (2010). Validation of Housekeeping Genes for Gene Expression Studies in Symbiodinium Exposed to Thermal and Light Stress. *Marine Biotechnology*. 13(3), 355–365. <https://doi.org/10.1007/s10126-010-9308-9>.
- Rottier, C., Bianchini, A., & Grover, R. (2020). Unravelling the different causes of nitrate and ammonium effects on coral bleaching. *Scientific Reports*, 10(1), 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68916-0>.
- Rowan, R. (2004). Thermal adaptation in reef coral symbionts. *Nature*. 430(7001), 742. <https://doi.org/10.1038/430742a>.
- Russnak, V., Rodriguez-Lanetty, M., & Karsten, U. (2021). Photophysiological Tolerance and Thermal Plasticity of Genetically Different Symbiodiniaceae Endosymbiont Species of Cnidaria. *Frontiers in Marine Science*. 8, 657348. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.657348>.
- Saavedra-Sotelo, N. C., Calderon-Aguilera, L. E., Reyes-Bonilla, H., Paz-García, D. A., López-Pérez, R. A., Cupul-Magaña, A., Cruz-Barraza, J. A., & Rocha-Olivares, A. (2013). Testing the genetic predictions of a biogeographical model in a dominant endemic Eastern Pacific coral (*Porites panamensis*) using a genetic seascape approach. *Ecology and Evolution*. 3(12), 4070-4091. <https://doi.org/10.1002/ece3.734>.
- Saavedra-Sotelo, N. C., Calderon-Aguilera, L. E., Reyes-Bonilla, H., López-Pérez, R. A., Medina-Rosas, P., & Rocha-Olivares, A. (2011). Limited genetic connectivity of *Pavona gigantea* in the Mexican Pacific. *Coral Reefs*. 30(3), 677–686. <https://doi.org/10.1007/s00338-011-0742-6>.
- Sage, R. F., & Kubien, D. S. (2007). The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell & Environment*. 30(9), 1086-1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01682.x>.

- Saibo, N. J., Lourenço, T., & Oliveira, M. M. (2009). Transcription factors and regulation of photosynthetic and related metabolism under environmental stresses. *Annals of Botany*. 103(4), 609-623. <https://doi.org/10.1093/aob/mcn227>.
- Salas, B. H., Haslun, J. A., Strychar, K. B., Ostrom, P. H., & Cervino, J. M. (2017). Site-specific variation in gene expression from Symbiodinium spp. Associated with offshore and inshore Porites astreoides in the lower Florida Keys is lost with bleaching and disease stress. *PLOS ONE*. 12(3), e0173350. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173350>.
- Salomón-Aguilar, C. A., Villavicencio-Garayzar, C. J., & Reyes-Bonilla, H. (2009). Zonas y temporadas de reproducción y crianza de tiburones en el Golfo de California: Estrategia para su conservación y manejo pesquero. *Ciencias marinas*. 35(4), 369-388. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-38802009000400005&lng=es&tlng=es.
- Sanz-Luque, E., Chamizo-Ampudia, A., Llamas, A., Galvan, A., & Fernandez, E. (2015). Understanding nitrate assimilation and its regulation in microalgae. *Frontiers in Plant Science*. 6, 163887. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00899>.
- Saxby, T., Dennison, W. C., & Hoegh-Guldberg, O. (2003). Photosynthetic responses of the coral *Montipora digitata* to cold temperature stress. *Marine Ecology Progress Series*, 248, 85-97. <https://doi.org/10.3354/meps248085>.
- Schrammeyer, V., Krämer, W., Hill, R., Jeans, J., Larkum, A. W. D., Bischof, K., Campbell, D. A., & Ralph, P. J. (2016). Under high light stress two Indo-Pacific coral species display differential photodamage and photorepair dynamics. *Marine Biology*. 163(8). <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2940-9>.
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT), & Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas (CONANP). (2014). *Programa de Manejo Reserva de la Biosfera Zona Marina Bahía de Los Ángeles, Canales de Ballenas y de Salsipuedes*. https://www.bajacalifornia.gob.mx/Documentos/sest/desarrollo_sustentable/Programas_Proyectos/Manejo_areas_naturales_protegidas/BAHIA_LOS_ANGELES/Libro_Programa_Manejo_2014_RB.pdf.
- Shiina, T., Allison, L., & Maliga, P. (1998). RbcL Transcript Levels in Tobacco Plastids Are Independent of Light: Reduced Dark Transcription Rate Is Compensated by Increased mRNA Stability. *The Plant Cell*. 10(10), 1713-1722. <https://doi.org/10.1105/tpc.10.10.1713>.
- Singh, M., Boutanaev, A., Zucchi, P., & Bogorad, L. (2001). Gene elements that affect the longevity of rbcL sequence-containing transcripts in *Chlamydomonas reinhardtii* chloroplasts. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98(5), 2289-2294. <https://doi.org/10.1073/pnas.041609798>.
- Soler-Hurtado, M., López-González, P., & Machordom, A. (2017). Molecular phylogenetic relationships reveal contrasting evolutionary patterns in Gorgoniidae (Octocorallia) in the Eastern Pacific. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 111, 219-230. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.03.019>.
- Somero, G. N. (2010). The physiology of climate change: how potentials for acclimatization and genetic adaptation will determine “winners” and “losers.” *Journal of Experimental Biology*. 213(6), 912-920. <https://doi.org/10.1242/jeb.037473>.

- Soto-Mardones, L., Marinone, S. G., & Parés-Sierra, A. (1999). Time and spatial variability of sea surface temperature in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*. 25(1), 1-30. <https://doi.org/10.7773/cm.v25i1.658>.
- Spalding, M., Burke, L., Wood, S. A., Ashpole, J., Hutchison, J., & Zu Ermgassen, P. (2017). Mapping the global value and distribution of coral reef tourism. *Marine Policy*. 82, 104-113. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2017.05.014>.
- Sproles, A. (2017). *Nutritional Interactions in the Cnidarian-Dinoflagellate Symbiosis and their Role in Symbiosis Establishment*. [Tesis de doctorado de de la Universidad de Wellington]. <https://doi.org/10.26686/wgtn.20409396>.
- Sproles, A. E., Kirk, N. L., Kitchen, S. A., Oakley, C. A., Grossman, A. R., Weis, V. M., & Davy, S. K. (2018). Phylogenetic characterization of transporter proteins in the cnidarian-dinoflagellate symbiosis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 120, 307-320. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.12.007>.
- Sproles, A. E., Oakley, C. A., Krueger, T., Grossman, A. R., Weis, V. M., Meibom, A., & Davy, S. K. (2020). Sub-cellular imaging shows reduced photosynthetic carbon and increased nitrogen assimilation by the non-native endosymbiont *Durussinium trenchii* in the model cnidarian *Aiptasia*. *Environmental Microbiology*. 22(9), 3741-3753. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.15142>.
- Spurgeon, J. P. G. (1992). The economic valuation of coral reefs. *Marine Pollution Bulletin*. 24(11), 529-536. [https://doi.org/10.1016/0025-326X\(92\)90704-A](https://doi.org/10.1016/0025-326X(92)90704-A).
- Stat, M., Morris, E., & Gates, R. D. (2008). Functional diversity in coral-dinoflagellate symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 105(27), 9256-9261. <https://doi.org/10.1073/pnas.0801328105>.
- Stella, J.S.; Pratchett, M.S.; Hutchings, P.A.; Jones, G.P. (2011). Coral-associated invertebrates: Diversity, ecological importance and vulnerability to disturbance. *Oceanogr. Mar. Biol. Annu. Rev* 49, 43-116. [doi:10.1201/b11009-3](https://doi.org/10.1201/b11009-3).
- Stevenne, C. (2024). Corals on a nitrate diet: feeding or failing? Unlocking the secrets of nitrate assimilation by Symbiodiniaceae from reef-building corals and its role in holobiont response to thermal stress. [Tesis de doctorado de la Universidad de Liege]. <https://hdl.handle.net/2268/321661>.
- Stürzenbaum, S. R., & Kille, P. (2001). Control genes in quantitative molecular biological techniques: The variability of invariance. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*. 130(3), 281-289. [https://doi.org/10.1016/S1096-4959\(01\)00440-7](https://doi.org/10.1016/S1096-4959(01)00440-7).
- Sully, S., Burkepile, D. E., Donovan, M. K., Hodgson, G., & Van Woesik, R. (2019). A global analysis of coral bleaching over the past two decades. *Nature Communications*. 10(1), 1-5. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09238-2>.
- Supasri, K. M., Kumar, M., Mathew, M. J., Signal, B., Padula, M. P., Suggett, D. J., & Ralph, P. J. (2021). Evaluation of Filter, Paramagnetic, and STAGETips Aided Workflows for Proteome Profiling of Symbiodiniaceae Dinoflagellate. *Processes*. 9(6), 983. <https://doi.org/10.3390/pr9060983>.

- Takahashi, S., Whitney, S. M., & Badger, M. R. (2009). Different thermal sensitivity of the repair of photodamaged photosynthetic machinery in cultured Symbiodinium species. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 106(9), 3237-3242. <https://doi.org/10.1073/pnas.0808363106>.
- Tan, Y. T. R., Wainwright, B. J., Afiq-Rosli, L., Ip, Y. C. A., Lee, J. N., Nguyen, N. T. H., Pointing, S. B., & Huang, D. (2020). Endosymbiont diversity and community structure in *Porites lutea* from Southeast Asia are driven by a suite of environmental variables. *Symbiosis*. 80(3), 269–277. <https://doi.org/10.1007/s13199-020-00671-2>.
- Tansik, A. L., Fitt, W. K., & Hopkinson, B. M. (2017). Inorganic carbon is scarce for symbionts in scleractinian corals. *Limnology and Oceanography*. 62(5), 2045-2055. <https://doi.org/10.1002/lno.10550>.
- Thrall, P. H., Hochberg, M. E., Burdon, J. J., & Bever, J. D. (2007). Coevolution of symbiotic mutualists and parasites in a community context. *Trends in Ecology & Evolution*. 22(3), 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.tree.2006.11.007>.
- Tian, L., & Chen, J. (2024). Photosystem I: A Paradigm for Understanding Biological Environmental Adaptation Mechanisms in Cyanobacteria and Algae. *International Journal of Molecular Sciences*. 25(16), 8767. <https://doi.org/10.3390/ijms25168767>.
- Tong, H., Cai, L., Zhou, G., Yuan, T., Zhang, W., Tian, R., Huang, H., & Qian, P.-Y. (2017). Temperature shapes coral-algal symbiosis in the South China Sea. *Scientific Reports*. 7(1), 40118. <https://doi.org/10.1038/srep40118>.
- Trejo-Estrada, A. E., Galindo-Sánchez, C. E., Rodríguez-Troncoso, A. P., Cabral-Tena, R. A., Calderón-Aguilera, L. E., Durán-Riveroll, L.M., Juárez, O. E. (2025). Physiological acclimation of *Porites panamensis* (Scleractinia: Poritidae) at high-latitude marginal conditions. *Ciencias marinas*.
- Turnham, K. E., Wham, D. C., Sampayo, E., & Lajeunesse, T. C. (2021). Mutualistic microalgae co-diversify with reef corals that acquire symbionts during egg development. *The ISME Journal*, 15(11), 3271-3285. <https://doi.org/10.1038/s41396-021-01007-8>.
- Turnham, K. E., Aschaffenburg, M. D., Pettay, D. T., Paz-García, D. A., Reyes-Bonilla, H., Pinzón, J., Timmins, E., Smith, R. T., McGinley, M. P., Warner, M. E., & Lajeunesse, T. C. (2023). High physiological function for corals with thermally tolerant, host-adapted symbionts. *Proceedings of the Royal Society B*. 290(2003), 20231021. <https://doi.org/10.1098/rspb.2023.1021>.
- Valladolid-Garnica, D., Jara-Marini, M., Torres-Rojas, Y., & Soto-Jiménez, M. (2023). Distribution, bioaccumulation, and trace element transfer among trophic levels in the southeastern Gulf of California. *Marine Pollution Bulletin*. 194, 115290. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2023.115290>.
- Van Den Heuvel, A. (2012). The effects of exogenous nitrogen on the coral/dinoflagellate symbiosis: Effect of nitrogen on staghorn coral. [Tesis de doctorado de la Universidad de Queensland]. <https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:311374>.
- Van Hooidonk, R., Maynard, J. A., & Planes, S. (2013). Temporary refugia for coral reefs in a warming world. *Nature Climate Change*. 3(5), 508-511. <https://doi.org/10.1038/nclimate1829>.
- Van Oppen, M. J. H., & Lough, J. M. (2018). Synthesis: Coral Bleaching: Patterns, Processes, Causes and Consequences. *Coral Bleaching*. 343–348. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75393-5_14.

- Vandesompele, J., De Preter, K., Pattyn, F., Poppe, B., Van Roy, N., De Paepe, A., & Speleman, F. (2002). Accurate normalization of real-time quantitative RT-PCR data by geometric averaging of multiple internal control genes. *Genome Biol* 3. pp 1-12. Research 0034.1. <https://doi.org/10.1186/gb-2002-3-7-research0034>.
- Vasilikiotis, C., & Melis, A. (1994). Photosystem II reaction center damage and repair cycle: Chloroplast acclimation strategy to irradiance stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 91(15), 7222-7226. <https://doi.org/10.1073/pnas.91.15.7222>.
- Vázquez-Figueroa, V., Canet, C., Prol-Ledesma, R. M., Sánchez, A., Dando, P., Camprubí, A., Robinson, C. J., & Hiriart Le Bert, G. (2009). Batimetría y características hidrográficas (Mayo, 2007) en las Cuencas de Consag y Wagner, Norte del Golfo de California, México. *Boletín de la sociedad geológica mexicana*, 61(1), 119-127. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-33222009000100012&lng=es&tlng=es.
- Vereshchaka, A. L., Lunina, A. A., & Mikaelyan, A. S. (2022). Surface chlorophyll concentration as a mesoplankton biomass assessment tool in the Southern Ocean region. *Global Ecology and Biogeography*, 31(3), 405-424. <https://doi.org/10.1111/geb.13435>.
- Voolstra, C. R., Suggett, D. J., Peixoto, R. S., Parkinson, J. E., Quigley, K. M., Silveira, C. B., Sweet, M., Muller, E. M., Barshis, D. J., Bourne, D.G. & Aranda, M. (2021). Extending the natural adaptive capacity of coral holobionts. *Nature Reviews Earth & Environment*. 2(11), 747-762. <https://doi.org/10.1038/s43017-021-00214-3>.
- Walther-Mendoza, M., Reyes-Bonilla, H., LaJeunesse, T. C., & López-Pérez, A. (2016). Distribución y diversidad de dinoflagelados simbióticos en corales pétreos de la costa de Oaxaca, Pacífico de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 87(2), 417-426. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.03.007>.
- Wardhan, R., Mudgal, P., Wardhan, R., & Mudgal, P. (2017). Bioenergetics and Energy Transduction. *Textbook of Membrane Biology*. 223-292. <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-981-10-7101-0.pdf>.
- Warner, M. E., & Suggett, D. J. (2016). The photobiology of Symbiodinium spp.: linking physiological diversity to the implications of stress and resilience. *The Cnidaria, past, present and future: The world of Medusa and her sisters*. 489-509. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00656>.
- Warner, M. E., Fitt, W. K., & Schmidt, G. W. (1996). The effects of elevated temperature on the photosynthetic efficiency of zooxanthellae in hospite from four different species of reef coral: A novel approach. *Plant, Cell & Environment*. 19(3), 291-299. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.1996.tb00251.x>.
- Warner, M. E., Fitt, W. K., & Schmidt, G. W. (1999). Damage to photosystem II in symbiotic dinoflagellates: A determinant of coral bleaching. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96(14), 8007-8012. <https://doi.org/10.1073/pnas.96.14.8007>.
- Weber, M. X., & Medina, M. (2012). The Role of Microalgal Symbionts (Symbiodinium) in Holobiont Physiology. *Advances in Botanical Research*. 64, 119-140. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-391499-6.00004-9>.

- Weis, V. M. (2010). The susceptibility and resilience of corals to thermal stress: Adaptation, acclimatization or both?. *Molecular Ecology*. 19(8), 1515-1517. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04575.x>.
- Wham, D. C., Ning, G., & LaJeunesse, T. C. (2017). *Symbiodinium glynnii* sp. nov., a species of stress-tolerant symbiotic dinoflagellates from pocilloporid and montiporid corals in the Pacific Ocean. *Phycologia*. 56(4), 396-409. <https://doi.org/10.2216/16-86.1>.
- Wiedenmann, J., D'Angelo, C., Smith, E. G., Hunt, A. N., Legiret, F.-E., Postle, A. D., & Achterberg, E. P. (2012). Nutrient enrichment can increase the susceptibility of reef corals to bleaching. *Nature Climate Change*. 3(2), 160–164. <http://www.nature.com/doi/10.1038/nclimate1661>.
- Wooldridge, S. A. (2009). A new conceptual model for the warm-water breakdown of the coral–algae endosymbiosis. *Marine and Freshwater Research*. 60(6), 483-496. <https://doi.org/10.1071/MF08251>.
- Wooldridge, S. A. (2010). Is the coral-algae symbiosis really ‘mutually beneficial’ for the partners? *BioEssays*. 32(7), 615-625. <https://doi.org/10.1002/bies.200900182>.
- Wooldridge, S. A. (2013). Breakdown of the coral-algae symbiosis: towards formalising a linkage between warm-water bleaching thresholds and the growth rate of the intracellular zooxanthellae. *Biogeosciences*. 10(3), 1647–1658. <https://doi.org/10.5194/bg-10-1647-2013>.
- Yang, W., Gao, S., Bao, M., Li, X., Liu, Z., & Wang, G. (2024). HSP70A promotes the photosynthetic activity of marine diatom *Phaeodactylum tricornutum* under high temperature. *The Plant Journal*. 118(6), 2085-2093. <https://doi.org/10.1111/tpj.1673>.
- Yellowlees, D., Rees, T. A. V., & Leggat, W. (2008). Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant, cell & environment*. 31(5), 679-694. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x>.
- Yordanov, I., & Velikova, V. (2000). Photoinhibition of photosystem 1. *Bulg. J. Plant Physiol*. 26(1-2), 70-92. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/88145285/00_1-2_70-92-libre.pdf?1656649108=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DPhotoinhibition_of_Photosystem_1.pdf&Expires=1731987653&Signature=aIU5dXXkr3cjRI2IBNyn6M7~x4uxS5z3iikbfapEGOa1zu7uK8nfGclSqkZ6Tu5p69i5QQSi5kmlcTaus3r6Z1k~uvmrUFUq0bRNIPFSWMy5YF1ShsFfqhOuVmdQlkV~ftbjL1jHlhQPW387f3JQPKmOAzgzEuHwA7B7yxM5TrkPeZLoikrLIBTUuJt8h099xvPLptaNue9fC8gN~xWHV~WeUFWOGkBDnQpshVv~plWk~COoMWjKz61EwSYFMRoISXurIMueOvS-otx8Md1UzNMQepaDhVzNF4X2xDg2X9gJFPHNk4szftbl4Zn96RRyx~jE5EK9gIrYGKz1O9p3Q_&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA.
- Young, J. W. (2016). *Surface and Deepwater Dissolved Inorganic Carbon and pH in the Northern Gulf of Mexico*. [Tesis de doctorado de la Universidad A&M de Texas]. <https://oaktrust.library.tamu.edu/server/api/core/bitstreams/ce936dba-4508-42ac-8480-ff35398c3096/content>.
- Yuyama, I., Higuchi, T., Mezaki, T., Tashiro, H., & Ikeo, K. (2022). Metatranscriptomic Analysis of Corals Inoculated With Tolerant and Non-Tolerant Symbiont Exposed to High Temperature and Light Stress. *Frontiers in Physiology*. 13, 806171. <https://doi.org/10.3389/fphys.2022.806171>.

Zoccola, D., Ganot, P., Bertucci, A., Caminiti-Segonds, N., Techer, N., Voolstra, C. R., Aranda, M., Tambutté, E., Allemand, D., Casey, J. R., & Tambutté, S. (2015). Bicarbonate transporters in corals point towards a key step in the evolution of cnidarian calcification. *Scientific Reports*. 5(1), 1-11. <https://doi.org/10.1038/srep09983>.

Anexos

Tabla 3. Concentraciones y volúmenes para preparar el Master mix Evagreen 2x.

| Componente | 1 master mix | [Final] |
|-------------------------------------------|-------------------------------|-----------------|
| Go Taq Flexi Buffer Colorless (5x) | 400 μ l | 2x |
| MgCl ₂ (25 mM) | 200 μ l | 5 mM |
| dNTP (10 mM) | 40 μ l | 0.4 mM |
| Go Taq Flexi DNA polimerasa (5u/ μ l) | 12 μ l | 0.06 u/ μ l |
| Evagreen (20x) | 100 μ l | 2x |
| H ₂ O libre de nucleasas | 248 μ l | - |
| Volumen total | 1000 μl | |

Tabla 4. Análisis *in silico* de estructuras secundarias para cada cebador.

| Gen | Cebador | Nº de hairpins | ΔH máxima de hairpins (kcal/mol) | Número de dímeros | ΔG máxima de dímeros (kcal/mol) | Número de heterodímeros | ΔG máxima de heterodímeros (kcal/mol) |
|-------------|------------------------------------------|----------------|------------------------------------------|-------------------|-----------------------------------------|-------------------------|-----------------------------------------------|
| Cyc | Fw: ATGTGCC AGGGTG GAGACT T | 2 | -21.2 | 11 | -38.62 | 16 | -38.62 |
| | Rv: CCTGTGT GCTTCAG GGTGAA | 1 | -34.3 | 6 | -37.98 | | |
| SAM | Fw: GCCTACA TTTGCCG ACAGAT G | 1 | -33.6 | 10 | -40.67 | 17 | -40.67 |
| | Rv: AATGGC TTGGCA ACACCA AT | 1 | -29.1 | 12 | -40.26 | | |
| Tub | Fw: CGCGCTT TTCAAGC TTTCCT | 2 | -31.8 | 11 | -42.87 | 12 | -42.87 |
| | Rv: CGGCAT CTGACCA TCAGGTT | 3 | -15.2 | 11 | -39.27 | | |
| rbcl | Fw: CAGTGA ACGTGG AGGACA TGT | 1 | -25.1 | 10 | -37.57 | 15 | -40.37 |
| | Rv: AGTAGC | 1 | -21.5 | 1 | -40.37 | | |

| | | | | | | | |
|--------------|--------------------------------------------------------------------------------------|---|-------|----|--------|----|--------|
| <i>psbA</i> | ACGCCTC ACCGAA A Fw: TGCAGA AACTGC AGGAGA TATTAGC C | 5 | -35.1 | 16 | -48.14 | 19 | -48.14 |
| | Rv: TACTCCA AGGGCA GTGAAC C | 9 | -23 | 12 | -38.1 | | |
| | Fw: AAGAAT TGGGAA CAGCAG AT Rv: TCACAG GGATAA GTAAAA CCAA | 2 | -15.9 | 8 | -36.73 | | |
| <i>psaA</i> | ATGATAC CAATCCC AC Rv: CAAACA CAGTCC GCCAG | 2 | -25.6 | 12 | -38.35 | 12 | -38.56 |
| | Fw: GTCCATG GGAATC GTGACT Rv: AAGGCA GCGAAC ACCAA | 2 | -3.6 | 12 | -33.39 | | |
| <i>NRT2</i> | GTCCATG GGAATC GTGACT Rv: AAGGCA GCGAAC ACCAA | 4 | -25.3 | 10 | -35.5 | 17 | -38.35 |
| | AAGGCA GCGAAC ACCAA | 1 | -20.4 | 5 | -35.18 | 12 | -35.5 |
| <i>AMT 2</i> | | | | | | | |

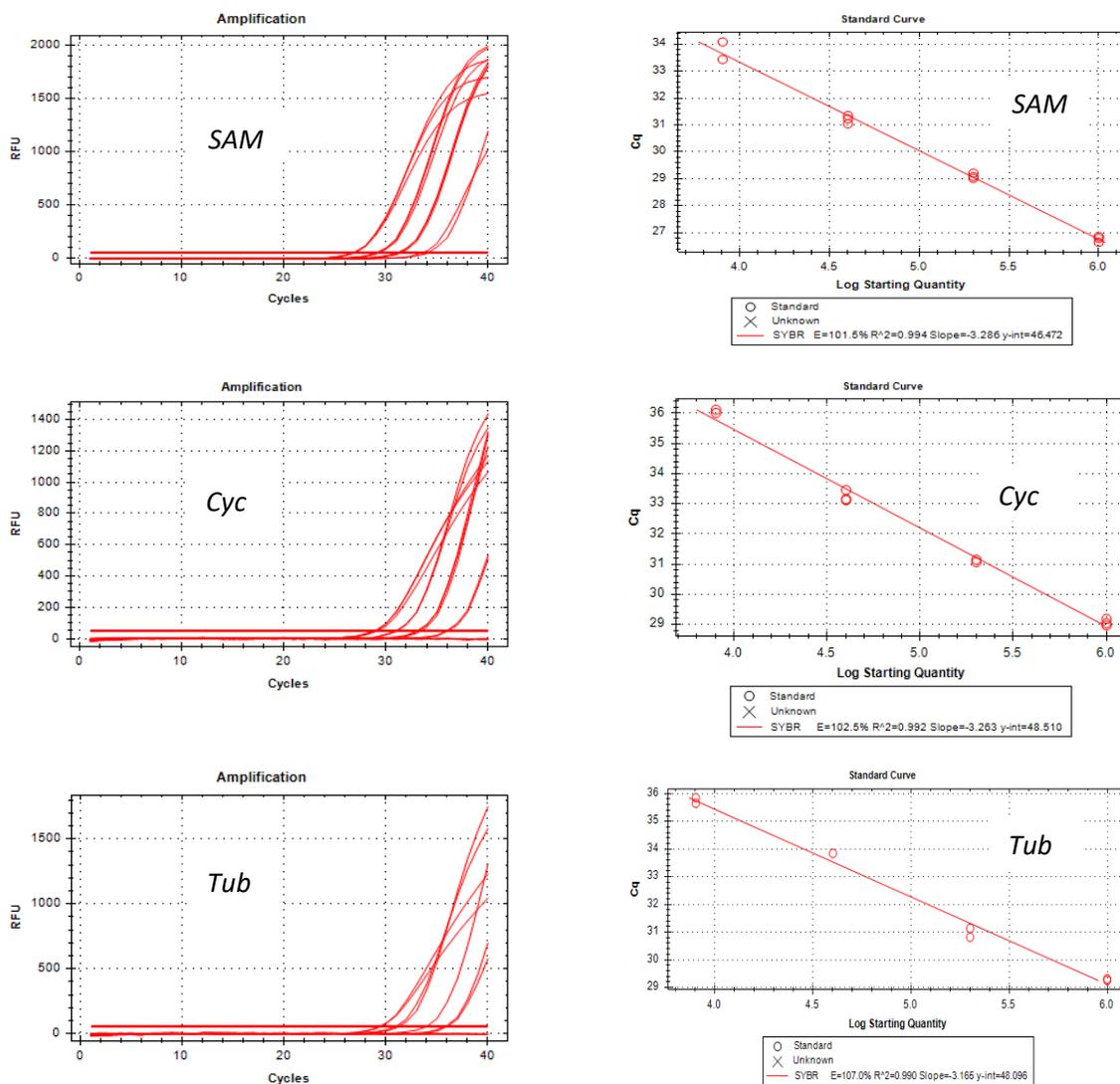


Figura 18. Curvas estándar y análisis de regresión lineal de genes de referencia. Del lado izquierdo se observan las curvas de amplificación de las diluciones seriadas de cada gen. En el lado derecho se encuentra el análisis de regresión lineal de cada curva estándar realizada para cada gen respectivamente.

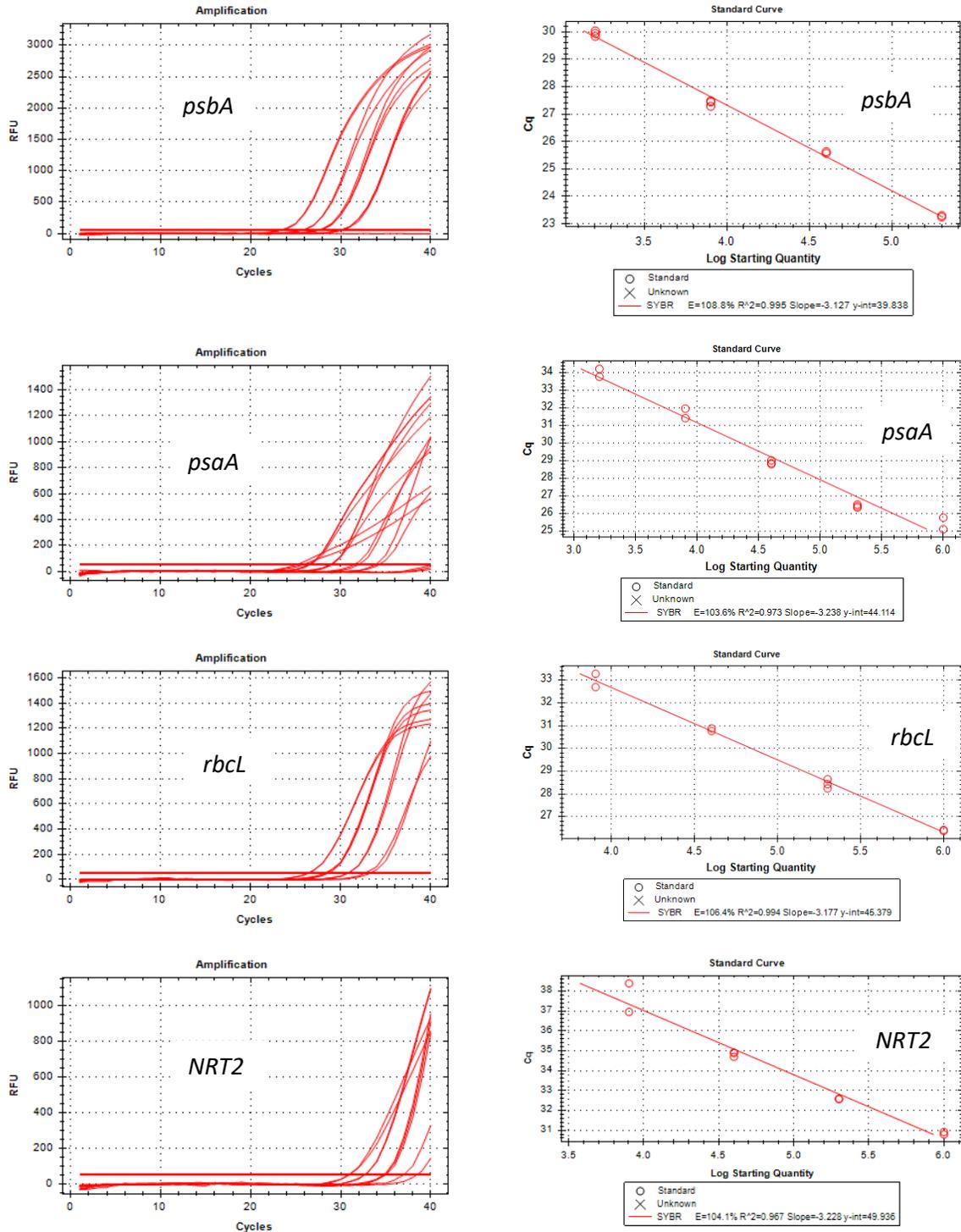


Figura 19. Curvas estándar y análisis de regresión lineal de genes blanco. Del lado izquierdo se observan las curvas de amplificación de las diluciones seriadas de cada gen. En el lado derecho se encuentra el análisis de regresión lineal de cada curva estándar realizada para cada gen respectivamente.

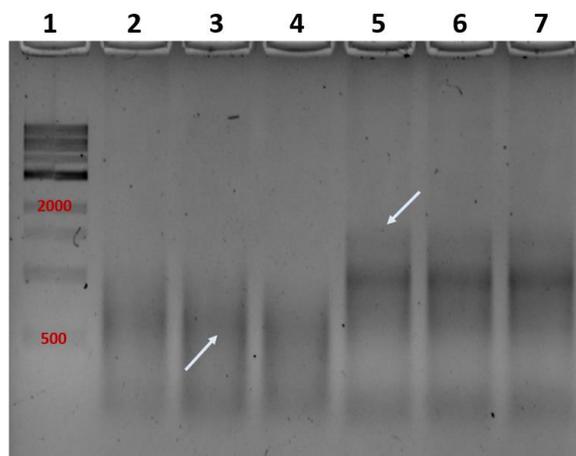


Figura 20. Electroforesis en gel de agarosa para la visualización de ARN total extraído del holobionte de muestras de El Rincón. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad de 1 Kb. Los carriles 2-4 muestran los ARN extraídos de *P. panamensis* de la temporada fría del 2022, mientras que los carriles 5-7 corresponden a las muestras de la temporada cálida del 2023. La flechas azules señalan las bandas de ARN de alto y bajo peso molecular del holobionte. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min.

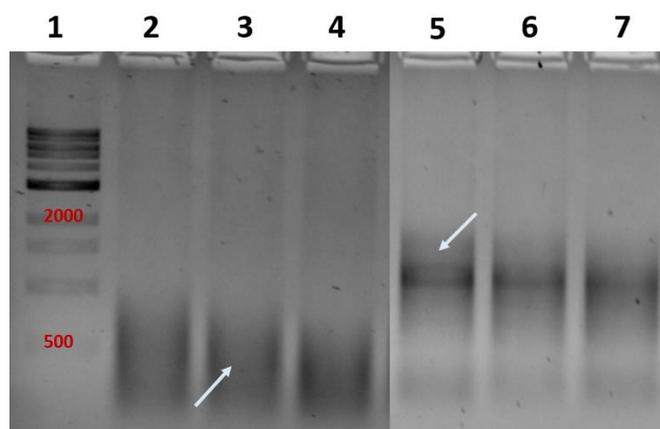


Figura 21. Electroforesis en gel de agarosa para la visualización de ARN total extraído del holobionte de muestras de La Llave. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad de 1 Kb. Los carriles 2-4 muestran los ARN extraídos de *P. panamensis* de la temporada fría del 2022, mientras que los carriles 5-7 corresponden a las muestras de la temporada cálida del 2023. La flechas azules señalan las bandas de ARN de alto y bajo peso molecular del holobionte. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min.

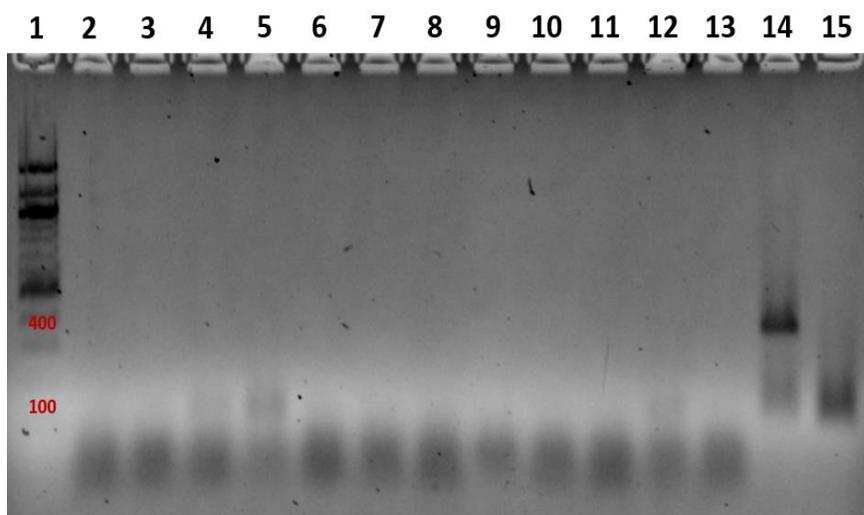


Figura 22. Electroforesis en gel de agarosa para verificar el tratamiento con DNAsa del ARN total del holobionte. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad 100 pb. Los carriles 2-13 corresponden a un conjunto representativo de las muestras tratadas con DNAsa. En el carril 14 se muestra el control positivo con amplificación del ITS (~420 pb) y el control negativo (NTC) en el carril 15. La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min.

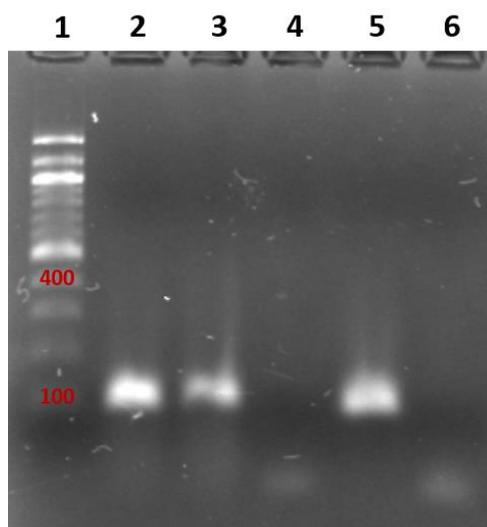


Figura 23. Electroforesis en gel de agarosa para confirmación de síntesis de ADNc. El carril 1 corresponde al marcador molecular QuickLoad 100 pb. En los carriles 2-3 se muestran los amplicones del gen *SAM* (~101 pb) amplificados a partir del ADNc de las muestras. En el carril 4 se muestra el control negativo de la reacción de síntesis de ADNc. El carril 5 es el control positivo. El carril 6 es el control negativo de la reacción de PCR (NTC). La electroforesis se realizó a 80 V durante 30 min.