



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias Químico-Biológicas

**ESTUDIO PROTEÓMICO DEL EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO
RESPONSABLE DEL BLANQUEAMIENTO DE ARRECIFES
CORALINOS SOBRE LOS PROCESOS CELULARES DE
SUPERVIVENCIA DEL HOLOBIONTE *Millepora complanata*.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor en Ciencias Químico Biológicas

Presenta:

M. en C. Esteban de Jesús Alcantar Orozco

Dirigido por:

Dra. Alejandra Rojas Molina

Co-director:

Dr. Juan Caballero Pérez

Querétaro, Qro
Septiembre 2025
México

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Química
Doctorado en Ciencias Químico-Biológicas

**ESTUDIO PROTEÓMICO DEL EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO
RESPONSABLE DEL BLANQUEAMIENTO DE ARRECIFES
CORALINOS SOBRE LOS PROCESOS CELULARES DE
SUPERVIVENCIA DEL HOLOBIONTE *Millepora complanata*.**

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Doctor en Ciencias Químico Biológicas

Presenta:

M. en C. Esteban de Jesús Alcantar Orozco

SINODALES

Dra. ALEJANDRA ROJAS MOLINA

Presidente

Dr. JUAN CABALLERO PEREZ

Secretario

Dr. RAMON GUEVARA GONZÁLEZ

Vocal

Dr. CÉSAR IBARRA ALVARADO

Suplente

Dra. JUANA ISELA ROJAS MOLINA

Suplente

Centro Universitario, Querétaro, Qro.

Septiembre 2025

México

Índice

Índice de Figuras.....	v
Índice de Tablas.....	vi
DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE	vii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. ANTECEDENTES	7
2.1 Filo Cnidaria	7
2.1.1 Generalidades del filo Cnidaria	7
2.2 Cnidarios y su papel en la construcción de arrecifes de coral	10
2.3 Cnidarios formadores de arrecifes como holobiontes	10
2.3.1 Microbiota asociada a cnidarios formadores de arrecifes	11
2.3.2 Simbiosis establecida entre cnidarios formadores de arrecifes y Symbiodiniaceae	12
2.4 Cnidarios del género <i>Millepora</i>	15
2.5 Blanqueamiento de arrecifes coralinos	17
2.5.1 Calentamiento global y estrés térmico	17
2.5.2 Expulsión de los endosimbiontes.....	18
2.5.3 Mecanismos para la pérdida de endosimbiontes	19
2.6 Estrés oxidativo generado por el aumento en la temperatura del agua y de la radiación ultravioleta.....	21
2.7 Estudios ómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos	22
2.7.1 Estudios transcriptómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos ...	23
2.7.2 Estudios proteómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos	26
3. JUSTIFICACIÓN	30
4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	33
5. HIPÓTESIS	34
6. OBJETIVOS	35
6.1 Objetivo General	35
6.2 Objetivos específicos	35
7. MATERIALES Y MÉTODOS	36
7.1 Material de estudio.....	36

7.2 Equipos	36
7.3 Métodos	36
7.3.1 Obtención de especímenes del holobionte <i>M. complanata</i>	36
7.3.2 Extracción del proteoma total de los especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte <i>M. complanata</i>	36
7.3.3 Análisis de los proteomas obtenidos a partir de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte <i>M. complanata</i> mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas.....	37
8. Resultados y Discusiones	41
8.1 Recolecta de especímenes.....	41
8.2 Electroforesis unidimensional de los proteomas obtenidos de especímenes no blanqueados y blanqueados de <i>M. complanata</i>	41
8.3 Análisis de los proteomas obtenidos de muestras blanqueadas y no blanqueadas del holobionte de <i>M. complanata</i> mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.	42
8.4 Análisis estadístico multivariado y análisis de expresión diferencial	43
8.4.1. Análisis univariado	43
8.4.2. Análisis multivariados	44
8.4.3. Análisis de redes.....	48
8.5 Anotación funcional de las proteínas y ontología de genes	52
8.6 Proteínas diferenciales encontradas comparando los proteomas de especímenes no blanqueados y blanqueados de <i>M. complanata</i>	58
Componentes de citoesqueleto	62
Matriz extracelular	66
Respuesta de choque térmico	68
Homeostasis redox	71
Señalización	76
Transcripción	78
Transporte	80
Metabolismo de carbohidratos.....	82
Limitantes	85
9. Conclusiones.....	86
11. REFERENCIAS.....	88

Índice de Figuras

Figura 1. Cnidocito y nematocisto.	7
Figura 2. Morfología de los cnidarios.	8
Figura 3. Localización de las zooxantelas en los cnidarios	13
Figura 4. Ejemplos de organismos del género <i>Millepora</i>	16
Figura 5. Distribución mundial de las especies del género <i>Millepora</i>	16
Figura 6. Proceso del blanqueamiento de un coral.	19
Figura 7. Mecanismos de pérdida de simbiontes	19
Figura 8. Proceso del blanqueamiento de un hidrocoral y mecanismos implicados.	22
Figura 9. Análisis SDS-PAGE (18% poliacrilamida) de proteomas de <i>M.</i> <i>complanata</i>	42
Figura 10. Distribución del peso molecular de las 102 proteínas identificadas en los proteomas de especímenes de <i>M. complanata</i> blanqueados y no blanqueados.....	43
Figura 11. Gráfico de puntuaciones de un modelo PCA de dos componentes que muestra ambos grupos de muestras.	45
Figura 12. Gráfico de puntuaciones de un modelo PLS-DA de tres variables latentes.....	46
Figura 13. Gráfico de puntuaciones VIP para el modelo final de clasificación en el análisis PLS-DA.	48
Figura 14. Análisis de correlación por pares de la expresión proteica final seleccionada..	49
Figura 15. Análisis de redes de datos proteómicos.....	52
Figura 16. Histograma de la distribución del mapeo de GO.....	53
Figura 17. Distribución de similitud de secuencias.....	53
Figura 18. Clasificación jerárquica de GO para Proceso Biológico.	55
Figura 19. Clasificación jerárquica de GO para Función Molecular.....	57
Figura 20. Clasificación jerárquica de GO para Componente Celular.	57
Figura 21. Procesos celulares afectados por la abundancia diferencial de proteínas en especímenes de <i>M. complanata</i> blanqueados por estrés térmico....	84

Índice de Tablas

Tabla 1. Estudios proteómicos publicados de blanqueamiento y respuesta a estrés térmico en cnidarios.....	27
Tabla 2. Propiedades estructurales que caracterizan la red de proteínas mostrada en la Figura 15.	52
Tabla 3. Proteínas diferencialmente abundantes en especímenes de <i>M. complanata</i> blanqueados por estrés térmico.....	58

DECLARACIÓN DE RESPONSABILIDAD DE ESTUDIANTE

Declaro que los datos propios obtenidos en esta investigación fueron generados durante el desarrollo de mi trabajo de tesis de forma ética y que reporto detalles necesarios para que los resultados de esta tesis sean reproducibles en eventuales investigaciones futuras. Finalmente, este manuscrito de tesis es un trabajo original en el cual se declaró y dio reconocimiento a cualquier colaboración o cita textual presentadas en el documento.

RESUMEN

Los arrecifes de coral están formados por corales escleractinios e hidrocorales que establecen una simbiosis con algas fotosintéticas de la familia Symbiodiniaceae. Esta relación es esencial para el desarrollo arrecifal, pero factores de estrés ambiental, como la radiación ultravioleta y el aumento de temperatura, pueden causar blanqueamiento, disrupción de la simbiosis que amenaza la supervivencia de los arrecifes. Los hidrocorales del género *Millepora*, conocidos como “corales de fuego”, son los segundos cnidarios formadores de arrecifes más abundantes. A pesar de su relevancia ecológica y toxicológica, han recibido menos atención científica que otras especies de cnidarios. Existe poca información sobre los efectos del estrés térmico en sus procesos celulares. En el presente estudio se analizó el impacto del estrés térmico en el proteoma de *Millepora complanata* tras el evento denominado “El Niño-Oscilación del Sur 2015-2016” en el Caribe mexicano, empleando nano-LC-MS/MS (datos disponibles en ProteomeXchange, PXD061020). Para detectar diferencias significativas en la abundancia de proteínas entre especímenes blanqueados y no blanqueados se usaron las metodologías de Análisis de Componentes Principales y Análisis Discriminante de Mínimos Cuadrados Parciales. Se identificó la expresión diferencial de 52 proteínas involucradas en biosíntesis de aminoácidos, metabolismo de carbohidratos, organización del citoesqueleto, reparación del ADN, composición de la matriz extracelular, homeostasis óxido-reductivas y modificación de proteínas. De estas, 24 mostraron mayor abundancia y 28 menor en hidrocorales blanqueados. Nuestros resultados indican que *M. complanata* experimenta modificaciones proteómicas para enfrentar el estrés térmico y la pérdida de endosimbiontes. Estas respuestas incluyen el plegamiento de proteínas, incremento del transporte vesicular, reorganización del citoesqueleto y ajustes en la actividad redox. Los cambios en la expresión proteica indican que algunos de los procesos celulares que se modifican en los hidrocorales que han sido sometidos a estrés térmico incluyen: el plegamiento de proteínas dañadas por especies reactivas de oxígeno (ROS); un mayor transporte intracelular de vesículas; la reorganización del citoesqueleto para la expulsión de simbiontes y la actividad de proteínas redox para contrarrestar las ROS. Estas modificaciones a nivel proteómico. Estas alteraciones en la expresión proteica proporcionan información clave sobre la respuesta molecular de los hidrocorales al estrés ambiental y sus estrategias de adaptación al calentamiento global.

ABSTRACT

Coral reefs are formed by scleractinian corals and hydrocorals that establish a symbiotic relationship with photosynthetic algae from the *Symbiodiniaceae* family. This relationship is essential for reef development, but environmental stress factors, such as ultraviolet radiation and rising temperatures, can cause bleaching, a disruption of the symbiosis that threatens reef survival. Hydrocorals of the genus *Millepora*, commonly known as “fire corals,” are the second most abundant reef-forming cnidarians. Despite their ecological and toxicological significance, they have received less scientific attention than other cnidarians. Limited information is available regarding the effects of thermal stress on their cellular processes. This study analyzed the impact of thermal stress on the proteome of *Millepora complanata* following the 2015-2016 El Niño-Southern Oscillation event in the Mexican Caribbean, using nano-LC-MS/MS (data available in ProteomeXchange, PXD061020). Principal Component Analysis and Partial Least Squares Discriminant Analysis were used to detect significant differences in protein abundance between bleached and non-bleached specimens. A total of 52 differentially expressed proteins were identified, which were involved in amino acid biosynthesis, carbohydrate metabolism, cytoskeleton organization, DNA repair, extracellular matrix composition, redox homeostasis, and protein modification. Of these, 24 showed increased abundance, while 28 were less abundant in bleached hydrocorals. Our results indicate that *M. complanata* undergoes proteomic changes to cope with thermal stress and the loss of endosymbionts. These include protein refolding, increased vesicle transport, cytoskeletal reorganization, and adjustments in redox activity. Changes in protein expression indicate that some of the cellular processes altered in thermally stressed hydrocorals include: the folding of proteins damaged by reactive oxygen species (ROS); increased intracellular vesicle transport; reorganization of the cytoskeleton for symbiont expulsion; and the activity of redox proteins to counteract ROS. These proteomic modifications provide key insights into the molecular response of hydrocorals to environmental stress and their adaptation strategies to global warming.

1. INTRODUCCIÓN

El filo Cnidaria se compone de aproximadamente 10,000 especies que se distribuyen en las aguas dulces y saladas de nuestro planeta; dentro de dicho filo se encuentran los organismos más venenosos conocidos hasta la fecha. Esta característica ha llamado la atención de los investigadores que buscan nuevas moléculas y entidades químicas para el desarrollo de fármacos y medicamentos innovadores (Chang et al., 2015; E. Park et al., 2012). A pesar de que los cnidarios son reconocidos por sus toxinas, existe un grupo de organismos pertenecientes a este filo que son sumamente importantes para la homeostasis de la vida marina, los corales e hidrocorales.

Los corales e hidrocorales poseen una morfología de pólipo y se encargan de la construcción de las estructuras naturales conocidas como “arrecifes de coral”; su capacidad de generar un exoesqueleto de carbonato de calcio es la característica que les permite llevar a cabo esta tarea. Los arrecifes de coral son ecosistemas sumamente importantes para la vida en nuestro planeta, ya que albergan una cuarta parte de la vida marina, ofrecen protección litoral y, además promueven actividades económicas como la pesca y el turismo, ayudando al sustento de 10 millones de personas que viven en las costas. Los bienes y servicios generados por estos ecosistemas están evaluados en 20 trillones de dólares anuales (McLeod et al., 2019; Okamura et al., 2017; Olguín-López et al., 2019).

En el campo de la biología, los corales e hidrocorales se clasifican como organismos holobiontes. Un holobionte es un sistema integrado por dos o más organismos que viven en simbiosis. En el caso de estos cnidarios, un holobionte está integrado por el cnidario, su microbiota asociada y sus algas endosimbiontes. Los corales e hidrocorales, son capaces de establecer simbiosis con algas marinas fotosintéticas de la familia Symbiodiniaceae, que son comúnmente conocidas como zooxantelas. Las zooxantelas se alojan en la capa gastrodérmica, donde proveen a su hospedante de productos fotosintéticos. Las algas aportan aproximadamente el 90 % de los requerimientos nutricionales, y a cambio, el hospedante les provee productos de desecho como fósforo y nitrógeno inorgánico, así como también

protección ante el medio (Barott et al., 2015; Fransolet et al., 2012; Glasl et al., 2016; Rosado et al., 2019).

La simbiosis es la clave del éxito de estos ecosistemas tan importantes para la vida marina. Sin embargo, algo que caracteriza a esta simbiosis es su alta susceptibilidad ante factores estresores externos. Algunos de los factores más comunes que afectan esta simbiosis son el estrés térmico y el aumento en la radiación ultravioleta; dichos estresores han aumentado en las últimas décadas debido al cambio climático derivado del calentamiento global. Cuando el alga endosimbionte es afectada por estos factores, se genera un estrés oxidativo que daña al propio simbionte y a su anfitrión. En esta condición, ocurre la translocación de especies reactivas de oxígeno (EROs) al anfitrión; consecuentemente, el cnidario expulsa las algas de su interior, deshaciéndose de su principal fuente de alimento (Ishii et al., 2019; Mansfield & Gilmore, 2019; Weis, 2008a).

Las zooxantelas también son responsables de conferir la coloración característica a estos organismos; si éstas son expulsadas, los pólipos traslucidos dejan expuesto el exoesqueleto calcáreo, generando así el fenómeno visual del blanqueamiento. El “blanqueamiento de arrecifes coralinos” conduce a los corales e hidrocorales a un estado de alta vulnerabilidad; sin embargo, para la mayoría de estos organismos no es posible adaptarse al medio y son conducidos a una muerte inminente. El blanqueamiento ha contribuido a la pérdida del 40 % de la gran barrera de coral en Australia, y aproximadamente un 20 % del arrecife mesoamericano; esto ha provocado que el 75 % de las especies constructoras de arrecifes se encuentren amenazadas (HRHP, 2018; WWF, 2020). Considerando el alto impacto negativo del blanqueamiento, los investigadores han realizado numerosos estudios empleando distintos enfoques ómicos. Estos estudios han mejorado la comprensión de la etiología y las consecuencias de esta condición que afecta a los cnidarios y han brindado alternativas de solución para mitigar dicho fenómeno.

Existen numerosos estudios que han empleado enfoques transcriptómicos para el análisis de cnidarios constructores de arrecifes de la clase Anthozoa, también conocidos como escleractinios. En estos estudios se han identificado transcritos que se expresan de manera diferencial en condiciones de blanqueamiento; algunos de

éstos, están implicados en procesos celulares como muerte y crecimiento celular, transporte, homeostasis de calcio, entre otros. Los estudios proteómicos también han aportado información valiosa sobre proteínas expresadas diferencialmente en condiciones de blanqueamiento; sin embargo, los estudios con este enfoque son escasos en comparación con los análisis transcriptómicos. La escasez de estos estudios se debe principalmente a la dificultad que implica la obtención de muestras del proteoma de los cnidarios que poseen exoesqueleto calcáreo (Cheng et al., 2018; Moya et al., 2012; Richier et al., 2008).

Los hidrocorales del género *Millepora* son los segundos organismos más importantes en la construcción de arrecifes coralinos, después de los corales escleractinios. A la fecha se conocen 13 especies de este género, entre las cuales se encuentra *Millepora complanata*. En 2019, nuestro grupo de estudio realizó un estudio proteómico de los efectos del estrés térmico responsable del blanqueamiento en el proteoma soluble de *M. complanata*. En dicho estudio se observó la expresión diferencial de 35 proteínas, de las cuales se lograron identificar 15 por medio de alineamiento de secuencias a bases de datos. Entre estas proteínas se encontraron 2 de metabolismo primario, 1 de citoesqueleto, 1 de señalización, 2 de reparación de ADN, 1 de respuesta al estrés, 1 de homeóstasis redox, 1 de exocitosis, 1 de homeostasis de calcio y 5 toxinas (Hernández-Elizárraga et al., 2019). Nuestro grupo de investigación también logró estandarizar la técnica para la obtención del proteoma total de *M. complanata*, el cual fue analizado, mediante electroforesis bidimensional. A partir de dicho análisis se obtuvieron 48 spots. Adicionalmente, el proteoma total obtenido de este hidrocoral fue analizado mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas. De manera preliminar, se lograron identificar 25 secuencias proteicas que pertenecían a la fracción soluble y a la fracción insoluble del proteoma total de *M. complanata* (Alcantar-Orozco, 2020).

A pesar de los estudios realizados sobre el blanqueamiento en corales escleractinios y en hidrozooos (p. e. Takama et al., 2018), a la fecha no se ha realizado ningún estudio sobre el proteoma total de los hidrocorales y sobre el efecto del estrés térmico responsable del blanqueamiento sobre dicho proteoma. En este

contexto, se plantea el presente proyecto de investigación que tiene como objetivo general determinar el efecto del estrés térmico responsable del blanqueamiento sobre el proteoma total del “coral de fuego” *M. complanata*.

2. ANTECEDENTES

2.1 Filo Cnidaria

Cnidaria es un filo ampliamente distribuido en nuestro planeta, se compone de aproximadamente 10,000 especies acuáticas que habitan en aguas dulces y oceánicas. Este filo está integrado por organismos como medusas, anémonas, hidras, corales, hidrocorales, entre otros. Los cnidarios son conocidos por su capacidad de sintetizar y liberar toxinas; además, dentro de este filo también se encuentran los organismos más venenosos conocidos hasta el momento. Dichos organismos habitan en ecosistemas marinos, lo cual ha provocado que sean poco estudiados, debido a la dificultad que representa su recolecta y las cantidades pequeñas de biomoléculas que puede ser obtenidas a partir de ellos (Fernández Alamo & Rivas Lechuga, 2007; E. Park et al., 2012; Santhanam, 2020).

2.1.1 Generalidades del filo Cnidaria

Los cnidarios se agrupan principalmente en 3 subfilos: Anthozoa, integrado por organismos de morfología de pólipo sésil, tales como corales, anémonas y plumas de mar; Medusozoa, integrado en su mayoría por organismos de morfología de nado libre como medusas, hidras e hidrocorales; y Endocnidozoa, integrado por pólipos endoparásitarios (Chang et al., 2015; E. Park et al., 2012).

Una característica destacable de los cnidarios es la presencia de células y organelos especializados en la síntesis y liberación de toxinas, conocidos como cnidocitos y nematocistos, respectivamente. Dichos organelos están constituidos por una cápsula de naturaleza proteica que cuenta con una estructura mecanorreceptora externa conocida como cnidocilio (Özbek, 2011). El cnidocilio permite la apertura de un pequeño opérculo al recibir un estímulo del medio, provocando así que la flecha y el filamento contenidos en el interior de la cápsula se transloquen al exterior y se libere su contenido, el cual puede ser tóxico, urticante o pegajoso, dependiendo de la función y ubicación del nematocisto. Una vez que el cnidocito cumple su función, es reabsorbido y crece una célula nueva para reemplazarlo (Figura 1) (Jaimes-Becerra et al., 2019; Özbek, 2011; Weir et al., 2020).

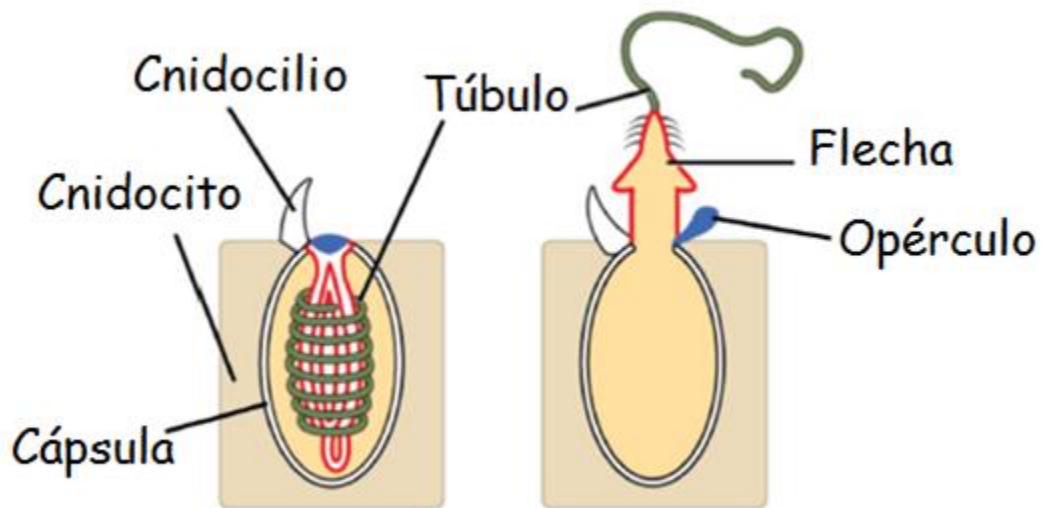


Figura 1. Cnidocito y nematocisto (Özbek, 2011).

Los cnidarios son organismos diblásticos, es decir, cuentan con una capa endodérmica (gastrodermis) y una capa ectodérmica (epidermis); entre ambas capas dérmicas se encuentra la mesoglea, que está compuesta principalmente por colágeno, que le confiere al cnidario una consistencia de tipo “gelatinosa”. La mesoglea puede consistir en una capa fina, en el caso de los pólipos o la principal porción del cuerpo, en el caso de las medusas. Los cnidarios poseen simetría radial o birradial, al centro se encuentra un orificio que cumple las funciones de boca y ano; mediante éste, se liberan también los gametos sexuales. Los tentáculos se sitúan alrededor de la boca, y en éstos se concentra la mayor cantidad de cnidocitos (Figura 2) (Ball et al., 2004; Cunha et al., 2020; Stabili et al., 2018).

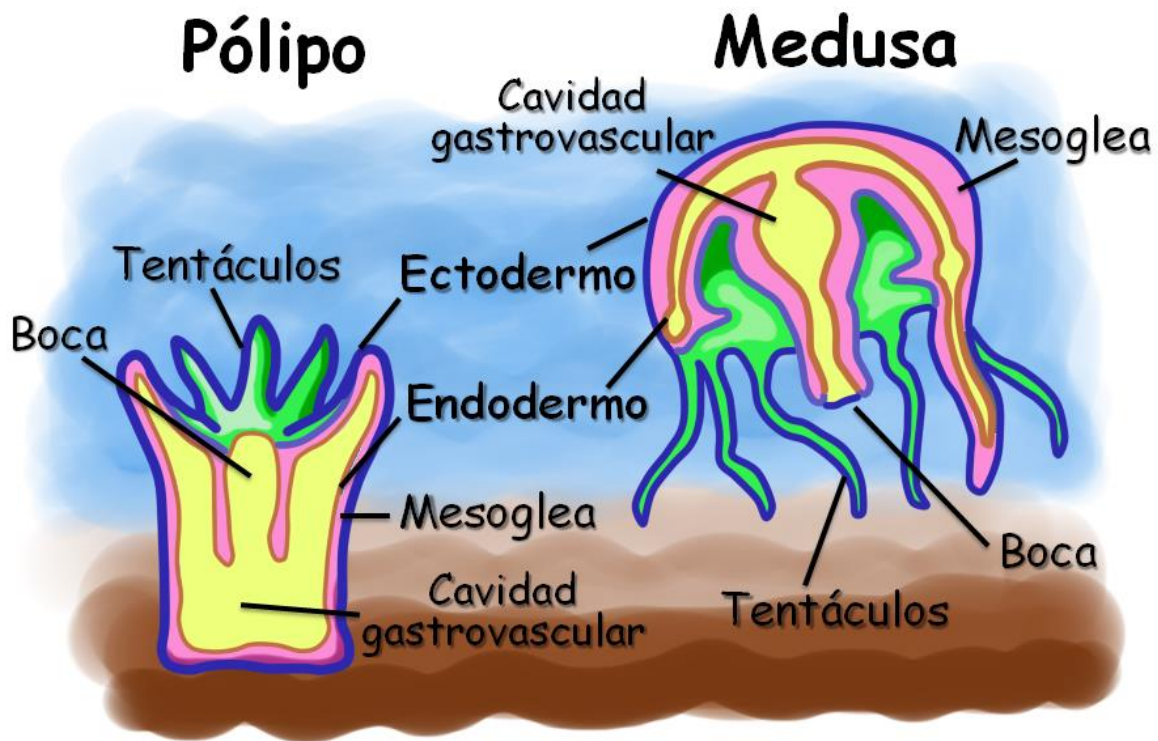


Figura 2. Morfología de los cnidarios (Modificado de (Curtis & Schnek, 2006).

Los cnidarios son organismos heterótrofos; sin embargo, existen especies que poseen la cualidad de ser autótrofos. Esta característica se atribuye a la presencia de organismos endosimbiontes que proveen de alimento al anfitrión, tal es el caso de las zooxantelas. Las zooxantelas son algas marinas fotosintéticas de la familia Symbiodiniaceae, que se alojan en la capa gastrodérmica de los cnidarios. Éstas le proveen fotosintatos al hospedante, a cambio de productos de desecho y protección frente al medio (Stabili et al., 2018).

Numerosas especies de cnidarios participan en la construcción de arrecifes de coral, debido a la capacidad de formar un exoesqueleto compuesto principalmente por carbonato de calcio. Este exoesqueleto les permite formar estructuras que sirven de soporte para el establecimiento de otras especies marinas. Los principales cnidarios constructores de arrecifes son los corales pertenecientes a la clase Anthozoa, conocidos comúnmente como escleractinios, corales duros, corales pétreos o corales verdaderos (Manassero et al., 2016; Mcleod et al., 2019; Okamura et al., 2017).

2.2 Cnidarios y su papel en la construcción de arrecifes de coral

Los arrecifes de coral son ecosistemas megadiversos sumamente importantes para la vida marina; estos ecosistemas son construcciones naturales constituidas por numerosas especies de corales duros e hidrocorales. Los arrecifes de coral ofrecen protección litoral a las costas, además de proveer albergue a aproximadamente una cuarta parte de las especies que habitan en el mar. Estas estructuras permiten, a su vez, el establecimiento de otras especies marinas tal es el caso de corales blandos o anémonas; integrando de esta forma el ecosistema que conocemos como “arrecife coralino” (Adjeroud et al., 2017; Harris et al., 2018; Mcleod et al., 2019).

Los cnidarios constructores de arrecifes también son conocidos por establecer una simbiosis mutualista con algas fotosintéticas de la familia Symbiodiniaceae, las cuales aportan aproximadamente el 90 % de los nutrientes a su hospedante. Dicha simbiosis, aunada a la presencia de microbiota asociada con los cnidarios, ha conducido a los investigadores a clasificar a estos organismos como holobiontes (Kropp et al., 2018; Takama et al., 2018).

2.3 Cnidarios formadores de arrecifes como holobiontes

Un holobionte es una entidad formada por la asociación de diferentes especies que dan lugar a una unidad ecológica; es decir, un holobionte, el cual es un organismo que sirve de hábitat o establece una asociación con más de un grupo taxonómico (incluyendo a los microorganismos que conforman su microbiota). Los cnidarios formadores de arrecifes son un ejemplo de organismos holobiontes, término que engloba al organismo hospedante, a sus simbioses, sus microsimbioses y/o microbiota asociada (Glasl et al., 2016).

La comprensión de las asociaciones que establecen los cnidarios con microorganismos ha cambiado radicalmente en los últimos años. Las bacterias de las familias Endozoicimonaceae y Oxalobacteraceae se han reportado como parte de la microbiota característica de los corales escleractinios (Bourne et al., 2016; Glasl et al., 2016). El descubrimiento de una gran diversidad de microalgas endosimbioses de la familia Symbiodiniaceae ha llevado a la inclusión de la microbiología en la ecología de cnidarios. Numerosos trabajos han sido realizados

para identificar el papel que juegan estos microorganismos en la biología de los corales escleractinios (Glasl et al., 2016; Kropp et al., 2018).

2.3.1 Microbiota asociada a cnidarios formadores de arrecifes

Recientes investigaciones sugieren que, además de la importante participación de las zooxantelas, la microbiota asociada a los corales escleractinios podría ser crucial para el mantenimiento de la salud y resiliencia de estos holobiontes (Bourne et al., 2016; Foo et al., 2017; Rosado et al., 2019).

Se han reportado otros protistas como organismos del género *Chromera*, algas verdes filamentosas del género *Ostreobium*, así como también hongos, bacterias, arqueas y virus que se alojan dentro y/o sobre el tejido del coral, la mucosa, la cavidad gastrovascular y el exoesqueleto. A la fecha no es claro si los protistas fotosintéticos que no pertenecen a la familia Symbiodiniaceae benefician al hospedante, sin embargo, algunos estudios sugieren que endolitos del género *Ostreobium* pueden proporcionar carbono en condiciones de estrés o ausencia de Symbiodiniaceae (Sangsawang et al., 2017; Schlichter et al., 1995; Shashar et al., 1997).

La información disponible actualmente referente a los hongos asociados a corales es limitada, sin embargo, existe un predominio de organismos pertenecientes a las divisiones Ascomycota y Basidiomycota. Los estudios metagenómicos y metatranscriptómicos también han mostrado que estos hongos pueden estar involucrados en la amonificación de nitritos y nitratos, lo cual beneficia a las algas Symbiodiniaceae y los propios cnidarios hospedantes (Amend et al., 2012; Benth et al., 2000; Littman et al., 2011; Wegley et al., 2007).

En cuanto a los virus, es probable que éstos infecten a todos los miembros arqueales, bacterianos y eucariotas del holobionte; los virus reportados son muy diversos y, en general, divergentes de otros virus marinos conocidos. Los bacteriófagos están ampliamente asociados en las asociaciones cnidario-virus, en particular, los miembros del orden Caudovirales y de la familia Microviridae. Adicionalmente, se han observado varios virus de células eucariotas (predominantemente miembros de los virus nucleocitoplasmáticos de ADN grande),

tales como los Retroviridae, Irodoviridae y Herpesvirales (Levin et al., 2017; Thurber et al., 2017; van Oppen & Blackall, 2019; Wood-Charlson et al., 2015).

Las hipótesis sobre las funciones de los virus en el holobionte abarcan el apoyo al hospedante, el control de la composición de la comunidad bacteriana en la mucosa del coral y la mitigación de enfermedades del coral mediante la lisis de bacterias patógenas. Sin embargo, aún no se dispone de evidencia definitiva para la mayoría de estos roles (Thurber et al., 2017).

Por otra parte, algunas bacterias como *Pseudoalteromonas* sp, *Halomonas taeanensis* y *Cobetia marina* son capaces de aumentar la resistencia de los cnidarios frente a factores estresores; esto es posible gracias a mecanismos que involucran el mejoramiento en el ciclo de aprovechamiento de los nutrientes de los escleractinios, así como a la exclusión o antagonismo contra microorganismos patógenos (Bourne et al., 2016; Foo et al., 2017; Rosado et al., 2019).

2.3.2 Simbiosis establecida entre cnidarios formadores de arrecifes y Symbiodiniaceae

La asociación simbiótica estudiada a mayor profundidad es aquella que se da entre el cnidario y el alga. Las zooxantelas cumplen su función de endosimbiontes al proporcionar un porcentaje de alimento de aproximadamente el 90 % a su hospedante. Las algas son integradas generalmente al cnidario por ingestión directa y se multiplican en los tejidos del anfitrión. La propagación ocurre específicamente en la capa gastrodérmica de los pólipos cnidarios (Figura 3). Dentro de las células gastrodérmicas, las zooxantelas se encuentran contenidas en estructuras membranosas conocidas como simbiosomas. Los simbiosomas cuentan con las características necesarias para que la traslocación de nutrientes ocurra exitosamente. Las algas suministran diversos nutrientes a sus hospedadores al generar, mediante la fotosíntesis, oxígeno, azúcares, lípidos y aminoácidos, los cuales son utilizados por los pólipos. Además, el oxígeno derivado de la actividad fotosintética contribuye a mantener los niveles de ATP indispensables para la calcificación. A su vez, las zooxantelas obtienen nutrientes de los productos catabólicos del cnidario, como fósforo y nitrógeno. En condiciones normales, la

densidad de población de simbioses oscila entre 0.5 a 5×10^6 células por cm^2 de superficie (Barott et al., 2015; Fransolet et al., 2012; Hoegh-Guldberg et al., 2007).

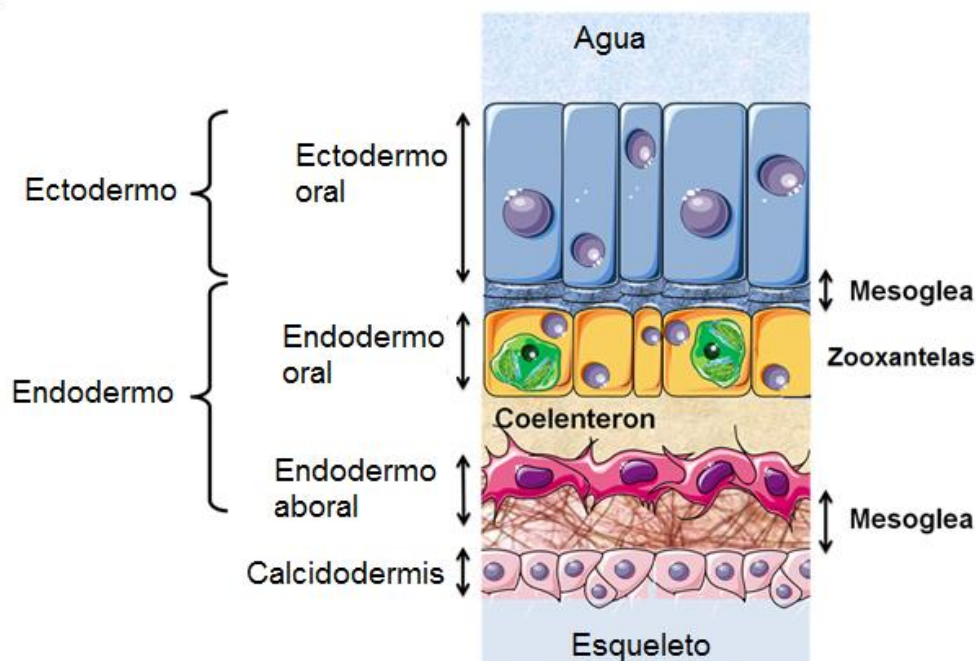


Figura 3. Localización de las zooxantelas en los cnidarios (Hoegh-Guldberg *et al.*, 2007).

Las zooxantelas desempeñan un papel fundamental en los arrecifes coralinos, ya que constituyen una proporción significativa de la biomasa total y ejercen un impacto notable en la comunidad. Los pólipos albergan distintos géneros de Symbiodiniaceae y dependen en gran medida de ellas, lo que restringe el crecimiento del arrecife a la zona fótica. Esta asociación simbiótica es, probablemente, la clave del éxito de los cnidarios como holobiontes constructores de arrecifes en ambientes tropicales. La simbiosis también es clave para la supervivencia de la mayor parte de las especies coralinas, y por consiguiente, de los propios arrecifes (Barott et al., 2015; Thornhill et al., 2017).

El género y la especie de algas de Symbiodiniaceae que residen dentro de las células de los cnidarios influye en la susceptibilidad de su hospedante a los cambios de temperatura, lo que contribuye a grandes disparidades en la tolerancia térmica entre colonias individuales y especies de hospedantes (LaJeunesse et al., 2010). Algunos de los primeros estudios enfocados en cultivos de Symbiodiniaceae

revelaron diferencias en la morfología (tamaño de las células, volúmenes de cloroplasto y mitocondrias), bioquímica (metabolitos), fisiología (capacidades fotosintéticas), comportamiento (motilidad y especificidad del hospedador) y genética (número de cromosomas), lo que colectivamente llevó a la proposición de que existía más de una especie de endosimbionte (Blank & Trench, 1985; Schoenberg et al., 1997).

En años posteriores, y gracias al avance de las técnicas de análisis genómico, las reconstrucciones filogenéticas revelaron inmediatamente que *Symbiodinium* (originalmente propuesto como un solo género) se compone de muchos elementos evolutivamente divergentes. Al revelarse su variabilidad filogenética, estos linajes fueron clasificados en clados, e identificados empleando nomenclatura de letras (A, B, C, D, E, F, G, H e I) (Rowan & Powers, 1991, 1992). Durante muchos años, estas designaciones de “clados” a menudo aparecían en la literatura como equivalentes a nivel de especie. Con la aparición de técnicas moleculares en las últimas décadas, ha habido un reconocimiento generalizado de que la mayoría de los clados de Symbiodiniaceae contienen numerosos subclados, tipos o cepas. En particular, la mayoría de estos clados exhiben diferencias sustanciales en su genética, fisiología y/o ecología, atributos que cumplen los requisitos previos de los conceptos de múltiples especies (Jeong et al., 2014; Lajeunesse et al., 2012).

En 2018, LaJeunesse y colaboradores reportaron que los clados que conformaban el género *Symbiodinium* contaban con las características moleculares, morfológicas, fisiológicas y ecológicas suficientes para que éstos sean considerados como géneros de la familia Symbiodiniaceae. En dicho estudio se describieron formalmente 7 géneros: *Symbiodinium* (antes clado A), *Breviolum* (antes clado B), *Cladocopium* (antes clado C), *Durusdinium* (antes clado D), *Effrenium* (antes clado E), *Fugacium* (antes clado F) y *Gerakladium* (antes clado G) (LaJeunesse et al., 2018).

El trabajo realizado por LaJeunesse y colaboradores proporciona un marco para futuras clasificaciones de géneros y especies en la familia Symbiodiniaceae. A pesar de que a la fecha se habían reportado únicamente 9 clados, el número eventual de géneros definidos podría ascender a aproximadamente 15 o más, esto debido a que

varios linajes divergentes que actualmente se encuentran agrupados dentro de un mismo clado pueden distanciarse aún más en base a su variabilidad filogenética, ecológica y biogeográfica (LaJeunesse et al., 2018; Pochon & Gates, 2010).

A pesar de que los principales cnidarios constructores de arrecifes coralinos son los corales escleractinios (clase Anthozoa), también los cnidarios del género *Millepora* (clase Hydrozoa) participan en la construcción de arrecifes, gracias a que, al igual que los corales escleractinios, poseen un exoesqueleto calcáreo (Ahmadi et al., 2018; Boissin et al., 2020; Dubé et al., 2019; Manassero et al., 2016).

2.4 Cnidarios del género *Millepora*

Los cnidarios del género *Millepora* (clase Hydrozoa) son comúnmente conocidos como hidrocorales o “corales falsos”, y se caracterizan por poseer morfología de pólipo sésil. A la fecha, se conocen 15 especies de este género, entre las que se incluyen *Millepora alcicornis*, *Millepora dichotoma*, *Millepora platyphylla* y *M. complanata* (Figura 3) (Dubé et al., 2019; Takama et al., 2018). Las colonias de *Millepora* se desarrollan en forma de placas o estructuras incrustantes que cubren la superficie rocosa, presentando morfologías laminares, digitiformes o arborescentes. Los hidrocorales son conocidos también como “corales de fuego” debido a la capacidad de producir quemaduras y urticaria en los humanos que entran en contacto con ellos (Iguchi et al., 2008; Lewis, 2006). Los hidrocorales son los segundos organismos más importantes involucrados en la construcción de arrecifes; esto es debido a su exoesqueleto compuesto por carbonato de calcio y su amplia distribución en mares tropicales (Kropp et al., 2018) (Figura 4).

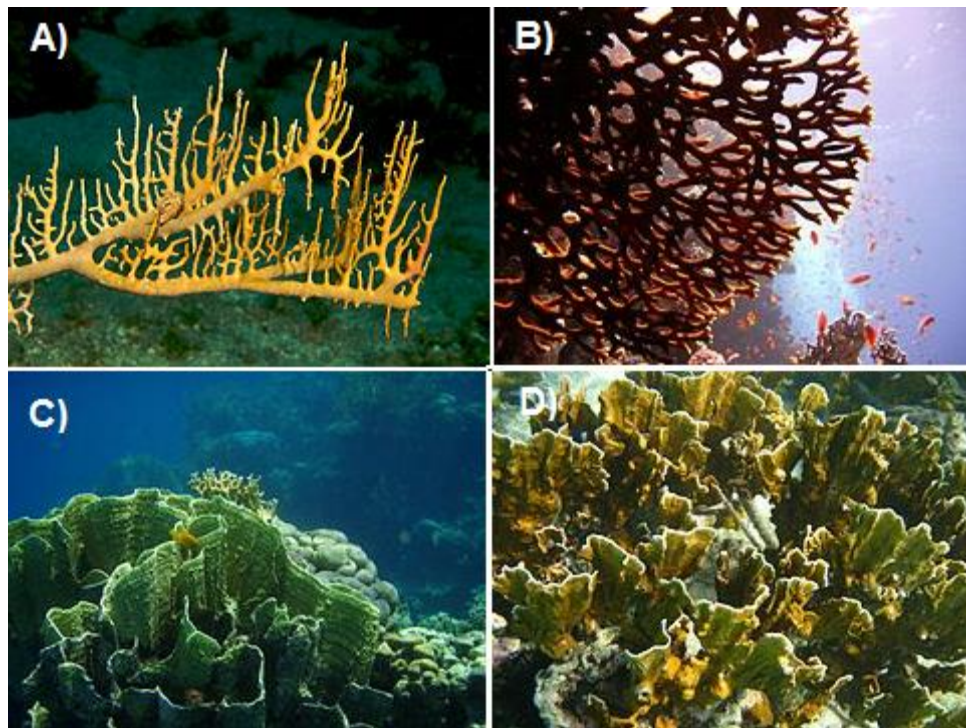


Figura 4. Ejemplos de organismos del género *Millepora*: A) *M. alcicornis*; B) *M. dichotoma*; C) *M. platyphylla*; D) *M. complanata* (Lozoya, 1994).

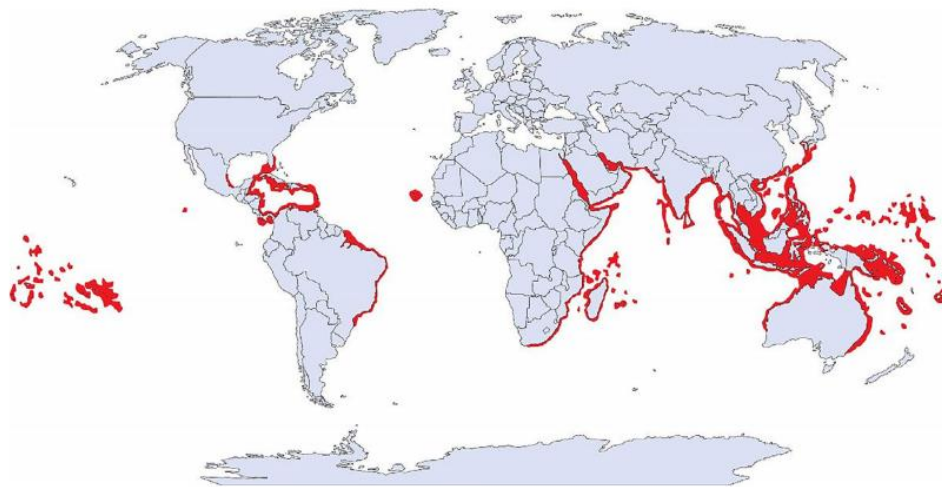


Figura 5. Distribución mundial de las especies del género *Millepora* (Kropp et al., 2018).

Los hidrocorales también comparten con los corales escleractinios la característica de establecer una simbiosis con algas de la familia Symbiodiniaceae. A la fecha, no se ha caracterizado la microbiota bacteriana de los hidrocorales; sin embargo,

también se clasifican como holobiontes, ya que están conformados por la asociación cnidario-Symbiodiniaceae-microbiota (Glasl et al., 2016; Kropp et al., 2018).

En cuanto al tipo de zooxantelas que habitan dentro de las células de los hidrocorales, está reportada la presencia de los géneros *Symbiodinium*, *Breviolum* y *Cladocopium*. Existe una tendencia aparente que parece indicar que el tipo de endosimbiontes está ligado a las características físicas del ambiente acuático de los hidrocorales, ya que la presencia de ciertos géneros predomina en determinadas zonas. Por ejemplo, *Symbiodinium* sp es abundante en especímenes de *M. alcornis* recolectados en el arrecife mesoamericano (en México y Puerto Rico) a aproximadamente 7 m de profundidad, zonas que se caracterizan por ser superficiales y de agua cálida (Rodríguez et al., 2019).

Por otra parte, la simbiosis establecida entre cnidario-alga posee una principal desventaja, la cual es la alta susceptibilidad a los factores estresores externos. Entre estos factores destacan: las variaciones de la temperatura superficial de los océanos, lo cual provoca un estrés térmico; aumento en la incidencia de rayos ultravioleta; así como también, variaciones en el pH y en la salinidad del agua. La simbiosis entre los pólipos y sus zooxantelas es interrumpida por estas modificaciones en el entorno acuático, provocando un fenómeno conocido como blanqueamiento de arrecifes coralinos; dicho fenómeno ha cobrado mayor relevancia en las últimas décadas (Ishii et al., 2019; Mansfield & Gilmore, 2019; Thornhill et al., 2017).

2.5 Blanqueamiento de arrecifes coralinos

Los principales componentes de los holobiontes constructores de arrecifes son: el pólipo cnidario, la zooxantela endosimbionte y la microbiota asociada; sin embargo, la simbiosis establecida entre el cnidario y el alga es altamente susceptible a modificaciones en el entorno acuático (Bernasconi et al., 2019; T. P. Hughes et al., 2017).

2.5.1 Calentamiento global y estrés térmico

Los factores estresores en el entorno acuático pueden provocar la disrupción de la simbiosis del cnidario-alga; por ejemplo, el aumento en la temperatura de la

superficie de los océanos, la cual provoca un estrés térmico, es probablemente la principal causa de este fenómeno. El calentamiento global es el principal causante del estrés térmico; sin embargo, éste es provocado a su vez por otro fenómeno conocido como el efecto invernadero. El efecto invernadero consiste en la absorción de la radiación térmica emitida por la superficie del planeta por parte de los gases de efecto invernadero (GEI) presentes en la atmósfera, los cuales reirradian esta energía en todas direcciones, devolviendo parte de ella a la superficie y a las capas bajas de la atmósfera. La mayor parte de la radiación solar en el rango de luz visible atraviesa la atmósfera y calienta la superficie terrestre, que posteriormente libera esa energía en forma de radiación térmica infrarroja de menor frecuencia. La energía emitida es absorbida por los GEI, que a su vez irradian esta energía a la superficie terrestre; como resultado se produce un incremento de la temperatura superficial media (Baker et al., 2008; Gupta, 2019).

En las últimas décadas, el calentamiento global ha incrementado la temperatura de numerosos ecosistemas, incluidos los ambientes oceánicos. La temperatura ambiental resulta crucial para corales e hidrocorales, por lo que variaciones de apenas unos pocos grados centígrados pueden afectar gravemente la salud de estos holobiontes. Aunque la temperatura es probablemente el factor causal más relevante del blanqueamiento, también influyen de manera importante la salinidad del agua, la acidificación y la radiación ultravioleta (T. P. Hughes et al., 2017; Manzello et al., 2017).

2.5.2 Expulsión de los endosimbiontes

Los corales e hidrocorales son cnidarios que se caracterizan por poseer coloraciones y tonalidades llamativas; dicha pigmentación (y la variación de ésta) se debe en gran medida a las zooxantelas que se alojan en el interior de los pólipos. Una alteración en la homeostasis de la simbiosis puede generar un desequilibrio metabólico en las zooxantelas; para contrarrestarlo, estas implementan dos estrategias: reducir su contenido de clorofila y disminuir su biomasa relativa. La interrupción de la homeostasis entre el cnidario y el alga provoca que las algas sean expulsadas del hospedante, causando la pérdida de su pigmentación característica. En el caso de los corales escleractinios e hidrocorales, esta pérdida deja expuesto

el exoesqueleto, provocando el fenómeno visual conocido como “blanqueamiento” (Figura 6). La pérdida de estas algas representa una gran problemática para los corales, ya que las zooxantelas aportan aproximadamente el 90 % de los requerimientos nutricionales de estos holobiontes, lo cual los conduce a un estado de alta vulnerabilidad (Gardner et al., 2017; Obura, 2009).



Figura 6. Proceso del blanqueamiento de un coral (Modificado de Weis, 2008).

2.5.3 Mecanismos para la pérdida de endosimbiontes

Dado que la disminución de la biomasa de endosimbiontes es la principal característica del blanqueamiento de arrecifes coralinos, los investigadores enfocaron los estudios en una dirección que nos permite comprender los mecanismos implicados en la pérdida de simbiontes. A la fecha existen cinco mecanismos propuestos para este fenómeno: degradación *in situ*, exocitosis, separación de la célula huésped, apoptosis de la célula huésped y necrosis de la célula huésped (Figura 7) (Gates et al., 1992; Steen & Muscatine, 1987).

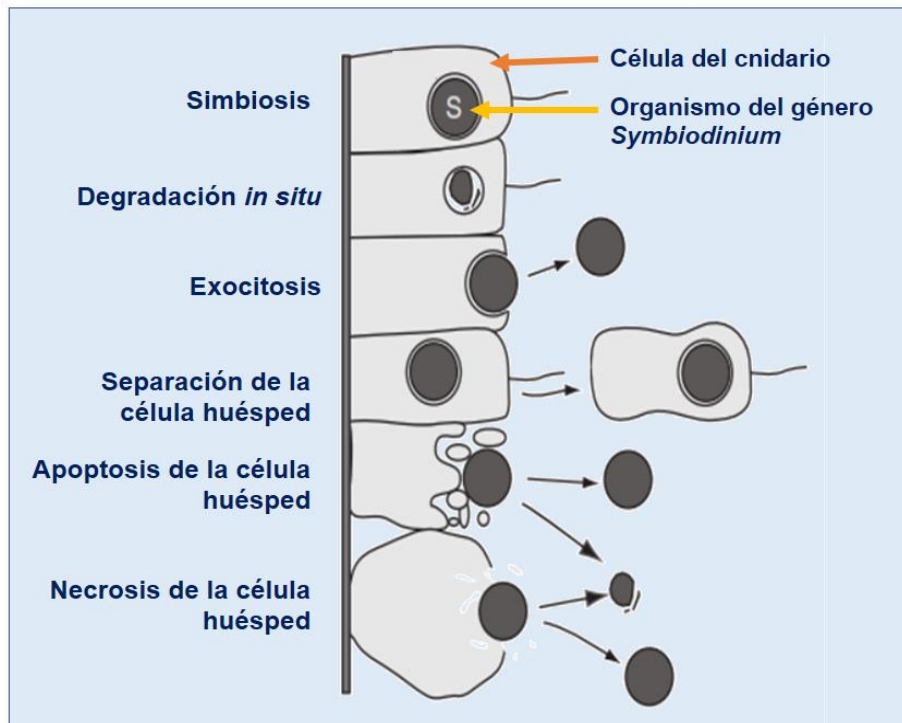


Figura 7. Mecanismos de pérdida de simbiontes (Modificado de Gates et al., 1992)

La expulsión de los simbiontes es un proceso bilateral, es decir, que no depende exclusivamente del cnidario, sino que también el alga endosimbionte participa y juega un papel importante. Se ha identificado evidencia de una mayor expresión de proteínas implicadas en la exocitosis en una fracción de los simbiontes del coral *Stylophora pistillata*, incluyendo tanto antagonistas vesiculares como proteínas SNARE (receptores de proteínas solubles de fijación soluble de NSF, por sus siglas en inglés “*Soluble NSF Attachment Protein Receptor*”); dichas proteínas podrían ser codificadas por el hospedante (SNAREs blanco) o por el simbionte (SNAREs vesiculares). El ensamblado de las SNARE utiliza proteínas SNARE vesiculares del endosimbionte, de modo que se desencadena una señal iniciada por el estrés oxidativo para iniciar la salida del simbionte (Weston et al., 2015).

Cabe mencionar que la principal causa por la cual el hospedante debe deshacerse de sus endosimbiontes es el daño excesivo que recibe por parte del estrés oxidativo generado por las algas Symbiodiniaceae. Dicho estrés ha llamado la atención de los investigadores, y numerosos estudios se han centrado en comprender la etiología de este fenómeno (Weis, 2008a).

2.6 Estrés oxidativo generado por el aumento en la temperatura del agua y de la radiación ultravioleta

Diversos estudios han logrado demostrar que el estrés térmico y el estrés fótico tienen repercusiones negativas en los procesos fotosintéticos de las algas endosimbiontes, debido al estrés oxidativo que origina en las algas una sobreproducción y acumulación excesiva de especies reactivas de oxígeno (EROs); además de que también se presentan daños en los cloroplastos y en el sistema fotosintético de los simbioses, en al menos tres niveles (Weis, 2008a):

1. Proteína D1: elemento clave del fotosistema II (PSII), compuesto por cinco hélices transmembrana y participante en el proceso de fotólisis del agua.
2. RuBisCO: enzima ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa que cataliza dos reacciones opuestas: la fijación de CO₂ en compuestos orgánicos y la oxigenación de la ribulosa-1,5-bisfosfato.
3. Las membranas tilacoides: desacoplamiento energético del transporte de electrones en los dos fotosistemas (I y II), por lo cual se continúan generando electrones, pero se deja de producir ATP y NADP (Weis, 2008a).

El exceso de electrones generado provoca la reducción del O₂ en lugar del NADP, originando el ion superóxido (O₂⁻), el cual puede ser transformado por la enzima superóxido dismutasa (SOD) en peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Aunque este último es más estable y menos reactivo, sigue siendo perjudicial. El H₂O₂ puede reaccionar con hierro ferroso (Fe²⁺) para formar una especie aún más reactiva, el radical hidroxilo (·OH). El exceso de electrones también puede reaccionar fotoquímicamente con pigmentos y O₂ para generar en última instancia, oxígeno atómico altamente reactivo (¹O₂) (Figura 8) (Weis, 2008a).

Las EROs lesionan biomoléculas de los endosimbiontes y participan de manera central en la transducción de señales de mediadores del daño celular, así como en procesos como apoptosis, autofagia y necrosis. Estas vías de respuesta al daño celular son relevantes durante el blanqueamiento y su activación depende de la intensidad y duración del estrés. Sin embargo, las EROs también pueden translocarse al hospedante cnidario, dañando de igual manera sus biomoléculas y tejidos. Este daño al hospedante es la razón por la que se ha propuesto que el

blanqueamiento en sí mismo es un mecanismo de control para minimizar los efectos nocivos causados por el desequilibrio metabólico en la simbiosis cnidario-alga (Bhagooli, 2013; Weis, 2008a; Williams et al., 2017).

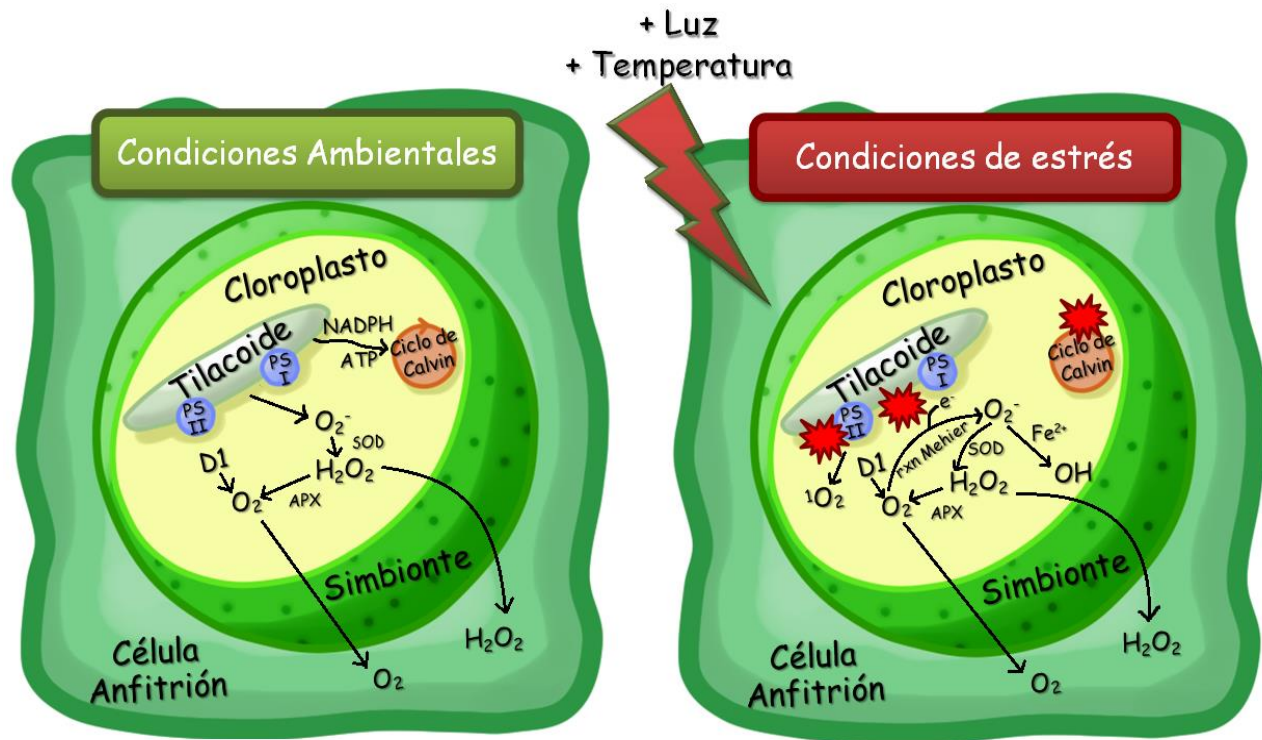


Figura 8. Proceso del blanqueamiento de un hidrocoral y mecanismos implicados (Modificado de Weis, 2008).

2.7 Estudios ómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos

Las ómicas son un conjunto de técnicas y herramientas que permiten el estudio de organismos a distintos niveles: genómico, transcriptómico, proteómico y metabolómico. La expresión diferencial de genes, transcritos, proteínas y metabolitos es información sumamente útil que permite comprender con mayor detalle la respuesta de un organismo al atravesar por una determinada condición, ejemplos de esto son una etapa de su ciclo vital o una enfermedad (Barshis et al., 2013; Matthews et al., 2016).

La bioinformática es parte de los estudios ómicos, debido a que resulta indispensable para procesar las grandes cantidades de datos obtenidos. La bioinformática también ha permitido correlacionar los datos generados a partir de

los distintos enfoques ómicos, logrando una interpretación más integrativa y menos reduccionista, en comparación con los estudios enfocados a analizar de una manera más específica los genes, transcritos, proteínas o metabolitos (Matthews et al., 2016).

Las herramientas ómicas han sido de gran ayuda para abordar el estudio del blanqueamiento de arrecifes coralinos, y han contribuido a comprender la forma en que los seres vivos responden ante el estrés. Los mecanismos moleculares implicados en la etiología del blanqueamiento y las consecuencias de este fenómeno aún no se comprenden en su totalidad; sin embargo, las ómicas han posibilitado una comprensión más amplia de los mecanismos involucrados en el blanqueamiento. Dentro de los estudios ómicos enfocados al blanqueamiento de arrecifes coralinos, destacan aquellos con un enfoque transcriptómico (DeSalvo et al., 2010; Moya et al., 2012).

2.7.1 Estudios transcriptómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos

Numerosos estudios transcriptómicos sobre el blanqueamiento de arrecifes coralinos se han llevado a cabo; estos estudios comparativos han permitido conocer los mecanismos que se ven afectados en los anthozoos durante episodios de blanqueamiento. Richier y colaboradores en 2008 llevaron a cabo un estudio en el que se sometió a estrés térmico y radiación UV a la anémona *Anthopleura elegantissima*, estos estresores provocaron cambios en la expresión de transcritos que codifican para proteínas del citoesqueleto, proteínas que participan en diversas rutas metabólicas, proliferación celular, apoptosis y transporte (Richier et al., 2008).

De-Salvo y colaboradores en 2008, realizaron un estudio transcriptómico de mediana escala, en el que evaluaron la expresión diferencial de genes del coral *Montastraea faveolata* blanqueados por estrés térmico. En este estudio se encontraron diferencias en la expresión de genes relacionados a estrés oxidativo, homeostasis del calcio, organización de citoesqueleto, muerte celular, calcificación, metabolismo, síntesis de proteínas, actividad proteica de choque térmico y transporte (De-Salvo et al., 2008). Así mismo, De-Salvo y colaboradores también realizaron un estudio con el mismo enfoque sobre los efectos del blanqueamiento producido por estrés térmico en el coral *Acropora palmata*. Dicho estudio evidenció

modificaciones en genes que codifican para proteínas chaperonas, de estabilización y reparación de ácidos nucleicos y de remoción de macromoléculas dañadas (De-Salvo et al., 2010). Adicionalmente, en 2012 este grupo de investigación también determinó que, de manera similar a lo que ocurre con el estrés térmico, el estrés inducido por oscuridad induce modificaciones en la expresión de genes que codifican para proteínas chaperonas y de mecanismos antioxidantes en *A. palmata*. (De-Salvo et al., 2012)

En 2012, Moya y colaboradores realizaron un estudio de los efectos del blanqueamiento en *Anemonia viridis* sometida a estrés térmico y radiación UV, en el que se observaron cambios y un aumento en la expresión de transcritos que participan en diversas vías de señalización de muerte celular, apoptosis y homeostasis del calcio (Moya et al., 2012). Kenkel y colaboradores realizaron un estudio en 2013 que mostró la expresión diferencial de transcritos asociados a distintos procesos celulares en el coral *Porites astroides* sometido a estrés térmico; dichos transcritos codifican a proteínas involucradas en procesos de calcificación, así como también se identificaron transcritos específicos de las enzimas piruvato carboxilasa (involucrada en el proceso de gluconeogénesis), fosfoenolpiruvato carboxiquinasa y acil-CoA deshidrogenasa (involucrada en el proceso de beta-oxidación de lípidos) (Kenkel et al., 2011).

Pinzón y colaboradores realizaron un estudio en 2015 sobre el efecto del blanqueamiento sobre el transcriptoma del coral *Orbicella faveolata*. Un total de 6562 transcritos presentaron una expresión diferencial, dichos transcritos estaban asociados a crecimiento, reproducción, apoptosis, respuesta inmune, actividad catalítica, transporte activo, actividad antioxidante, unión celular, regulación de procesos metabólicos y adhesión celular, entre otros (Pinzón et al., 2015). En 2019, Meron y colaboradores publicaron un estudio en el cual evaluaron cambios en el transcriptoma del coral *Euphyllia paradivisa* causados por la presencia de algas Symbiodiniaceae durante el estrés térmico; el equipo de trabajo contó con un grupo control de *E. paradivisa* en estado aposimbiótico. Se reportó que la presencia de endosimbiontes podría aumentar la susceptibilidad del hospedante ante factores de estrés, esto debido a que se presentó un aumento en la expresión diferencial de

transcritos asociados a catabolismo de ADN y ubiquitinación de proteínas entre otros (Meron et al., 2019).

En 2019, Helmkamp y colaboradores realizaron un estudio acerca del efecto de la variación en la localización y el tipo de cladas (cladas C y D) de Symbiodiniaceae en el transcriptoma del coral *Montipora capitata*. En dicho estudio se observó una expresión diferencial de 273 transcritos divididos primero por localización y después por cladas. La variación en la localización causó el mayor cambio en expresión de transcritos, lo cual fue atribuido a una combinación entre la adaptación de los corales y la aclimatación a los factores estresores externos. Los transcritos expresados de manera diferencial se encontraron asociados a procesos de ensamblado de ADN, regulación de procesos metabólicos (procesos de oxidoreducción, metabolismo de ARN, entre otros), biosíntesis de compuestos de diversos tipos, tales como compuestos orgánicos cíclicos, heterocíclicos y aromáticos (Helmkamp et al., 2019).

En 2023, nuestro grupo de estudio reportó el primer estudio transcriptómico de *M. complanata*, en el cual se compararon especímenes en condiciones de no blanqueamiento y blanqueamiento. Derivado de este análisis se identificaron 299 transcritos expresados de manera diferencial, los cuales estaban asociados a diversos procesos celulares y moleculares tales como respuesta a estrés oxidativo, citoesqueleto, biosíntesis de proteínas, choque térmico y toxinas. Estos resultados indican que los mecanismos de respuesta al choque térmico en *M. complanata* comprenden: la activación de defensas antioxidantes endógenas, un aumento en la expresión de genes implicados en la respuesta al estrés térmico, la regulación al alza de genes relacionados con la transcripción y una mayor expresión de genes asociados a procesos de transporte, entre otros. Adicionalmente, dicho estudio constituyó el primer análisis de expresión génica diferencial de la respuesta molecular de un hidrozooario constructor de arrecifes durante el blanqueamiento (Hernández-Elizárraga et al., 2023).

Por otra parte, también existen estudios enfocados al blanqueamiento que emplean un enfoque proteómico. Sin embargo, dichos estudios son más escasos debido a la

dificultad que implica llevar a cabo técnicas proteómicas en cnidarios constructores de arrecifes (Cheng et al., 2018).

2.7.2 Estudios proteómicos del blanqueamiento de arrecifes coralinos

Es importante resaltar que el proteoma se compone de dos fracciones: el proteoma soluble, el cual comprende todas aquellas proteínas hidrofílicas que se encuentran, tanto en el interior, como en el exterior de las células (incluyendo las toxinas en el caso de los organismos venenosos) y el proteoma insoluble, el cual comprende todas aquellas proteínas lipofílicas que se encuentran incrustadas en las membranas lipídicas (por ejemplo, las membranas celulares y las membranas de los organelos). En tanto que el proteoma total engloba, tanto a las proteínas hidrofílicas, como a las lipofílicas (Sridharan et al., 2019; Vuong et al., 2017).

En estudios proteómicos sobre el blanqueamiento, Weston y colaboradores (2015) realizaron un análisis diferencial del proteoma total de *Acropora microphthalma* expuesto a estrés térmico. Se observó una regulación diferencial de proteínas implicadas en la homeostasis redox y el metabolismo del calcio. Asimismo, se registró un aumento en la expresión de la anhidrasa carbónica, posiblemente como un mecanismo para restablecer el pH intracelular afectado por la disminución de la actividad fotosintética de los simbiontes. Se encontró también un aumento en la expresión de calmodulina y de la chaperona mediadora de la autofagia HSP70 (Weston et al., 2015). Por otra parte, Ricaurte y colaboradores reportaron en 2016 un estudio diferencial del proteoma de *A. palmata* sometido a estrés térmico; se observó una sobreexpresión de proteínas relacionadas con la respuesta ante el estrés térmico, respuesta a radiación UV, apoptosis y ciclo celular (Ricaurte et al., 2016). Así mismo, Oakley y colaboradores realizaron un estudio diferencial del proteoma total de *Aiptasia* spp. en 2017, en dicho estudio se sometió a la anémona a estrés térmico y se encontró una diferencia significativa en la abundancia de 104 proteínas relacionadas con la síntesis y el plegamiento de proteínas, homeostasis redox y metabolismo central (Oakley et al., 2017).

En nuestro grupo de investigación se realizó también un estudio proteómico para evaluar los efectos del blanqueamiento inducido por estrés térmico sobre el proteoma soluble del hidrocoral *M. albicornis*, cabe destacar que dicho estudio fue

el primer análisis proteómico de un hidrozoo en publicarse, ya que hasta ese año, solamente se habían publicado estudios en corales escleractinios. En ese trabajo se observó una expresión diferencial de 17 proteínas relacionadas a exocitosis, homeostasis de calcio, organización del citoesqueleto y toxinas, entre las cuales se encontraban una metaloproteasa, una fosfolipasa A2 (PLA2) y una actitoxina (Olguín-López et al., 2019). Por otro lado, nuestro grupo llevó a cabo un estudio proteómico diferencial en especímenes no blanqueados y blanqueados *in situ* de *M. complanata*, donde el blanqueamiento fue inducido por estrés térmico. Este estrés provocó un aumento en la expresión de 15 proteínas y una disminución en la de 20 proteínas. De las 35 proteínas afectadas, se logró identificar la secuencia de aminoácidos de 15, incluyendo 4 toxinas, 2 proteínas de metabolismo primario, una proteína del citoesqueleto, una proteína de señalización, 2 proteínas implicadas en la reparación del ADN, una proteína de respuesta al estrés, una proteína asociada a la homeostasis redox y una proteína relacionada con la exocitosis. Entre las proteínas cuya expresión se incrementó, se encontraron aquellas con similitud a toxinas como PLA2, echotoxina-2, delta actitoxina y una toxina metaloproteasa tipo astacina 5. Por el contrario, se observó una disminución en la expresión de una proteína homóloga a una fosfolipasa A2 independiente de calcio (iPLA2). Es importante mencionar que dicho estudio se centró únicamente en el proteoma soluble (Hernández-Elizárraga et al., 2019). En la tabla 1 se presenta un resumen de los estudios proteómicos publicados de blanqueamiento y respuesta a estrés térmico en cnidarios, así como los principales cambios identificados a nivel molecular.

Tabla 1. Estudios proteómicos publicados de blanqueamiento y respuesta a estrés térmico en cnidarios, así como los principales cambios identificados a nivel molecular.

Referencia	Organismo	Procesos moleculares alterados por el estrés térmico y/o blanqueamiento
Weston et al., 2015.	<i>Acropora microphthalma</i>	Homeostasis redox y el metabolismo del calcio, anhidrasa carbónica, calmodulina y HSP70.

Ricaurte et al., 2016.	<i>Acropora palmata</i>	Proteínas relacionadas con la respuesta ante el estrés térmico, respuesta a radiación UV, apoptosis y ciclo celular.
Oakley et al., 2017.	<i>Aiptasia</i> spp.	Síntesis y el plegamiento de proteínas, homeostasis redox y metabolismo central.
Mayfield et al., 2018	<i>Pocillopora acuta</i>	Proteínas de respuesta a estrés, componentes de citoesqueleto, sistema inmune y metabolismo.
Olguín-López et al., 2019.	<i>Millepora alcicornis</i>	Exocitosis, homeostasis de calcio, organización del citoesqueleto y toxinas (metaloproteasa, una fosfolipasa A2 y una actitoxina).
Hernández Elizárraga et al., 2019.	<i>Millepora complanata</i>	Toxinas, metabolismo primario, citoesqueleto, señalización, reparación del ADN, respuesta al estrés, homeóstasis redox y exocitosis.
Petrou et al., 2021.	<i>Acropora millepora</i>	Proteínas asociadas a metabolismo de nitrógeno, estrés oxidativo, proteólisis, fotosíntesis y producción de energía.
Axworthy et al., 2022	<i>Montipora capitata</i>	Metabolismo primario, citoesqueleto, respuesta ante el estrés y exocitosis.
Mayfield et al., 2021; Mayfield and Lin, 2023	<i>Orbicella faveolata</i>	Proteínas de respuesta a estrés, componentes de citoesqueleto, sistema inmune, homeostasis redox, transcripción, homeostasis de calcio y señalización.
Ricaurte et al., 2024	<i>Orbicella faveolata</i>	Respuestas al estrés oxidativo y térmico, metabolismo, inmunidad y apoptosis.
Zhao et al., 2024	<i>Acropora hyacinthus</i>	Metabolismo del ácido araquidónico, metabolismo de los glicerofosfolípidos y metabolismo de la cisteína y la metionina

Nuestro grupo de estudio también logró estandarizar la técnica para la obtención del proteoma total de *M. complanata*. En dicho estudio se empleó un amortiguador Tris-HCl que permitió la obtención de 48 spots en geles bidimensionales de poliacrilamida; de manera preliminar, se lograron identificar 25 secuencias de aminoácidos, empleando cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de

masas. En dicho trabajo se encontraron proteínas que pertenecían a la fracción soluble, tales como una serina-treonina quinasa, una poliamina oxidasa y una fosfolipasa A2 con dominio similar a patatina. Adicionalmente, se encontraron proteínas pertenecientes a la fracción insoluble, por ejemplo, una subunidad 6 de la ATP sintasa F_0 mitocondrial y un antígeno endosómico temprano (Alcantar-Orozco, 2020).

Es evidente que a la fecha se han logrado avances en la comprensión del fenómeno del blanqueamiento y, en este sentido, los enfoques ómicos han sido de gran ayuda. Recientemente, se ha incursionado también en el área de la metabolómica. Hillyer y colaboradores publicaron en el 2018 un estudio metabolómico diferencial del coral *Acropora aspera* blanqueado por estrés térmico, en éste se encontraron cambios en la concentración de algunos metabolitos primarios como carbohidratos y lípidos (Hillyer et al., 2017). Sin embargo, en lo referente a estudios proteómicos, aún queda un campo amplio por explorar, y más aún con respecto a organismos de la clase Hydrozoa, como los hidrocorales del género *Millepora*, ya que como se ha mencionado anteriormente, la mayoría de los estudios proteómicos sobre el blanqueamiento se han llevado a cabo en corales escleractinios, mientras que los únicos dos estudios proteómicos de hidozoos se enfocaron únicamente en el estudio del proteoma soluble (Hernández-Elizárraga et al., 2019; Olguín-López et al., 2019).

En resumen, los estudios sobre los efectos del estrés térmico en el proteoma de cnidarios constructores de arrecifes son limitados, pero han demostrado que el incremento de la temperatura provoca cambios significativos en la expresión proteica, tanto en corales como en hidrocorales. En este sentido es necesario continuar la investigación empleando herramientas proteómicas, para conocer a mayor profundidad el impacto del estrés térmico, responsable del blanqueamiento, sobre los mecanismos celulares de supervivencia de los cnidarios.

3. JUSTIFICACIÓN

Los arrecifes de coral son fundamentales para el ecosistema marino de nuestro planeta; en términos de biodiversidad, representan los ecosistemas marinos más ricos, complejos y productivos de la tierra. Los organismos que constituyen estos ecosistemas producen una gran variedad de moléculas con características estructurales únicas que exhiben numerosas actividades biológicas; por lo tanto, se consideran una rica fuente de nuevos agentes bioactivos con gran potencial farmacéutico y biotecnológico (Cragg & Newman, 2013). Por otro lado, estos ecosistemas también juegan un papel fundamental en la vida marina, ya que sirven de albergue para aproximadamente el 25 % de las especies que viven en los océanos. Cabe mencionar que las características físicas de los arrecifes de coral les permiten ofrecer protección a los litorales; además, promueven las actividades económicas de la pesca y turismo, ayudando así al sustento de por lo menos 10 millones de personas que viven en costas (Olguín-López et al., 2019).

En las últimas décadas, los arrecifes de coral se han visto amenazados por el cambio climático, principalmente por el estrés térmico derivado del calentamiento global. Esta situación ha conducido a que se presente el fenómeno conocido como blanqueamiento de arrecifes coralinos con muchísima mayor frecuencia y a mayor escala. El blanqueamiento es un estado de alta vulnerabilidad para los corales e hidrocorales, y ha contribuido a generar enormes pérdidas en estos ecosistemas (Bernasconi et al., 2019; T. P. Hughes et al., 2017). Se estima que a la fecha se ha perdido casi un 40 % de la gran barrera de coral en Australia, y aproximadamente un 20 % del arrecife mesoamericano; esto ha provocado que el 75 % de las especies constructoras de arrecifes se encuentren amenazadas (HRHP, 2018; WWF, 2020). Considerando la indiscutible importancia de dichos ecosistemas, los investigadores han realizado estudios con distintos enfoques ómicos; estos estudios han mejorado el entendimiento del blanqueamiento de arrecifes de coral y han permitido el planteamiento de alternativas de solución para mitigar dicho fenómeno. Existen abundantes estudios transcriptómicos sobre especímenes blanqueados de corales escleractinios. Dichas investigaciones han demostrado que, como consecuencia del estrés térmico, diversos procesos fisiológicos y celulares resultan afectados, entre los que se incluyen: el ciclo celular, la apoptosis, la homeostasis redox, la

homeostasis del calcio, el metabolismo central y el transporte intracelular (Richier et al., 2008; De-Salvo et al., 2012; Moya et al., 2012).

Por otro lado, los estudios con enfoque proteómico son mucho más escasos, debido a la dificultad que implica realizar análisis proteómicos en cnidarios de exoesqueleto calcáreo. Sin embargo, dentro de los estudios que se han publicado a la fecha, en corales escleractinios se encontró que ciertos procesos celulares como la homeostasis del calcio, el estado redox, la apoptosis y el ciclo celular se ven afectados (Weston et al., 2015; Ricaurte et al., 2016; Mayfield et al. 2018; Oakley et al., 2019; Mayfield 2020; Petrou et al., 2021; Mayfield et al., 2021; Axworthy et al., 2022; Mayfield et al., 2023; Ricaurte et al., 2024; Zhao et al., 2024).

Nuestro grupo de estudio ha publicado los únicos dos estudios sobre el fenómeno del blanqueamiento en organismos hidrozoos. En dichos trabajos se analizó el efecto del estrés térmico sobre los proteomas solubles de dos hidrocorales que habitan en el Caribe Mexicano. En el 2019, Olguín-López y colaboradores reportaron la expresión diferencial de proteínas relacionadas a exocitosis, homeostasis de calcio, organización de citoesqueleto y toxinas en el proteoma soluble de especímenes *M. alcornis* que habían sido sometidos a estrés térmico por efecto del fenómeno de “El Niño 2015-2016”. Por otra parte, Hernández-Elizárraga y colaboradores reportaron, en especímenes blanqueados *in situ* de *M. complanata*, la expresión diferencial de 35 proteínas, de las cuales se lograron identificar 15, incluyendo: 2 proteínas de metabolismo primario, 1 proteína de homeóstasis de calcio, 1 de homeostasis redox, 1 de exocitosis, 1 de citoesqueleto, 1 de señalización, 2 de reparación del ADN y 1 de respuesta al estrés. Cinco de las proteínas presentaron estructuras primarias similares a toxinas. Nuestro grupo de estudio también logró estandarizar la técnica para la obtención del proteoma total de *M. complanata*. En dicho estudio, se obtuvieron 48 spots en geles bidimensionales de poliacrilamida. De manera preliminar, se lograron identificar 25 secuencias de aminoácidos empleando cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas; en esta identificación se encontraron proteínas que pertenecían a la fracción soluble y a la fracción insoluble de *M. complanata* (Alcantar-Orozco, 2020).

A pesar de que dichos estudios aportaron información sumamente valiosa que han permitido mejorar el entendimiento del fenómeno del blanqueamiento, aún queda un amplio campo por explorar con respecto a las consecuencias del estrés térmico sobre el proteoma de los cnidarios constructores de arrecifes. De hecho, a la fecha, no se ha publicado ningún estudio proteómico de los efectos del estrés térmico responsable del blanqueamiento en el proteoma total de un hidrozoo. En este contexto, se planteó el presente proyecto de investigación que tiene como objetivo analizar el impacto del estrés producido por el calentamiento global sobre el proteoma total del holobionte *M. complanata* a fin de comprender la respuesta celular de estos organismos holobiontes ante el estrés térmico. Se espera que los resultados derivados de este trabajo permitirán conocer si existe alguna relación filogenética o similitud entre las respuestas de los cnidarios constructores de arrecifes pertenecientes a las clases Anthozoa e Hydrozoa. Los hallazgos de esta investigación posibilitarán además, la elaboración de un modelo integral de los efectos del estrés térmico responsable del blanqueamiento sobre los procesos celulares de supervivencia de los organismos del género *Millepora*. Finalmente, de igual manera, se obtendrá información que contribuirá a proponer estrategias que contribuyan a la conservación de estos organismos.

4. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el efecto a nivel proteómico del estrés térmico responsable del blanqueamiento de arrecifes coralinos sobre los procesos celulares de supervivencia del holobionte del *M. complanata*?

5. HIPÓTESIS

El estrés térmico, derivado del calentamiento global, provoca cambios en la expresión de proteínas involucradas en procesos celulares, tales como el metabolismo primario, la exocitosis, la homeostasis redox, la respuesta al estrés, la homeostasis de calcio, la biosíntesis de toxinas, la reparación de ADN y mecanismos de señalización celular en el holobionte *M. complanata*.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo General

Determinar el efecto del estrés térmico, ocasionado por el calentamiento global, sobre los procesos celulares de supervivencia del holobionte del “coral de fuego” *M. complanata*, mediante un análisis proteómico comparativo.

6.2 Objetivos específicos

- 1.- Obtener, a partir de poblaciones no clonales, especímenes en condiciones de no blanqueamiento y blanqueamiento del holobionte *M. complanata*.
- 2.- Obtener el proteoma total a partir de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata*.
- 3.- Cuantificar la concentración de proteínas totales presentes en los proteomas totales obtenidos a partir de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata*.
- 4.- Determinar la identidad de las proteínas contenidas en los proteomas totales de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata*, mediante un sistema de cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas.
- 5.- Realizar el análisis bioinformático del proteoma total de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata* y asignar la anotación funcional de las proteínas asociadas a los procesos de supervivencia de este cnidario.
- 6.- Proponer un modelo integral de los efectos del estrés térmico responsable del blanqueamiento sobre el proteoma total del holobionte del “coral de fuego” *M. complanata*.

7. MATERIALES Y MÉTODOS

7.1 Material de estudio

- Fragmentos de holobiontes de *M. complanata* no blanqueado y blanqueado *in situ*.

7.2 Equipos

- Sistema LC-MS (Liquid Chromatography-Mass Spectrometry) compuesto de una bomba de nanoflujo EASY-nLC II (Thermo-Fisher Co.; San Jose, CA, USA) acoplado a un espectrómetro de masas LTQ-Orbitrap Velos (Thermo-Fisher Co., San Jose, CA, USA) con fuente de ionización tipo nano-electrospray (ESI).

7.3 Métodos

7.3.1 Obtención de especímenes del holobionte *M. complanata*

La recolección de especímenes de *M. complanata* se realizó en la zona denominada "La bocana chica", dentro del Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, Quintana Roo, México, durante los años 2015 y 2016 (Permiso no. PFP/DGOPA-139/15). Los fragmentos fueron obtenidos con cincel y martillo, y la recolección se efectuó mediante inmersiones de buceo a profundidades de 4 a 6 m por técnicos especializados del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM (ICMyL). Posteriormente, los especímenes fueron sumergidos en nitrógeno líquido y trasladados al Laboratorio de Investigación Química Farmacológica de Productos Naturales de la Universidad Autónoma de Querétaro para los análisis proteómicos.

7.3.2 Extracción del proteoma total de los especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata*

Se recolectaron fragmentos de hidrocorales no blanqueados y blanqueados, previamente pesados, y se colocaron en una caja de Petri estéril a 4 °C. A continuación, se añadió la solución de extracción Tris-HCl (Tris 50 mM, NaCl 0.1 M, EDTA 5 mM, β -mercaptoetanol 20 mM, ajustada a pH 7.5 con HCl) y se procedió a raspar la superficie de los fragmentos utilizando un rayador de vidrio Dremel Engraver. Los extractos obtenidos se recuperaron en la caja de Petri y se

centrifugaron a 10,000 g durante 40 min a 4 °C para precipitar el exceso de CaCO₃ y los componentes celulares de mayor tamaño. Los sobrenadantes se filtraron posteriormente usando acrodiscos Titan 3 NYLON de 0.45 µm y los filtrados se liofilizaron hasta eliminar completamente el agua. Los liofilizados se resuspendieron en 1 mL de agua destilada y desionizada para su posterior diálisis, realizada con membrana de 3 kDa durante 24 h, cambiando el agua cada 6-8 h. Finalmente, las soluciones dializadas se liofilizaron nuevamente y los liofilizados resultantes se almacenaron a -70 °C.

7.3.3 Análisis de los proteomas obtenidos a partir de especímenes no blanqueados y blanqueados del holobionte *M. complanata* mediante cromatografía de líquidos acoplada a espectrometría de masas.

A) Preparación de las muestras

Los proteomas de los especímenes de *M. complanata*, tanto blanqueados como no blanqueados, fueron resuspendidos en un 0.1% de RapiGest SF (Waters) en un tampón de bicarbonato de amonio a 50 mM (Sigma). Las muestras proteómicas se redujeron utilizando 10 mM de ditiotreitól durante 45 minutos a 60 °C y se alquilaron durante 30 minutos con 55 mM de yodoacetamida a temperatura ambiente en oscuridad. La digestión proteica se realizó durante la noche a 37 °C utilizando tripsina de grado para espectrometría de masas (Promega) en una proporción proteína/enzima de 50:1. Las sales fueron eliminadas de las muestras mediante el uso de un cartucho Sep-Pak C18 Vac de 1 cc (Waters) y, finalmente, las muestras fueron acidificadas con un 0.1% de ácido fórmico.

B) Cromatografía de líquidos acoplado a MS/MS

El análisis mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem se realizó en un sistema Dionex Ultimate 3000 RSLC nano, conectado a un espectrómetro de masas Orbitrap Fusion Lumos Tribrid (Thermo Scientific). Los péptidos digeridos se disolvieron en metanol y se cargaron en una columna empacada manualmente (15 cm de longitud, 1.9 µm de diámetro interno, empacada con Reprosil-Pur 120 C18 [Dr. Maisch]) utilizando un gradiente de 2-60% de solvente B (98% ACN, 2% H₂O y 0.1% FA) y solvente A (98% H₂O, 2% ACN y 0.1%

FA) durante 60 minutos a una velocidad de flujo de 400 nL/min. El espectrómetro de masas se operó en modo de adquisición dependiente de datos (DDA) y se adquirieron escaneos completos de MS en un rango de 350 a 1600 m/z, con una resolución de 60,000 a m/z 200.

C) Búsqueda en bases de datos (UniProt, NCBI y Swiss Prot) e identificación de proteínas.

Los archivos de espectrometría de masas en crudo fueron procesados utilizando Sequest (Thermo Fisher Scientific; versión IseNode en Proteome Discoverer 1.4.1.14) y X! Tandem [The GPM, thegpm.org; versión X! Tandem Alanine (2017.2.1.4)]. Todos los archivos en formato Fasta y las bases de datos se obtuvieron a partir de las secuencias de *Millepora* contenidas en UniProtKB. Se configuró Sequest para buscar en las bases de datos uniprot-Millepora-2022.09.09.FASTA y uniprot-millepora-2023.02.20.FASTA, asumiendo la digestión con tripsina. X! Tandem se configuró para buscar también en una base de datos concatenada inversa de *Millepora* UniProt 2023, asumiendo igualmente la digestión con tripsina. Todos los archivos fasta se incluyen en la información suplementaria. Los parámetros de búsqueda de Sequest y X! Tandem se establecieron con una tolerancia de masa del ion progenitor de 20 ppm y una tolerancia de masa del ion fragmento de 0.6 Da. La carbamidometilación de cisteína fue especificada como modificación fija en Sequest y X! Tandem. La oxidación de metionina y la desamidación de asparagina y glutamina se establecieron como modificaciones variables en Sequest y X! Tandem, mientras que las modificaciones Glu->piro-Glu en el N-terminal, pérdida de amoníaco en el N-terminal y Gln->piro-Glu en el N-terminal se especificaron como modificaciones variables en X! Tandem.

D) Criterios para la identificación

El software Scaffold (versión 5.2.0, Proteome Software Inc.) se empleó para validar las identificaciones de péptidos y proteínas basadas en MS/MS. Las identificaciones de péptidos fueron aceptadas si presentaban una probabilidad superior al 87.0%, asegurando así una tasa de descubrimiento falso (FDR) inferior al 5.0%. El programa Percolator fue utilizado para estimar la probabilidad de error posterior (es decir, la probabilidad de que una identificación de péptido sea correcta) según lo

reportado por Käll et al., 2008, y las probabilidades de los péptidos fueron asignadas mediante el algoritmo Peptide Prophet. Las identificaciones de proteínas se consideraron aceptables si se establecían con una probabilidad superior al 99.0% y contenían al menos dos péptidos identificados. Las probabilidades de las proteínas fueron calculadas por el algoritmo Protein Prophet (Nesvizhskii et al., 2003). Las proteínas que compartían péptidos similares y no podían distinguirse únicamente mediante el análisis MS/MS se agruparon siguiendo los principios de parsimonia.

E) Análisis estadístico

Los datos fueron analizados utilizando el método de conteo espectral en combinación con análisis estadístico univariado y multivariado. En el conteo espectral, se compara y correlaciona directamente el número de espectros MS/MS identificados de una proteína con su abundancia. Para lograr una detección precisa y confiable de los cambios en las proteínas dentro de mezclas complejas, se requiere la normalización junto con un análisis estadístico de los datos de conteo espectral (Colinge et al., 2005; Liu et al., 2004).

Dado que los datos no estaban distribuidos uniformemente, se escalaron a su nivel máximo para el análisis univariado y se normalizaron posteriormente para el análisis multivariado mediante una función de transformación logarítmica generalizada (glog), definida como

$$glog(y) = \log(y + \sqrt{y^2 + \lambda})$$

donde y representa los datos de conteo y λ es un parámetro ajustable que mejora el ajuste de la transformación. El valor de λ generalmente se determina por prueba y error; en este caso, un valor de 1×10^{-9} resultó adecuado según los datos obtenidos. Enfoques similares que emplean esta transformación estabilizadora de la varianza para la expresión génica se encuentran en otros estudios (Durbin et al., 2002; Huber et al., 2002).

El análisis univariado consistió en la aplicación de la prueba exacta de Fisher y pruebas de permutación a los datos. En cuanto a los análisis multivariados, la expresión proteica se evaluó utilizando tres métodos: análisis de correlación por pares, un método quimiométrico no supervisado (análisis de componentes

principales, PCA) y otro supervisado (análisis discriminante por mínimos cuadrados parciales, PLS-DA). Estos dos últimos son algoritmos de análisis multivariado (MVA) que emplean variables latentes. El MVA permite comparar patrones y detectar características relevantes que distinguen entre muestras (PCA) y entre clases de muestras (PLS-DA); en este caso, los grupos no blanqueados y blanqueados (Ellinger et al., n.d.; Worley & Powers, n.d.). Como parte de las técnicas de análisis supervisadas, el PLS-DA emplea la pertenencia a clases para maximizar la discriminación entre grupos en función de un efecto biológico particular.

Los resultados del MVA se validaron cruzando el algoritmo con segmentos predefinidos en los datos, utilizando un método de persianas venecianas con siete divisiones y un grosor de una persiana. Una vez determinadas las variables latentes responsables de la discriminación, su influencia relativa en el análisis se evaluó mediante los valores de importancia de la variable en la proyección (VIP), con el fin de identificar biomarcadores significativos (O'Sullivan et al., 2013). El software PLS-Toolbox 9.0 (Eigenvector Research, Inc.) se utilizó para los análisis quimiométricos de PCA y PLS-DA. El análisis estadístico univariado se llevó a cabo en RStudio 2022.07.2 (<https://www.r-studio.com/es/>) y Matlab versión R2019b (The MathWorks, Inc.) con la extensión Permutation Test (<https://github.com/lrkrol/permutationTest>). El análisis de redes, que representa una estructura o gráfico de un grupo de objetos y las relaciones entre ellos, se realizó con el software Cytoscape 3.10.1 (<https://cytoscape.org>) para proporcionar una comprensión más profunda de la estructura y las interacciones en el proteoma utilizando las proteínas significativas y sus correlaciones.

8. Resultados y Discusiones

8.1 Recolecta de especímenes.

Muestras representativas de *M. complanata* en condiciones de blanqueamiento y no blanqueamiento fueron obtenidas a partir de las crestas de dos colonias: una colonia blanqueada y una colonia no blanqueada. Se tomaron un total de 10 fragmentos de cada una de las condiciones y se procedió a realizar la obtención del proteoma de cada fragmento. Las concentraciones de proteína en los proteomas de especímenes en condiciones de no blanqueamiento tuvieron en promedio 38.96 ± 0.84 μg de proteína/mg de liofilizado, mientras que los proteomas de especímenes en condiciones de blanqueamiento tuvieron en promedio 38.01 ± 1.37 μg de proteína/mg de liofilizado.

8.2 Electroforesis unidimensional de los proteomas obtenidos de especímenes no blanqueados y blanqueados de *M. complanata*.

Los perfiles proteómicos de los proteomas obtenidos se presentan en la Figura 9. A través del análisis electroforético de los proteomas de hidrocorales blanqueados y no blanqueados se identificaron diversas bandas de proteínas con pesos moleculares que varían entre 6.5 kDa y 200 kDa. Cabe destacar que la mayor parte de las proteínas se encuentran dentro del rango de masa molecular comprendido entre 21.5 kDa y 97.4 kDa.

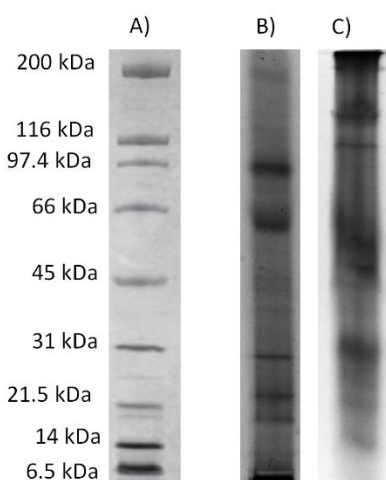


Figura 9. Análisis SDS-PAGE (18% poliacrilamida) de proteomas de *M. complanata*. A) Marcador de peso molecular (6,5 a 200 kDa; B) proteoma de *M. complanata* no blanqueado; C) proteoma de *M. complanata* blanqueado.

8.3 Análisis de los proteomas obtenidos de muestras blanqueadas y no blanqueadas del holobionte de *M. complanata* mediante cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas.

Se empleó el análisis de espectrometría de masas en tándem acoplada a cromatografía líquida (LC-MS) para realizar una comparación exhaustiva de los proteomas de especímenes de *M. complanata* blanqueados y no blanqueados. A través de este enfoque de análisis proteómico, logramos identificar un total de 1030 proteínas. Posteriormente, se realizó un filtrado de aquellas proteínas que no cumplían con los criterios de control, obteniendo así 639 proteínas. Luego, para refinar aún más el conjunto de datos y eliminar posibles identificaciones falsas positivas de péptidos, se aplicó un umbral de FDR del 5 %, lo que resultó en 102 proteínas biológicamente relevantes. Estas proteínas presentaron un amplio rango de pesos moleculares, que oscilaron entre los 9 y los 261 kDa, tanto en los proteomas de hidrocorales no blanqueados como en los blanqueados. La mayor proporción de proteínas se localizó en el rango de 100 a 200 kDa, con un total de 16 proteínas identificadas en dicho intervalo (Figura 10).

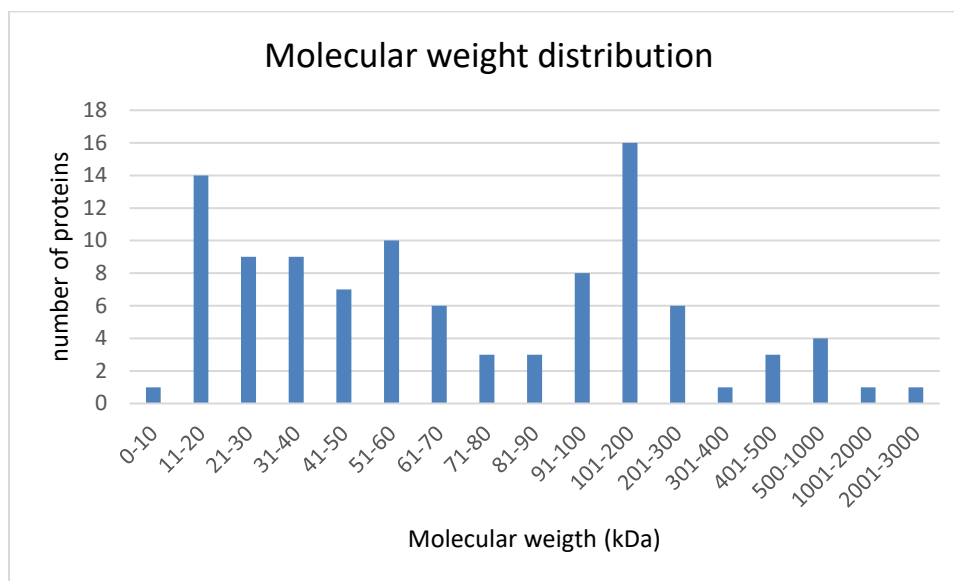


Figura 10. Distribución del peso molecular de las 102 proteínas identificadas en los proteomas de especímenes de *M. complanata* blanqueados y no blanqueados.

8.4 Análisis estadístico multivariado y análisis de expresión diferencial

Para refinar la lista de 102 proteínas e identificar aquellas con abundancia diferencial estadísticamente significativa, proporcionando una comprensión más detallada de la respuesta molecular de *M. complanata*, se aplicó una combinación de análisis estadísticos univariados y multivariados, como se describe a continuación.

8.4.1. Análisis univariado

A) Pruebas exactas de Fisher

Se realizó una prueba exacta de Fisher entre los grupos de hidrocorales no blanqueados y blanqueados para proporcionar un valor de p , corregido por la hipótesis de pruebas múltiples, asociado a si la categoría de anotación está enriquecida en una porción de los datos, en este caso proteínas significativamente reguladas, en lugar de la proporción esperada en relación con el resto del proteoma. De las 102 proteínas, 26 mostraron $p < 0.05$, mientras que 41 mostraron $p < 0.10$. Sin embargo, dado que esta prueba asume independencia de las observaciones dentro de cada grupo y los datos altamente correlacionados a menudo violan esta suposición, lo que lleva a valores p inexactos, se debe tener precaución al usar solo este criterio para seleccionar las proteínas que marcan la diferencia entre los

estados de blanqueamiento de los grupos. Para corregir las pruebas múltiples, se aplicó una corrección de Bonferroni a las pruebas exactas de Fisher.

B) Pruebas de permutación

Dado que no se observaron distribuciones normales de los datos, se llevaron a cabo pruebas de permutación univariadas entre los grupos de muestras para evaluar las diferencias en las medias y los tamaños del efecto de las comparaciones estadísticas. Se realizaron un total de 6435 permutaciones para cada proteína. Para simplificar, solo se discuten los resultados de las proteínas finales seleccionadas después de los análisis univariados y multivariados en la sección de análisis de redes.

8.4.2. Análisis multivariados

A) Análisis de correlación por pares

Se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para explorar los datos de expresión proteica y comprender mejor las relaciones entre las diferentes proteínas y sus posibles roles en los procesos biológicos. Se observaron principalmente correlaciones positivas altamente significativas entre proteínas. Adicionalmente, se encontraron algunas correlaciones negativas significativas. Dado que la matriz de correlación tiene 102×102 comparaciones, es decir, 5151 comparaciones por pares entre diferentes proteínas, la significancia estadística de las correlaciones también se estableció para las proteínas finales seleccionadas con base en los resultados de los análisis univariados y multivariados, los cuales se presentan posteriormente en la sección de análisis de redes.

B) Análisis PCA

Debido a la estructura altamente correlacionada de los datos, se identificaron fuentes independientes de variación mediante un análisis PCA. Después de la reducción de dimensionalidad, se seleccionó un modelo de dos componentes principales según los valores de RMSEC (error cuadrático medio de calibración = 3.3530) y RMSECV (error cuadrático medio de validación cruzada = 4.0996), que explicaron el 84.80% de la variabilidad de los datos. En consecuencia, se identificaron dos principales fuentes de variación: una principal, que explica el

77.00% de la variabilidad, y otra menor, que representa solo el 7.80%. No se detectaron valores atípicos en el gráfico reducido de Hotelling T^2 vs residuos Q . La Figura 11 muestra que, aunque se observa cierta distinción entre ambos grupos de hidrocorales en la dirección de 90° del gráfico de puntuaciones, no están completamente diferenciados. Dado que el algoritmo PCA se centra en la variabilidad total de los datos, que no está necesariamente relacionada por completo con las diferencias entre los estados de blanqueamiento de las muestras, se aplicó un algoritmo supervisado para magnificar la variabilidad de interés.

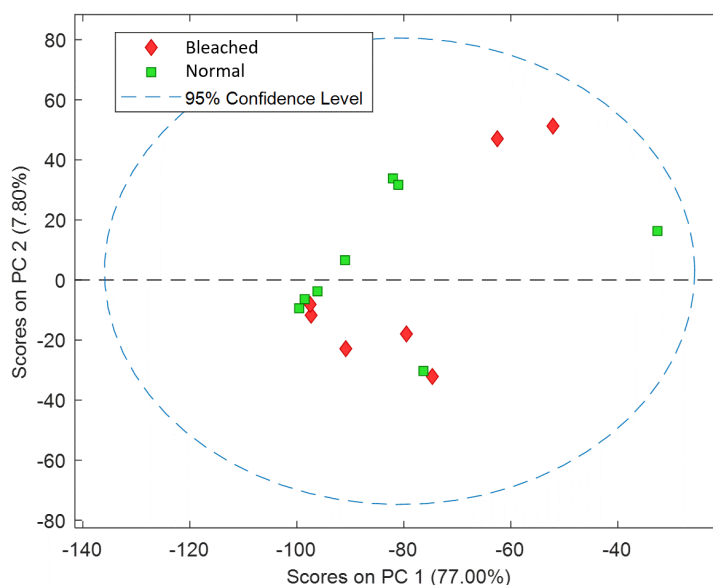


Figura 11. Gráfico de puntuaciones de un modelo PCA de dos componentes que muestra ambos grupos de muestras.

C) Análisis PLS-DA

Una vez normalizados los datos, se aplicó un análisis PLS-DA (Partial Least Squares Discriminant Analysis), seleccionándose un modelo de tres variables latentes según el error medio de clasificación en calibración (0.0000) y validación cruzada (0.2053). Este modelo explicó el 85.56% de la variabilidad en la matriz X (expresión proteica) y el 81.56% en la matriz Y (categoría de clasificación). Al igual que en el PCA, no se detectaron valores atípicos en el gráfico reducido de Hotelling T^2 vs residuos Q . La Figura 12 muestra el gráfico de puntuaciones de las tres variables latentes. Se observa una separación clara entre los dos grupos de

muestras. Cada variable latente explicó el 22.68%, 57.59% y 5.29% de la varianza, respectivamente.

Además, la capacidad del modelo para diferenciar ambos grupos de muestras se corroboró mediante el área bajo la curva (AUC) de la curva ROC (receiver operating characteristic), que ilustra la capacidad de discriminación de un sistema de clasificación binaria. Los valores obtenidos de AUC fueron 1.0000 (validación) y 0.8750 (validación cruzada), reflejando claramente la adecuación del modelo. La sensibilidad y especificidad del modelo final durante la calibración alcanzaron valores de 1.000, mientras que en la validación cruzada fueron 0.714 y 0.875, respectivamente.

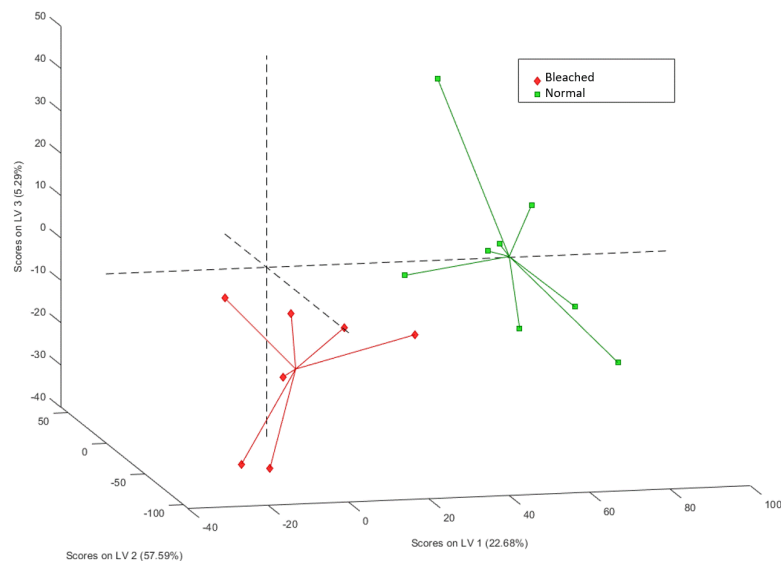


Figura 12. Gráfico de puntuaciones de un modelo PLS-DA de tres variables latentes que muestra la distinción entre ambos grupos de muestras.

El gráfico de las variables latentes muestra las relaciones entre las variables originales y las nuevas. Sin embargo, dado que cada variable latente es una combinación lineal de todas las variables originales y no todas contribuyen de igual manera, se redujo el número de variables originales que contribuyen al modelo según sus valores VIP (de sus siglas en inglés: Variable Importance in Projection). El valor VIP de una variable corresponde a la suma ponderada de las correlaciones

al cuadrado entre los componentes de PLS-DA y la variable original, donde los pesos reflejan el porcentaje de variación explicado por cada componente del modelo PLS-DA. Como se muestra en la Figura 13, se seleccionaron un total de 35 proteínas según la práctica estándar ($VIP > 1$; Umetrics 2005, Cho et al. 2008).

No todas las proteínas que mostraron diferencias significativas en la prueba univariada entre los hidrocorales blanqueados y no blanqueados tuvieron valores $VIP > 1$. Sin embargo, no es sorprendente que los resultados de los análisis univariados y multivariados no coincidan. En general, los métodos multivariados se centran en las relaciones entre las variables y su comportamiento orquestado o complementario en los procesos biológicos, mientras que los métodos univariados evalúan cambios independientes en los niveles de las variables. Por estas razones, se recomienda el uso de ambos métodos (Saccenti et al., 2014). Al comparar las proteínas seleccionadas en el análisis multivariado con las del univariado, se encontraron 16 coincidencias al usar $p < 0.05$ en la prueba exacta de Fisher (45.70% del total evaluado en el análisis multivariado) y 23 coincidencias al usar $p < 0.10$ (65.70% del total evaluado en el análisis multivariado). Dado que las proteínas no actúan de manera independiente y su expresión está influenciada por relaciones complejas entre su presencia y cantidad, el hecho de que un gran porcentaje de las proteínas determinadas por PLS-DA fueran significativas con $p < 0.10$ en el análisis univariado es un buen indicador de la validez de los métodos aplicados. En consecuencia, se estableció una selección final de 52 proteínas al combinar aquellas con $VIP > 1$ y $p < 0.10$.

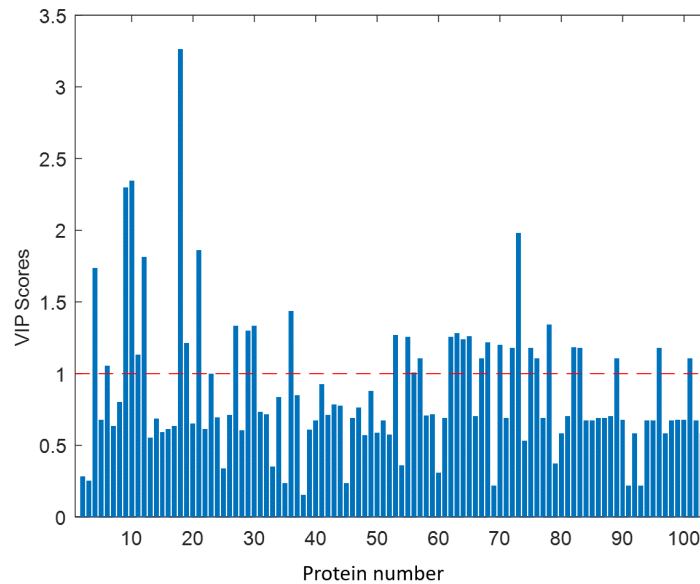


Figura 13. Gráfico de puntuaciones VIP para el modelo final de clasificación en el análisis PLS-DA, donde se muestran los valores VIP de cada proteína.

8.4.3. Análisis de redes

El análisis de redes en proteómica ofrece varias ventajas para comprender las complejas interacciones dentro de los sistemas biológicos. Por un lado, permite una visión holística al considerar no solo proteínas individuales, sino también sus interacciones. Esto facilita la comprensión de cómo las proteínas trabajan en conjunto dentro de vías y redes para desempeñar diversas funciones celulares. Por otro lado, el análisis de redes puede identificar proteínas clave (nodos) e interacciones (aristas) dentro de una red, lo que ayuda a reconocer componentes fundamentales en procesos biológicos y posibles biomarcadores o dianas terapéuticas.

Como se mencionó anteriormente, se realizó una selección final de 52 proteínas basada en análisis univariantes y multivariantes. Para reducir la cantidad de relaciones y, por ende, la complejidad de la red, se filtraron las 1326 correlaciones por pares entre estas 52 proteínas según su significancia al 95% de confianza. Este procedimiento dio lugar a un conjunto final de 219 correlaciones significativas, representadas gráficamente en la Figura 14.

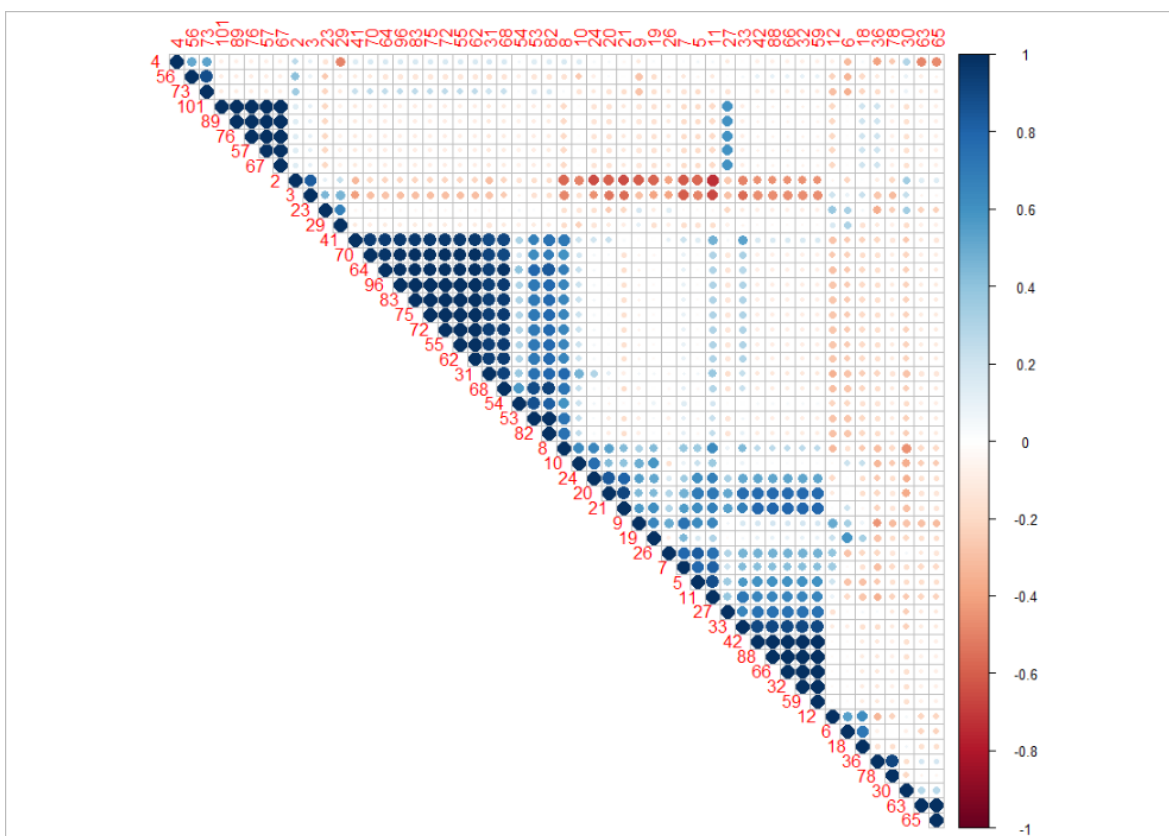


Figura 14. Análisis de correlación por pares de la expresión proteica final seleccionada. La barra de colores y el tamaño de los puntos indican la magnitud y el signo de las correlaciones.

Como se observa, la estructura de correlación previamente discutida es evidente, con clusters de distintos tamaños que agrupan proteínas altamente relacionadas. Se identificaron muchas correlaciones positivas y algunas negativas. Estas 219 correlaciones significativas se emplearon para definir las aristas de la red, mientras que las 52 proteínas seleccionadas constituyeron los nodos. La Figura 7 muestra la red proteómica del sistema, mientras que la Tabla 2 presenta un resumen estadístico de la red con parámetros que caracterizan sus propiedades estructurales.

Estos parámetros ofrecen información valiosa sobre la topología, conectividad y comportamiento de la red. Los componentes conexos representan grupos aislados de nodos dentro de la red que no están conectados a nodos de otros grupos. De manera interesante, entre los cinco grupos observados, el más grande incluye 43 de las 52 proteínas (82.7% del total), lo que coincide con la principal fuente de

variación determinada en el análisis de componentes principales (PCA por sus siglas en inglés).

En la Figura 15, la forma de los nodos refleja su relevancia en los análisis uni- y multivariantes: los nodos en forma de diamante representan proteínas significativas solo en el análisis univariante, los cuadrados aquellas significativas solo en el análisis multivariante y las elipses las proteínas significativas en ambos. Como se observa, las proteínas identificadas en el análisis univariante están distribuidas en diferentes grupos dentro del grupo principal, mientras que las identificadas exclusivamente en el análisis multivariante tienden a formar componentes conexos distintos. Además, los colores de los nodos indican los cambios en los niveles de las proteínas: los nodos en azul representan proteínas con niveles aumentados, y los nodos en verde aquellas con niveles disminuidos al comparar el grupo no blanqueado con el grupo blanqueado. Se observa que estos dos niveles están claramente diferenciados en grupos dentro del componente principal y se encuentran conectados a través de las proteínas marcadas como 2, 3, 5 y 8, que actúan como puentes entre ambos grupos totalmente conectados.

El tamaño de los números en los nodos es proporcional al valor absoluto de su tamaño de efecto (Tabla 2). Se nota que las proteínas con un tamaño de efecto grande fueron identificadas por ambos métodos, aquellas con tamaño de efecto medio solo en el análisis univariante y las de menor efecto principalmente en el análisis multivariante. Las aristas de la red representan correlaciones entre proteínas: las líneas continuas azules indican correlaciones positivas, mientras que las líneas rojas indican correlaciones negativas. Se observa que la dirección de proporcionalidad concuerda con los cambios en los niveles de las proteínas.

Las correlaciones positivas suelen indicar que dos proteínas dentro de una vía trabajan juntas para lograr una función biológica común. Cuando una proteína se regula al alza, puede estimular o facilitar la regulación positiva de la otra, sugiriendo que ambas participan en el mismo proceso biológico y podrían actuar de manera sinérgica. También pueden reflejar funciones complementarias dentro de una vía o ser resultado de regulaciones por factores upstream comunes. Estas correlaciones también pueden indicar la presencia de mecanismos de retroalimentación dentro de

una vía, donde la regulación de una proteína afecta la expresión de otra, contribuyendo a la homeostasis o modulación de una respuesta biológica. Además, pueden representar mecanismos de amplificación en vías biológicas o redundancia funcional, donde varias proteínas con funciones superpuestas garantizan la estabilidad de la vía.

Por otro lado, las correlaciones negativas pueden indicar que las proteínas tienen funciones opuestas dentro de una misma vía biológica, donde una actúa como activador y la otra como inhibidor. También pueden sugerir relaciones regulatorias directas o indirectas, donde una proteína controla la expresión de la otra. En algunos casos, las correlaciones negativas reflejan mecanismos compensatorios, donde la disminución en la expresión de una proteína se compensa con el aumento de otra para mantener la actividad de la vía o la homeostasis. Estas correlaciones también pueden indicar interacciones complejas dentro de una vía, reflejando bucles de retroalimentación y redes regulatorias intrincadas. Finalmente, las correlaciones negativas resaltan la plasticidad y adaptabilidad de los sistemas biológicos, permitiendo ajustes finos en la expresión proteica en respuesta a cambios ambientales o fisiológicos.

Los nodos están coloreados según el nivel de expresión proteica en las pruebas univariadas por permutación (las proteínas con mayor abundancia en muestras blanqueadas están en azul, mientras que las de menor abundancia están en verde). La forma de los nodos indica su significancia en los análisis uni- o multivariados: las proteínas significativas solo en el análisis univariado se representan con diamantes, aquellas solo en el multivariado con cuadrados, y las significativas en ambos con elipses. Los bordes están coloreados según el signo de las correlaciones entre los datos de conteo de proteínas: las líneas azules representan correlaciones directas (proporcionales) y las líneas rojas, correlaciones inversas. El tamaño del número que identifica cada proteína es proporcional al valor absoluto de su tamaño de efecto (Tabla 2).

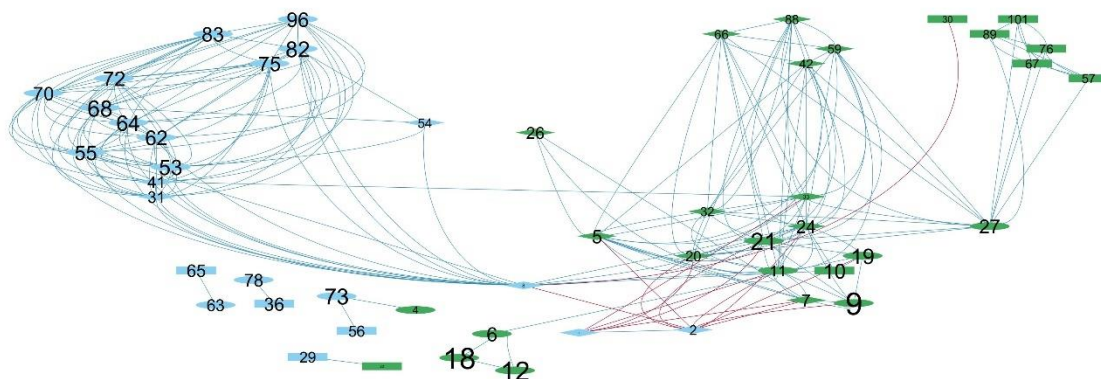


Figura 15. Análisis de redes de datos proteómicos.

Tabla 2. Propiedades estructurales que caracterizan la red de proteínas mostrada en la Figura 15.

Número de nodos	52
Número de aristas	219
Número promedio de vecinos	9.953
Diámetro de la red	5
Radio de la red	3
Longitud característica del camino	2.480
Coefficiente de agrupamiento	0.823
Densidad de la red	0.237
Heterogeneidad de la red	0.476
Centralización de la red	0.251
Componentes conectados	5

8.5 Anotación funcional de las proteínas y ontología de genes

El análisis de anotación funcional y ontología génica (GO) de las 102 proteínas proporcionó información sobre sus roles biológicos. La Figura 16 representa la distribución de los términos GO asignados a las proteínas identificadas. El eje x indica el número de términos GO asignados por proteína, mientras que el eje y muestra la frecuencia de proteínas dentro de cada categoría. La distribución resalta la diversidad de anotaciones funcionales, con la mayoría de las proteínas asociadas a múltiples términos GO, lo que refleja su participación en diversos procesos biológicos.

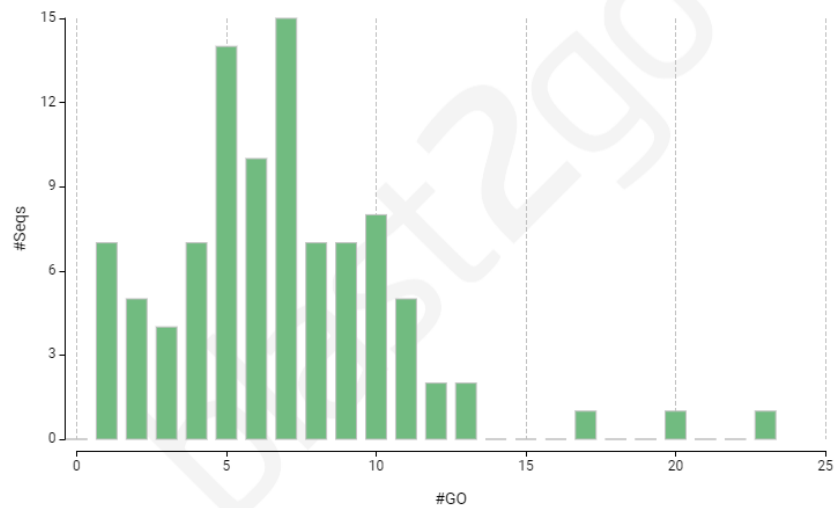


Figura 16. Histograma de la distribución del mapeo de GO.

La Figura 17 ilustra la distribución de similitud de secuencias de las proteínas identificadas, medida como el porcentaje de coincidencias positivas a lo largo de la alineación. El eje x representa el porcentaje de similitud en la alineación, mientras que el eje y indica el número de coincidencias. La distribución muestra una fuerte concentración de alineamientos con alta similitud.

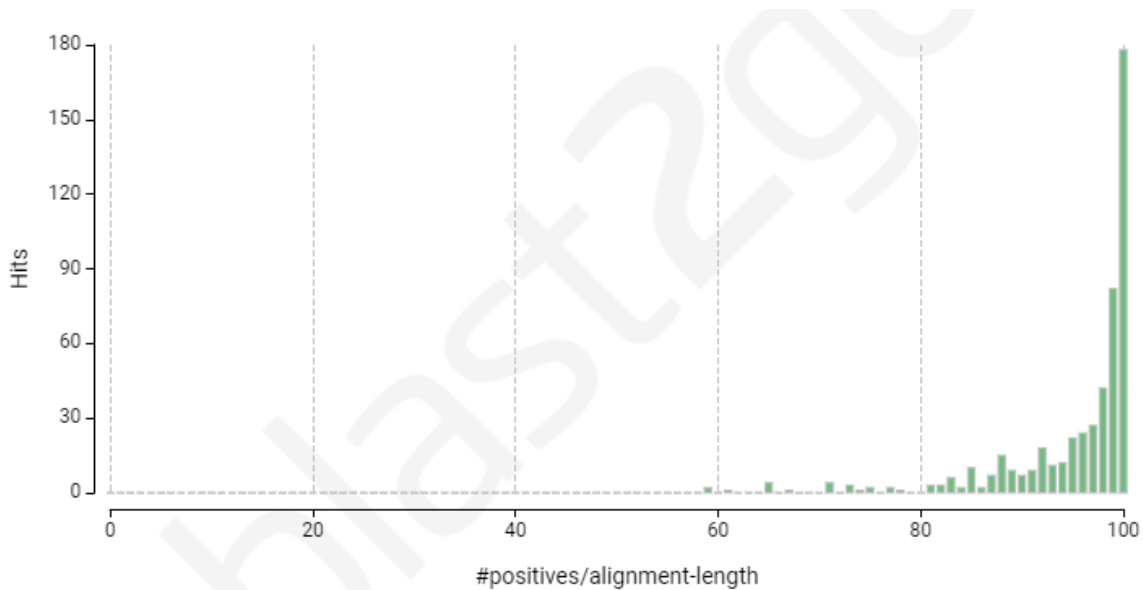


Figura 17. Distribución de similitud de secuencias.

En la Figura 18 se presenta una clasificación jerárquica de GO para Proceso Biológico, ilustrando las relaciones entre las categorías funcionales asociadas a las proteínas identificadas. El análisis resalta procesos clave como la regulación metabólica, los mecanismos de respuesta celular y la biosíntesis de macromoléculas. Los nodos representan distintos procesos biológicos, con categorías más amplias en la parte superior y funciones más específicas en los niveles inferiores. El número de secuencias asignadas a cada proceso se muestra dentro de cada nodo, proporcionando información sobre la distribución funcional del conjunto de datos. El análisis revela una fuerte representación de los procesos celulares, con un énfasis particular en la comunicación celular y el establecimiento de la localización.

La Figura 19 muestra la clasificación jerárquica de GO para Función Molecular, destacando las actividades clave asociadas a las proteínas identificadas. El análisis revela una fuerte representación de funciones de unión y catalíticas, con un énfasis particular en las actividades de hidrolasa y ATPasa. Además, varios nodos relacionados con funciones de unión también son prominentes.

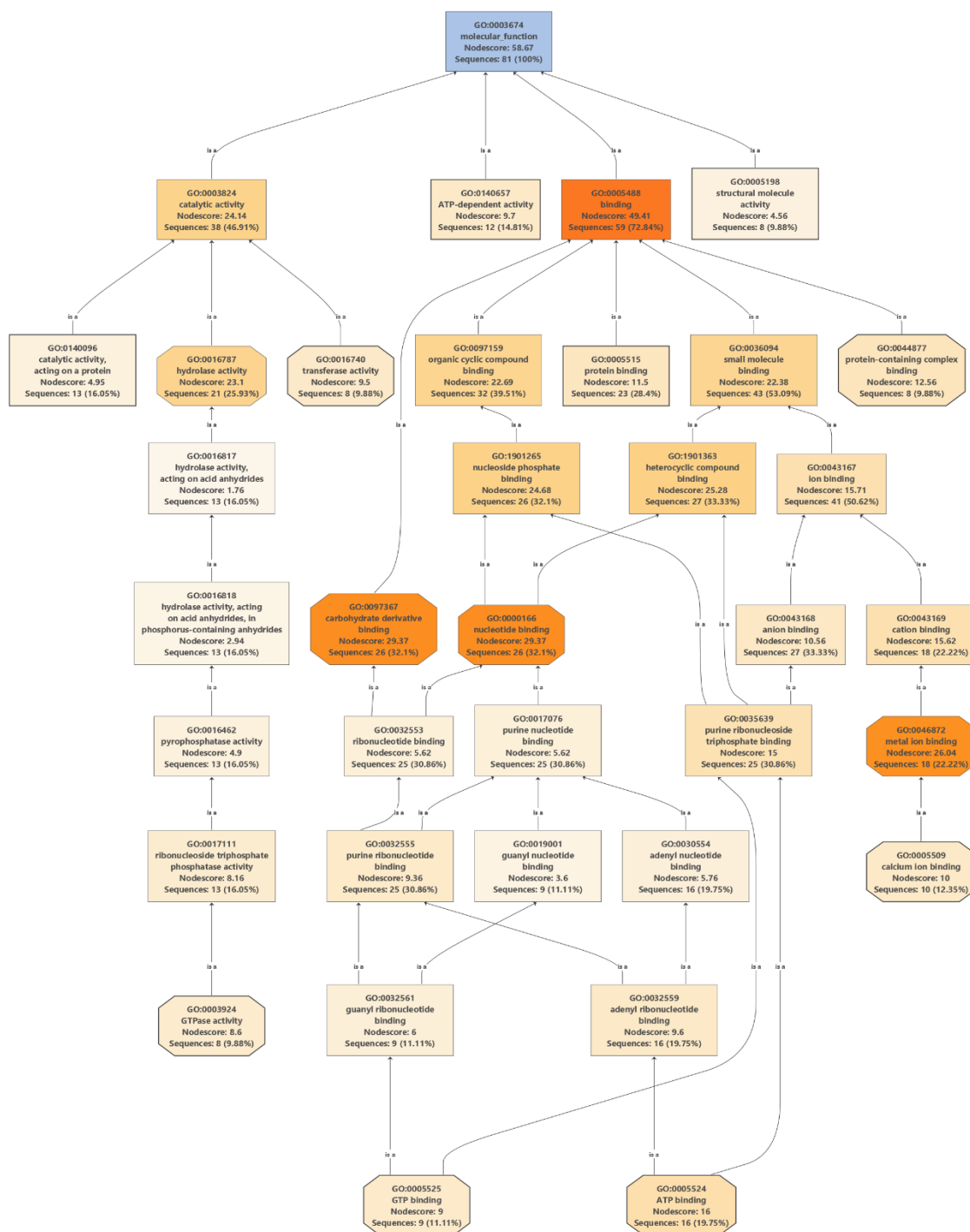


Figura 19. Clasificación jerárquica de GO para Función Molecular.

La Figura 20 presenta la clasificación jerárquica de GO para Componente Celular, destacando la localización subcelular de las proteínas identificadas. El análisis enfatiza una fuerte representación de estructuras intracelulares, con proteínas asignadas principalmente a compartimentos citoplasmáticos, asociados a membranas y relacionados con orgánulos. De manera notable, una proporción significativa de proteínas está vinculada a estructuras anatómicas celulares, orgánulos y el citoesqueleto, lo que sugiere funciones en la integridad estructural y el transporte intracelular.

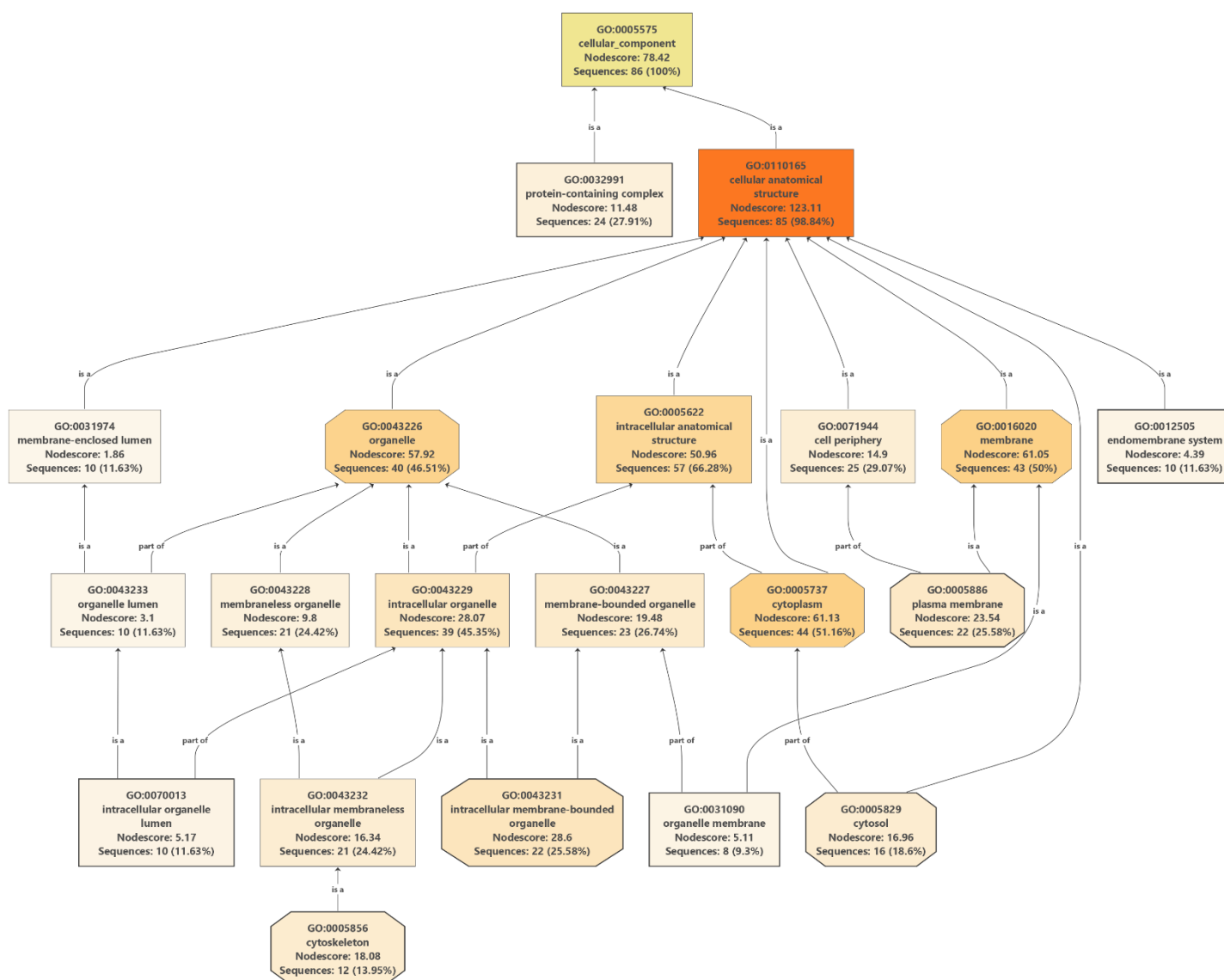


Figura 20. Clasificación jerárquica de GO para Componente Celular.

8.6 Proteínas diferenciales encontradas comparando los proteomas de especímenes no blanqueados y blanqueados de *M. complanata*.

Los resultados obtenidos a partir de los análisis estadísticos uni- y multivariados determinaron que un total de 52 proteínas presentaron una abundancia diferencial al comparar ambos grupos de hidrocorales. En la Tabla 3 se presenta un resumen de los resultados de las diferencias en medias (nivel de proteína) y los tamaños del efecto de las comparaciones estadísticas obtenidos mediante pruebas de permutación. Asimismo, también se incluyen las funciones en diversos procesos celulares a los que estas proteínas se asocian, tales como la biosíntesis de aminoácidos, el metabolismo de carbohidratos, la comunicación celular, el ciclo celular, los componentes del citoesqueleto, la reparación del ADN, los componentes de la matriz extracelular, la modificación de proteínas, la respuesta al choque térmico, la homeostasis redox, la señalización, la transcripción y el transporte. Los valores de tamaño del efecto y su cambio relativo (fold-change en inglés) indican la dirección de la abundancia diferencial de proteínas, donde los valores positivos corresponden a un aumento en los niveles en los especímenes blanqueados y los valores negativos indican una disminución. Los saltos en la numeración corresponden a proteínas que no mostraron una abundancia diferencial significativa y, por lo tanto, no están incluidas.

Tabla 3. Proteínas diferencialmente abundantes en especímenes de *M. complanata* blanqueados por estrés térmico.

No.	Nombre	Numero de acceso	Función	Nivel de proteína ¹	Tamaño de efecto ²	Cambio relativo
1	Actina	A0A3M6U P43	Componente de citoesqueleto	↑	0.5179	0.18
2	Actina	A0A3M6U P81	Componente de citoesqueleto	↑	0.0439	0.02
3	Actina	A0A3M6U H97	Componente de citoesqueleto	↓	-0.385	-0.31

4	Proteína con dominio EF-hand	A0A3M6U SF3	Señalización	↓	-0.714	-1.7
5	Histona H4	A0A3M6U Z06	Transcripción	↓	-0.742	-1.12
6	Proteína con dominio EF-hand	A0A3M6TL A1	Señalización	↓	-0.656	-1.56
7	Proteína de choque térmico 70	Q5FB18	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↑	0.1967	0.42
8	Ubiquitina-60S ribosomal L40	Q93116	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↓	-1.176	-1.79
9	Proteína con dominio tiorredoxina	A0A3M6T9 K8	Homeostasis redox	↓	-0.78	-1.49
10	Tubulina beta	A0A3M6T MY2	Componente de citoesqueleto	↓	-0.571	-1.27
11	Histona H2B	A0A3M6T HD8	Transcripción	↓	-1.001	-2.13
17	Histona H3	A0A3M6T9 26	Transcripción	↓	-1.117	-6.35
18	Proteína similar a la cadena ligera 3C de las proteínas asociadas a microtúbulos 1A/1B.	A0A3M6U 8T6	Componente de citoesqueleto	↓	-0.805	-2.49
19	Disulfuro isomerasa	A0A3M6V 013	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↓	-0.542	-1.52
20	Proteína con dominio de interacción PRKG1	A0A3M6T TF0	Señalización	↓	-0.904	-4.84
22	Tubulina alfa	A0A3M6T AX7	Componente de citoesqueleto	↓	-0.121	-0.25
23	Disulfuro isomerasa	A0A3M6T V91	Modificación de proteínas y respuesta de	↓	-0.672	-2.17

			choque térmico			
25	Cognado de proteína de choque térmico 70	A0A3M6U 177	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↓	-0.624	-3.15
26	Proteína con dominio F5/8 typ C	A0A3M6T A43	Comunicación celular	↓	-0.732	-3.83
28	Proteína con dominio motor de miosina	A0A3M6U ZZ8	Componente de citoesqueleto	↑	0.5668	4.84
29	Proteína sin caracterizar	A0A3M6V 3A1	Desconocida	↓	-0.36	-0.91
30	Peroxisredoxina dependiente de tiorredoxina	A0A3M6U 7L4	Homeostasis redox	↑	0.6057	2.26
31	colágeno	B8V7R6	Componente de matriz extracelular	↓	-0.482	-3.22
32	Proteína de cadena ligera reguladora de miosina con dominio EF-hand	A0A3M6UI 41	Componente de citoesqueleto	↓	-0.214	-0.96
35	Cinasas de proteína serina/treonina TOR	A0A3M6U ZI7	Señalización	↑	0.6923	2.45
40	Proteína con dominio PX	A0A3M6T EA6	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↑	0.6118	2.52
41	Proteína con dominio ZP	A0A3M6U 3D9	Componente de matriz extracelular	↓	-0.482	-2.96
52	Homólogo de proteína 42 de control de la división celular	A0A3M6U BV6	Ciclo celular	↑	0.8021	4.45
53	Isomerasa peptidil- prolil cis-trans	A0A3M6UI N0	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↑	0.4965	3.3

54	proteína Rab-1A	A0A3M6U070	Transporte	↑	0.7684	4.35
55	Proteína con dominio DUF3715	A0A3M6TH31	Transcripción	↑	0.5847	2.89
56	Proteína con dominio de tipo EGF	A0A3M6TYF4	Señalización	↓	-0.482	-3.7
58	Transportador de aminoácidos	A0A3M6TNM3	Transporte	↓	-0.482	-3.22
61	Proteína con dominio Aldedh	A0A3M6UUA9	Homeostasis redox	↑	0.7784	4.35
62	Proteína que contiene un dominio C-terminal de transportador de aminoácidos catiónicos.	A0A3M6UX14	Transporte	↑	0.6237	5.62
63	Proteína con dominio de union Hcy	A0A3M6UI3	Biosíntesis de aminoácidos	↑	0.8106	4.07
64	Fibrocistina-L	A0A3M6UHX3	Señalización	↑	0.6551	5.11
65	Proteína con dominio tipo RZ	A0A3M6TXJ4	Señalización	↓	-0.482	-2.64
66	Proteína con dominio WD repetido	A0A3M6UW24	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↓	-0.482	-3.7
67	Fosfopiruvato hidratasa	A0A3M6UH98	Metabolismo de carbohidratos	↑	0.8544	3.72
69	Proteína sin caracterizar	A0A3M6U169	Desconocida	↑	0.7108	3.79
71	Calreticulina	A0A3M6TB88	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↑	0.7684	3.35
72	Proteína Rab-2A	A0A3M6UCJ4	Transporte	↑	0.837	4.99
74	Proteína con dominio nuclear UBC	A0A3M6UGY3	Modificación de proteínas y respuesta de choque térmico	↑	0.7684	3.35

75	Proteína con dominio TNFR-Cys	A0A3M6U KT4	Señalización	↓	-0.482	-3.7
77	Subunidad 1 del complejo de transcripción CCR4-NOT	A0A3M6T4 M6	Transcripción	↑	0.668	5.94
81	Proteína relacionada con la actina	A0A3M6U DC7	Componente de citoesqueleto	↑	0.8317	3.25
82	Alfa actinina	A0A3M6U 9E3	Componente de citoesqueleto	↑	0.7684	3.85
87	Proteína con dominio PDDEXK_1	A0A3M6T W03	Reparación de ADN	↓	-0.482	-2.64
88	Proteína con dominio PDZ	A0A3M6T V70	Comunicación celular	↓	-0.482	-3.7
95	Proteína tipo Ras	A0A3M6T KM7	Transporte	↑	0.7684	3.35
100	Monooxigenasa inespecífica	A0A3M6U WA6	Homeostasis redox	↓	-0.482	-3.7

Componentes de citoesqueleto

Comenzando con la **actina**, esta resulta ser una familia de proteínas altamente conservada entre organismos eucariontes. Estas proteínas son ampliamente conocidas por su participación en la formación de polímeros lineales denominados microfilamentos o filamentos de actina (uno de los componentes más importantes del citoesqueleto), los filamentos de actina determinan la forma de la superficie de la célula y son necesarios para la locomoción de toda la célula; también provocan que una célula se divida en dos. Los filamentos de actina se encuentran debajo de la membrana plasmática de las células animales proporcionando fuerza y forma a la bicapa lipídica. También forman muchos tipos de proyecciones en la superficie celular. Algunas de ellas son estructuras dinámicas, como los lamelipodios y filopodios que las células utilizan para explorar territorio y moverse. En las plantas, los filamentos de actina impulsan el rápido flujo de citoplasma dentro de las células. Cuando la actina se encuentra en forma de monómero globular libre es denominada actina G, y cuando se encuentra como parte de los filamentos se denomina actina

F, ambas son esenciales para funciones celulares tan importantes como la movilidad y la contracción de la célula durante la división celular (Drazic et al., 2018)

En el presente estudio, identificamos tres isoformas de actina que mostraron abundancia diferencial en hidrocorales blanqueados. La actina es reconocida como un biomarcador clave del blanqueamiento y el estrés térmico (Kenkel et al., 2011; Louis et al., 2017). La expresión diferencial de la actina ha sido previamente reportada en estudios proteómicos dirigidos a evaluar el efecto del estrés térmico y el blanqueamiento en *Pocillopora acuta*, la anémona simbiote *Aiptasia spp.*, *A. palmata*, *A. microphthalma* y *Acropora millepora* (Weston et al. 2015; Ricaurte et al. 2016; Oakley et al. 2017; Mayfield et al. 2018; Petrou et al. 2021). Por otro lado, la expresión de diferentes isoformas de actina con abundancias diferenciales dentro del mismo organismo bajo condiciones de estrés no ha sido reportada previamente. Sin embargo, estudios en *Arabidopsis* han indicado que genes que codifican distintas isoformas de proteínas relacionadas con la actina presentan expresión diferencial bajo condiciones de estrés térmico (Fan et al., 2016).

La disminución en la abundancia de una de las isoformas de actina encontrada en este estudio es consistente con estudios previos que compararon los proteomas solubles de *M. complanata* en condiciones de blanqueamiento (Hernández-Elizárraga et al. 2019) y *M. alcornis* (Olguín-López et al. 2019) contra especímenes no blanqueados. Además, los resultados a nivel proteómico concuerdan con hallazgos transcriptómicos obtenidos en el estudio diferencial entre especímenes blanqueados y no blanqueados de *M. complanata* realizado previamente por nuestro grupo de investigación (Hernández-Elizárraga et al. 2023).

Adicionalmente, otros análisis transcriptómicos han reportado una regulación a la baja en la expresión de actina en distintos cnidarios. Richier et al. reportaron una regulación a la baja de la expresión de actina en un estudio transcriptómico que investigó los efectos de temperaturas elevadas y radiación UV en la anémona simbiote *A. elegantissima* (Richier et al. 2008). De manera similar, DeSalvo et al. documentaron una regulación a la baja de transcritos de actina en corales *A. palmata* sometidos a estrés térmico y en *M. faveolata* expuestos a estrés inducido por oscuridad (DeSalvo et al. 2010; DeSalvo et al. 2012). Adicionalmente, la

regulación a la baja de actina también ha sido documentada en estudios con otros cnidarios constructores de arrecifes, como *Porites astreoides*, *Stylophora pistillata* y *Acropora muricata* (Kenkel et al., 2011; Lee et al., 2018; Maor-Landaw et al., 2014; Maor-Landaw & Levy, 2016).

La expresión de genes de actina es altamente sensible al estrés térmico en las células de cnidarios, las cuales atraviesan una reorganización del citoesqueleto en respuesta al estrés térmico y el blanqueamiento. La expulsión de algas *Symbiodiniaceae* de las células gastrodérmicas de los cnidarios influye en diversas funciones celulares dependientes del citoesqueleto de actina, incluyendo el transporte intracelular, las interacciones con la membrana plasmática, el mantenimiento de la forma celular y el control transcripcional de proteínas asociadas al citoesqueleto. Además, esta reorganización del citoesqueleto podría explicar las diferentes abundancias diferenciales de las isoformas de actina identificadas en el presente estudio (Figura 21) (Fan et al., 2016; Fletcher & Mullins, 2010; Hernández-Elizárraga et al., 2019; Zheng et al., 2009).

Las **tubulinas alfa** y **beta** son componentes importantes para la constitución de los microtúbulos. Generalmente, el término “tubulina” se refiere a un heterodímero compuesto por una subunidad alfa y una subunidad beta, que al ensamblarse de manera altamente organizada constituye este componente del citoesqueleto. Los microtúbulos son estructuras cilíndricas huecas que intervienen en diversos procesos celulares tales como el desplazamiento de vesículas, el movimiento de orgánulos, el transporte intracelular, la mitosis, la meiosis y el movimiento de cilios y flagelos, en la formación del huso mitótico durante la división celular. Adicionalmente, los microtúbulos forman el citoesqueleto en conjunto con los microfilamentos y los filamentos intermedios (Svitkina, 2018; Titus, 2018). En nuestro estudio, encontramos que la abundancia de ambas tubulinas estaba regulada a la baja en hidrocorales blanqueados. La regulación a la baja de estas proteínas podría implicar una disminución en el transporte intracelular de nutrientes y una reducción en la división celular, la cual es necesaria para la regeneración del tejido bajo condiciones de estrés (Figura 21) (Oakley et al. 2017).

En 2017, Oakley reportó que la proteína alfa tubulina disminuyó su expresión significativamente después de haber sometido a la anemona *Aiptasia* spp. a un choque térmico de 33.5 °C por 24 horas; esto a comparación de los niveles que presentaban el grupo control (25 °C), y los grupos sometidos a condiciones de aclimatación (30 °C y 33 °C). Aunadas a la alfa tubulina, diversas proteínas importantes para el citoesqueleto también sufrieron una disminución significativa en su expresión posteriores al choque térmico; algunas de estas proteínas fueron la actina, miosina, talina, filamina, entre otras (Oakley et al., 2017).

La proteína de **cadena ligera 3C de las proteínas asociadas a microtúbulos 1A/1B**, también conocida como **LC3C**, fue identificada con una abundancia diferencialmente disminuida en especímenes blanqueados de *M. complanata*. LC3C es una proteína asociada a microtúbulos que desempeña un papel crucial en el proceso de autofagia en las células y es una de las variantes de la familia de proteínas LC3 (Kabeya et al., 2000; Mizushima et al., 2010). Aunque la expresión diferencial de esta proteína no ha sido reportada previamente, una disminución en la expresión de LC3C en especímenes blanqueados de *M. complanata* podría implicar una reducción en el proceso de autofagia bajo condiciones de blanqueamiento. Si bien la autofagia ha sido propuesta como un mecanismo de respuesta para la eliminación de endosimbiontes (Downs et al., 2009; Dunn et al., 2007), se ha reportado que las proteínas asociadas a estos procesos pueden mostrar abundancias disminuidas bajo condiciones de blanqueamiento inducido por estrés térmico (Figura 21) (DeSalvo et al. 2010; Maor-Landaw y Levy 2016).

La respuesta del citoesqueleto frente a un fenómeno como el estrés térmico puede variar entre organismos, e incluso se ha reportado que los genes que codifican proteínas asociadas al citoesqueleto pueden presentar expresiones diferenciales distintas dentro de un mismo estudio (Fan et al., 2016). Por otra parte, las modificaciones postraduccionales pueden dar lugar a múltiples proteoformas, lo que incrementa la complejidad del proteoma y hace que el análisis proteómico sea un desafío aún mayor (Carbonara et al., 2021; Harper & Bennett, 2016). Esto en parte también podría explicar las diferencias en las abundancias diferenciales de las otras isoformas de actina identificadas. Sin embargo, la abundancia diferencial observada

de los componentes del citoesqueleto en hidrocorales blanqueados podría indicar una reorganización o disrupción del citoesqueleto de actina en respuesta al estrés térmico y oxidativo, así como a la expulsión de endosimbiontes.

Matriz extracelular

El **colágeno** es un componente esencial de la matriz extracelular y proporciona integridad mecánica a los tejidos biológicos, ayudando a mantener su forma y estabilidad tridimensional. Esta proteína estructural está compuesta por triples hélices de cadenas polipeptídicas que forman una red fibrilar altamente organizada, la cual confiere resistencia a la tracción y elasticidad a los tejidos. Su función es especialmente relevante en organismos marinos, como los corales y otros cnidarios, donde la ECM desempeña un papel fundamental en la cohesión y estabilidad de las estructuras tisulares (Cheng et al., 2018; Heino, 2007; LaBelle et al., 2023).

Además de su papel en la arquitectura celular, el colágeno participa activamente en la señalización celular a través de su interacción con diferentes receptores de la superficie celular, como las integrinas y los receptores de tirosina quinasa. Estas interacciones permiten la activación de vías de mecanotransducción que regulan procesos celulares clave, como la proliferación, diferenciación, angiogénesis y migración. Dichas vías de señalización son esenciales para la homeostasis celular y la respuesta a estímulos ambientales, facilitando la adaptación de los tejidos a cambios en las condiciones externas (Huang et al., 2013, 2023). Este proteína presentó una abundancia diferencialmente disminuida en especímenes blanqueados de *M. complanata*.

Numerosos estudios transcriptómicos han reportado abundancias diferenciales de colágeno en cnidarios bajo condiciones de estrés, particularmente estrés térmico. Estas investigaciones abarcan especies como *P. astreoides* y *Acropora hyacinthus*, en las cuales se encontró una regulación al alta de estas proteínas en especímenes blanqueados y en condiciones de estrés térmico, respectivamente (Barshis et al. 2013; Kenkel et al. 2013). Por otra parte, en organismos como *S. pistillata*, *A. viridis*, *A. palmata* y *A. hyacinthus* se ha reportado una regulación disminuida del colágeno bajo condiciones de estrés térmico (DeSalvo et al., 2010; Maor-Landaw & Levy, 2016; Moya et al., 2012; Seneca & Palumbi, 2015). En cuanto a estudios

proteómicos, en el estudio realizado por nuestro grupo en *M. alcicornis* blanqueado por estrés térmico se observó una disminución en la abundancia del colágeno (Olguín-López et al. 2019). Por otra parte, en *A. palmata* blanqueado se reportó una proteína de tipo microcolágeno con una disminución en su expresión (Ricaurte et al. 2016). Una reducción en la producción de colágeno podría comprometer la integridad estructural de los tejidos, debilitando la matriz extracelular y volviéndolos más vulnerables a daños mecánicos y estrés ambiental. Además, al ser un regulador clave de la señalización celular, su disminución podría afectar procesos esenciales como la proliferación, diferenciación y migración celular, dificultando la homeostasis y regeneración tisular. Esta reducción también impactaría negativamente la capacidad de cicatrización, ralentizando la reparación de tejidos dañados y aumentando la susceptibilidad a infecciones y factores ambientales adversos (Figura 21) (G. Park & Oh, 2015; Rittié & Fisher, 2002). Cabe mencionar que, en este estudio, también se observó una disminución diferencial en la abundancia de otras proteínas de la matriz extracelular en especímenes blanqueados de *M. complanata*.

Adicionalmente, se identificó una **proteína que contiene un dominio ZP** con una abundancia diferencialmente disminuida en especímenes blanqueados de *M. complanata*. Esta proteína posee una región estructural conocida como "Zona Pelúcida", la cual es crucial para su función en diversos procesos biológicos, incluyendo la fertilización y la formación de la matriz extracelular (Bokhove & Jovine, 2018; Jovine et al., 2002; Wassarman, 2008). Anteriormente se ha reportado una disminución en la expresión de transcritos de este tipo de proteínas en *A. viridis* en condiciones de estrés térmico y radiación UV, un hallazgo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio (Moya et al. 2012).

El dominio ZP permite que las proteínas se ensamblen en polímeros, formando redes fibrosas que crean una estructura en la matriz extracelular, proporcionando estabilidad y resistencia mecánica a los tejidos. Estas redes actúan como un andamiaje molecular que regula la organización celular dentro de la matriz extracelular, facilitando procesos como la adhesión celular y la migración. Además, algunas proteínas con dominio ZP también interactúan con otros componentes de

la ECM, como proteoglicanos y colágeno, para formar complejos estables, fundamentales para la estructura y desarrollo celular (Jovine et al. 2002). Estas interacciones no solo influyen en la integridad mecánica de los tejidos, sino que también modulan vías de señalización celular involucradas en la diferenciación y proliferación celular. Se ha sugerido que la alteración en la abundancia de proteínas con dominio ZP podría afectar la capacidad de los organismos para responder a condiciones de estrés, comprometiendo la regeneración tisular y la homeostasis estructural de la matriz extracelular (Figura 21) (Drees et al., 2023).

El blanqueamiento en *M. complanata* provoca alteraciones significativas en las funciones celulares, afectando la estabilidad y reparación de los tejidos, así como la capacidad del organismo para mantener su integridad estructural. Procesos esenciales como la comunicación celular, la regeneración y la organización de los componentes celulares se ven gravemente comprometidos, lo que puede debilitar la respuesta del organismo frente a condiciones de estrés ambiental. Además, la reducción en la capacidad para mantener un desarrollo celular adecuado y la cohesión dentro de la matriz extracelular indica una disrupción en los mecanismos de homeostasis tisular, lo que puede derivar en una menor eficiencia en la cicatrización y en la reorganización de los tejidos dañados. Estos efectos no solo comprometen la funcionalidad de los tejidos a nivel estructural, sino que también impactan en la señalización celular y en la regulación de factores que controlan la proliferación y diferenciación celular. En conjunto, estos hallazgos resaltan el impacto profundo del estrés térmico sobre los sistemas biológicos fundamentales, evidenciando cómo el blanqueamiento afecta múltiples niveles de la organización celular y compromete la capacidad de adaptación y recuperación del organismo.

Respuesta de choque térmico

Las proteínas de choque térmico son una amplia familia de proteínas altamente conservadas en los organismos y además, su síntesis aumenta drásticamente después de breves exposiciones de las células a aumento en la temperatura. Este fenómeno ocurre a manera de respuesta frente a un aumento de proteínas mal plegadas (como las producidas por temperaturas elevadas), ya que las HSPs son chaperonas que ayudan a estas proteínas a replegarse. Existen diversas familias

principales de estas proteínas, siendo las **proteínas de choque térmico (HSP por sus siglas en inglés)** de 60 y 70 kDa (HSP60 y HSP70) las más conocidas. Los miembros de estas familias pueden diferir dependiendo de su localización; por ejemplo, las mitocondrias contienen sus propias proteínas HSP60 y HSP70 que son distintas de las que funcionan en el citosol. Cada una de las proteínas HSP60 y HSP70 trabaja con su propio conjunto de proteínas asociadas en el proceso de plegamiento. Los dos tipos de proteínas HSP funcionan de manera diferente, por ejemplo, las HSP70 actúan temprano en la vida de muchas proteínas (a menudo antes de que la proteína abandone el ribosoma) con la ayuda de un conjunto de proteínas HSP40 más pequeñas (Louis et al., 2017).

Las proteínas **HSP70** están consideradas como importantes biomarcadores del blanqueamiento de arrecifes coralinos debido a la usual sobreexpresión de éstas durante este fenómeno. Las HSP70 están ampliamente reportadas como expresadas diferencialmente en condiciones de estrés en cnidarios, principalmente en estrés térmico agudo, así como también en condiciones de blanqueamiento. Algunos de los organismos donde se ha reportado la sobreexpresión de transcritos que codifican para estas proteínas después de periodos de estrés térmico son *Aiptasia spp.*, *A. Millepora* y *A. muricata*; sin embargo, exposiciones a periodos prolongados de estrés térmico podrían producir una expresión diferencial distinta (Cleves et al., 2020; Császár et al., 2009; Lee et al., 2018; Rosic et al., 2011).

Por otro lado, en estudios proteómicos también se han reportado las HSP70 sobreexpresadas, por ejemplo, en *Aiptasia spp.*, *A. Millepora*, *A. microphthalma*, *Goniopora djiboutiensis*, *M. faveolata*, *Porites cylindrica*, *S. pistillata* y en el proteoma soluble de *M. complanata*, (Downs et al., 2009; Fitt et al., 2009; Hernández-Elizárraga et al., 2019; Oakley et al., 2017; Petrou et al., 2021; Sharp et al., 1997). Teniendo en cuenta que la sobreexpresión de las HSPs ocurre en periodos de exposición aguda a temperaturas elevadas o cuando se manifiesta una termotolerancia, el tener una HSP70 con una abundancia aumentada en el proteoma de *M. complanata* podría implicar una respuesta del holobionte para preservar la estructura y funciones de las proteínas, así como estimular los procesos de reparación celular. Además de que dichos resultados son congruentes con lo

observado en numerosas especies de cnidarios mencionados anteriormente, este resultado también es consistente con nuestro anterior estudio del proteoma soluble de *M. complanata* (Hernández-Elizárraga et al., 2019).

Los patrones de expresión diferencial de la proteína HSP70 indican que la modulación de esta HSP es una respuesta clave del holobionte para preservar la estructura y función de las proteínas, así como para estimular los procesos de reparación celular. Esta respuesta es fundamental para mitigar los efectos del estrés térmico y mantener la homeostasis proteica dentro de las células del anfitrión. El aumento en la abundancia de las HSP70 en condiciones de estrés es un mecanismo ampliamente documentado en organismos marinos expuestos a temperaturas elevadas, lo que sugiere que su regulación desempeña un papel crucial en la supervivencia del holobionte (Figura 21). Además, la activación de HSP70 también está vinculada a la protección de otras proteínas involucradas en la reparación de daños oxidativos, la estabilidad de los complejos proteicos y la regulación de señales intracelulares que contribuyen a la respuesta adaptativa al estrés térmico. En conjunto, estos factores refuerzan la importancia de la HSP70 en la capacidad del holobionte para resistir condiciones ambientales adversas y mantener la funcionalidad de su sistema celular.

En cuanto a las **proteínas disulfuro isomerasas (PDI)**, estas son enzimas que se encargan de catalizar la formación y ruptura de los puentes disulfuro entre cisteínas en las proteínas durante el proceso de plegamiento. Estas enzimas entran en la categoría de las oxidoreductasas, se ubican en el retículo endoplasmático, y son enzimas clave para el correcto plegamiento de las proteínas y su posterior conformación tridimensional. Además de tener la capacidad de formar puentes disulfuro, también pueden corregir enlaces erróneos y actuar como chaperonas uniéndose a proteínas mal plegadas para evitar que se agreguen. Adicionalmente, también marca a las proteínas mal plegadas para su degradación en el proteosoma (Gruber et al., 2006).

En 2021, Petrou y colaboradores reportaron un aumento en la abundancia de disulfuro isomerasas en el coral *A. millepora* en condiciones de estrés térmico. Estas PDI aumentaron su concentración en conjunto con otras proteínas y chaperonas

implicadas en el plegamiento proteico, tales como HSPs de distintos pesos moleculares y la chaperona BiP (una HSP70 llamada así por sus siglas en ingles “*Binding Immunoglobulin Protein*”). Las PDI y las BiP son importantes para la identificaciones y traslocación de proteínas mal plegadas. En el caso de *M. complanata* en condiciones de blanqueamiento, nosotros identificamos dos PDI con una abundancia disminuida (Petrou et al., 2021). Estos resultados no son coincidentes con lo reportado en *A. millepora* o en otros organismos bajo condiciones de estrés oxidativo. Una expresión disminuida de la disulfuro isomerasa puede tener diversos efectos a nivel celular, se ha reportado que la inhibición de la actividad de esta proteína puede afectar la transcripción de genes asociados a respuesta a estrés en el retículo endoplasmático, plegamiento proteico, apoptosis, reparación de ADN, proliferación celular, así como a la fosforilación de genes involucrados en la vía de señalización STAT3 (Kondo et al., 2019; Xu et al., 2019).

El blanqueamiento en *M. complanata* altera diversos procesos celulares esenciales para mantener la homeostasis y responder al estrés térmico, generando un impacto significativo en la fisiología del organismo. Los cambios inducidos por el estrés afectan el plegamiento de proteínas y los mecanismos de reparación, lo que puede provocar disfunciones en la señalización celular, la respuesta al estrés y la regulación del ciclo celular. Estas alteraciones pueden comprometer la capacidad de las células para mantener su estructura y funcionalidad, aumentando la susceptibilidad a daños adicionales. Además, la inestabilidad proteica y las disrupciones en las vías de degradación pueden interferir con la correcta eliminación de proteínas dañadas, lo que afecta la eficiencia de los procesos de reparación y regeneración celular. La capacidad del hidrocoral para sobrellevar estas alteraciones depende en gran medida de la activación de mecanismos compensatorios que permiten restaurar el equilibrio celular y mitigar el daño provocado por el blanqueamiento.

Homeostasis redox

Numerosos estudios han demostrado claramente que el estrés oxidativo está estrechamente relacionado con el blanqueamiento de los corales, siendo un factor determinante en la disrupción de la homeostasis del holobionte (Downs et al., 2002;

Jones et al., 1998; Lesser, 1997; Oakley & Davy, 2018; Weis, 2008a). En condiciones de estrés térmico y lumínico, la fotosíntesis de las algas simbiotes puede verse comprometida, generando un desequilibrio en la producción y el consumo de energía. Esto conlleva a una sobreproducción de especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales pueden dañar componentes celulares esenciales como proteínas, lípidos y ADN, afectando tanto a la alga simbiote como al huésped cnidario. Este incremento en los niveles de ROS desencadena un estado de estrés oxidativo que compromete la estabilidad fisiológica del holobionte y puede contribuir a la expulsión de los simbiotes, un evento característico del blanqueamiento coralino. Como consecuencia, la capacidad del coral para recuperarse de estos efectos depende en gran medida de la activación de mecanismos de defensa antioxidante que mitiguen el daño oxidativo (Weis 2008; Oakley y Davy 2018). En el presente estudio identificamos 3 proteínas con abundancias diferenciales en los especímenes blanqueados de *M. complanata*: la proteína que contiene el dominio Aldedh, la tiorredoxina y la peroxirredoxina dependiente de tiorredoxina.

En cuanto a la **proteína que contiene el dominio Aldedh**, este dominio se refiere a una proteína que posee la actividad enzimática de aldehído deshidrogenasa (ALDH). Las aldehído deshidrogenasas son enzimas oxidorreductasas que llevan a cabo la reacción de oxidar los grupos aldehído de moléculas alifáticas y aromáticas, esto mediante la reducción de una molécula de NAD a NADH. Forma parte de la ruta metabólica de degradación del etanol y básicamente se caracteriza por eliminar los aldehídos tóxicos para el organismo transformándolos en ácidos carboxílicos no reactivos; por ejemplo, oxidando el acetaldehído derivado del etanol en acetato (Harada, 2001). En *M. complanata*, esta proteína aumentó su abundancia en condiciones de blanqueamiento

Diversos estudios han reportado la expresión diferencial de proteínas que contienen un dominio aldehído deshidrogenasa bajo diferentes condiciones de estrés. Las enzimas con actividad enzimática de aldehído deshidrogenasas pueden ser cruciales para regular la acumulación desequilibrada de aldehídos tóxicos en plantas expuestas a condiciones de estrés. Distintos genes para proteínas ALDH de plantas responden ante diversas condiciones de estrés ambiental, tales como como

estrés por deshidratación, salinidad o luz excesiva. La sobreexpresión de genes ALDH puede brindar una mayor tolerancia al estrés a las plantas transgénicas, lo que demuestra la importancia de las proteínas ALDH en las respuestas al estrés abiótico (Deuschle et al., 2001, 2004; Kirch et al., 2001, 2005; Bouché et al., 2003; Sunkar et al., 2003; Kotchoni et al., 2006; Rodrigues et al., 2006). En 2011, Stiti y colaboradores reportaron que en la planta *Arabidopsis thaliana* se presentó una sobreexpresión de transcritos y proteínas con dominio Aldedh bajo condiciones de estrés abiótico y por salinidad. Si bien la expresión de estos transcritos y proteínas varía dependiendo del órgano o tejido de la planta analizada, los cambios en las concentraciones son significativos de manera general, y además se propone que la regulación de la expresión génica de ALDH ocurre principalmente a nivel transcripcional. Se hipotetiza que las proteínas ALDH inducibles por estrés sean importantes para los mecanismos de ajuste al estrés y adaptación a largo plazo (Stiti et al., 2011).

En 2021, también se reportó que en la esponja marina *Amphimedon navalis* se presentó un aumento significativo de una proteína con dominio Aldedh después de haber sido sometida a estrés térmico de 26 y 28 °C; dicha proteína se sobreexpresó en conjunto con otras enzimas asociadas a procesos de oxidorreducción, que a su vez, representan proteínas de respuesta a estrés oxidativo (Beepat et al., 2021). La abundancia de estas enzimas sugiere un aumento en los procesos de desintoxicación para contrarrestar la disociación de aminoácidos por EROs. Se ha demostrado que en condiciones de estrés se estimula la producción de estas proteínas y de hecho, la sobreexpresión de estas enzimas esta reportada como una respuesta a estrés térmico en múltiples organismos marinos, como las esponjas marinas. El aumento en la expresión de estas enzimas sugiere que las células de pueden estar expuestas a un exceso de EROs a temperatura elevada, lo que requiere un mayor plegamiento/replegamiento de proteínas (Beepat et al., 2021).

En cuanto a la **tiorredoxina**, este tipo de proteínas forman parte de los mecanismos antioxidantes de los organismos realizando la reducción de otras proteínas. Asimismo, pueden intervenir en distintas reacciones redox mediante la oxidación reversible de su centro activo ditiol a disulfuro, y también catalizar reacciones de

intercambio ditiol-disulfuro. Las tioredoxinas son enzimas omnipresentes y esenciales para la vida de numerosos y diversos organismos. En cuanto a las funciones específicas de la proteína identificada en este estudio, ésta cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos orgánicos a agua y alcoholes, respectivamente, esto gracias a que las tioredoxinas también actúan como donantes de electrones para otras enzimas como las peroxidasas (Lu & Holmgren, 2014).

En 2010, Starcevic y colaboradores reportaron una expresión génica diferencial elevada de tioredoxina en el coral *A. microphthalmus* expuesto a alta irradiancia solar aguda. Otras enzimas claves para la respuesta antioxidante del coral (tales como la superóxido dismutasa o la catalasa) no manifestaron una expresión diferencial hasta pasados al menos 9 días de condiciones de estrés. A pesar de contar con la expresión diferencial de otros biomarcadores de blanqueamiento, como por ejemplo una HSP90, la expresión de genes que codifican enzimas antioxidantes clave no se vio inducida por la alta irradiancia solar aguda o el estrés térmico a corto plazo, por lo que se pueden requerir varios días o más de coacción para la activación transcripcional de otras enzimas clave. Sin embargo, se podría decir que la tioredoxina fue la primera enzima perteneciente al sistema antioxidante del coral cuya expresión reaccionó al aumento de la exposición solar (Starcevic et al., 2010).

Por otra parte, Oakley y colaboradores reportaron en 2017 la abundancia diferencial de dos proteínas con dominio de tioredoxina en *Aiptasia spp.* sometida a un choque térmico (Oakley et al., 2017). Adicionalmente, se han detectado en otros estudios a las tioredoxina reductasas con abundancias diferenciales a la baja y a la alta en *A. palmata* y *A. microphthalmus*, respectivamente (Starcevic et al., 2010; Ricaurte et al., 2016). La disminución en la abundancia de la tioredoxina reductasa, como lo reportaron Ricaurte et al. (2016), podría comprometer aún más las defensas antioxidantes, sugiriendo una respuesta a ROS sobrecargada que afecta la expresión de proteínas sensibles al estrés. Además, la tioredoxina regula la expresión de factores de transcripción a través de interacciones con ASK1, p-JNK, PTEN, Txnip y p-AKT (Ren et al., 2015; Sartelet et al., 2011; Zhao et al., 2024). Una

reducción en la actividad de la tiorredoxina podría provocar un aumento en los niveles de ROS y en la actividad de la caspasa-3, lo que potencialmente incrementaría la apoptosis y el daño tisular en cnidarios (Figura 21).

Finalmente, la **peroxirredoxina dependiente de tiorredoxina**, cuya expresión se encontró aumentada en hidrocorales blanqueados, representa una subclase específica dentro de la familia de las peroxirredoxinas. Estas enzimas utilizan la tiorredoxina como su principal donador de electrones y funcionan como antioxidantes al reducir peróxidos, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los hidroperóxidos lipídicos (Fujii & Ikeda, 2002; Lu & Holmgren, 2014). En el presente estudio, esta enzima fue identificada con una abundancia diferencial elevada en los especímenes blanqueados.

El aumento en la abundancia de esta proteína concuerda con reportes previos en *A. microphthalma* bajo estrés térmico y alta irradiancia solar (Weston et al. 2015). Otros tipos de peroxirredoxinas también han sido reportados con una expresión aumentada en *O. faveolata* y *S. pistillata* (Mayfield et al. 2021; Maor-Landaw et al. 2014). Además, nuestros hallazgos corroboran el estudio previo realizado por nuestro grupo sobre el proteoma soluble de *M. complanata*, donde identificamos una sobreexpresión de la peroxirredoxina-6 en especímenes blanqueados (Figura 21) (Hernández-Elizárraga et al. 2019).

El incremento en la expresión de proteínas de la familia de las peroxirredoxinas sugiere una mayor capacidad para reducir peróxidos, lo que podría contribuir a la neutralización del daño oxidativo, al mantenimiento del equilibrio redox y a un aumento en la protección celular. Este fenómeno también podría indicar también una respuesta adaptativa frente a condiciones de blanqueamiento, en la que los organismos intentan mitigar los efectos perjudiciales del estrés térmico y la disrupción de la homeostasis celular. Asimismo, su interacción con otros sistemas antioxidantes, como la tiorredoxina, podría potenciar la capacidad del coral para resistir los efectos del estrés ambiental prolongado, favoreciendo su resiliencia y la recuperación de sus funciones celulares.

Señalización

Esta categoría representa el grupo más grande de las proteínas con abundancias diferenciales, estando integrada por un total de 10 proteínas. La señalización celular es uno de los procesos más afectados bajo estrés térmico, ya que las altas temperaturas pueden alterar la conformación y función de proteínas clave en vías de transducción de señales. Esto puede provocar fallas en la regulación de respuestas fisiológicas, afectando la homeostasis celular y la capacidad de adaptación al entorno (Helgoe et al., 2024).

Dentro de este grupo, identificamos dos **proteínas que contienen un dominio EF-hand** con una abundancia reducida en especímenes blanqueados de *M. complanata*. Este tipo de proteínas es de gran importancia debido a su capacidad para unirse al calcio. El dominio EF-hand está presente en diversas proteínas que regulan procesos biológicos esenciales, principalmente en la señalización celular, además de desempeñar funciones clave en la contracción muscular, la transducción de señales y la homeostasis del calcio (Domínguez et al., 2015). Las proteínas que contienen este dominio controlan la transducción de señales modulando la actividad de enzimas y proteínas efectoras en respuesta a cambios en la concentración de calcio (Clapham, 2007). Además, participan en la regulación del calcio intracelular, un proceso fundamental para la función celular normal (Kobayashi & Solaro, 2005). Se ha reportado una disminución en la abundancia de transcritos de estas proteínas en *M. faveolata* y *A. muricata* sometidas a estrés térmico. En contraste, se ha documentado un aumento en la abundancia diferencial de esta proteína en *Aiptasia spp.* tras un choque térmico (DeSalvo et al. 2008; Oakley et al. 2017; Lee et al. 2018).

Dado que existen múltiples tipos de proteínas que contienen este dominio, en este punto no es posible determinar con precisión qué procesos celulares están siendo modificados en hidrocorales blanqueados como resultado del incremento en la expresión del dominio EF-hand. Sin embargo, se ha reportado que la calmodulina, una proteína con dominio EF-hand, presenta una abundancia reducida en el proteoma soluble de especímenes de *M. complanata* blanqueados por estrés térmico (Hernández-Elizárraga et al. 2019). Nuestros resultados concuerdan con

este hallazgo y difieren de lo reportado en el proteoma soluble de *M. alcornis*, donde la calmodulina se identificó con una abundancia aumentada en especímenes blanqueados (Olguín-López et al. 2019).

La calmodulina es una proteína que funciona esencialmente como un sensor de Ca^{2+} , cambiando su conformación al unirse a este ion, lo que le permite interactuar con diversas proteínas efectoras y modular su actividad funcional, siendo un regulador clave de la homeostasis del Ca^{2+} (Perochon et al., 2011). En general, las proteínas EF-hand son fundamentales para el mantenimiento de la homeostasis intracelular del Ca^{2+} , la cual, a su vez, es crucial para el funcionamiento adecuado de las células. Se ha demostrado que el estrés oxidativo producido durante el blanqueamiento puede alterar esta homeostasis, resultando en una elevación sostenida de Ca^{2+} intracelular debido a su liberación desde depósitos intracelulares y a su entrada desde el ambiente extracelular (Loven, 1988; Orrenius et al., 1992). De hecho, algunas proteínas con dominio EF-hand están involucradas en respuestas adaptativas al estrés oxidativo y a otros factores estresantes celulares (Berridge et al., 2000). La disminución en la expresión de dos proteínas EF-hand, junto con el hallazgo previo de una reducción en la expresión de calmodulina, podría indicar que los procesos de señalización celular asociados al Ca^{2+} pueden estar afectados por el blanqueamiento, así como otros procesos biológicos esenciales como la apoptosis, el metabolismo energético y la síntesis de proteínas (Figura 21) (Verma et al., 2021).

Nuestro estudio también identificó que una **proteína que contiene un dominio TNFR-Cys** se encontró con una abundancia elevada en los especímenes blanqueados de *M. complanata*. El dominio TNFR-Cys (dominio rico en cisteína del receptor del factor de necrosis tumoral) es una región presente en una familia de proteínas conocidas como receptores del factor de necrosis tumoral (TNFR por sus siglas en inglés) (Locksley et al., 2001). Estos receptores participan en la señalización celular y regulan principalmente procesos como la apoptosis; sin embargo, también desempeñan un papel importante en la supervivencia celular, la inflamación y la respuesta inmune (Vanamee & Faustman, 2023). Se ha informado que los transcritos que codifican esta proteína presentan abundancias diferenciales

en estudios sobre la respuesta al estrés térmico en cnidarios (Barshis et al., 2013; Cleves et al., 2020). Barshis et al. reportaron la sobreexpresión de los transcritos de esta proteína en *A. hyacinthus* expuesta a estrés térmico a 31.9 °C durante 72 h (Barshis et al. 2013). Cleves et al. observaron la sobreexpresión de transcritos de dos TNFR en *Aiptasia* spp. sometidas a estrés térmico agudo a 34 °C durante 6.5 horas (Cleves et al. 2020). La sobreexpresión de estos genes TNFR indica una respuesta anticipatoria al estrés térmico en diversos organismos, lo que sugiere la activación de múltiples cascadas celulares (Ainsworth et al., 2011). Además, los TNFR regulan el sistema inmune mediante la activación de NF-κB y JNK (Shen & Pervaiz, 2006). La variabilidad en la expresión de TNFR, junto con su papel en la regulación de la apoptosis, mejora la tolerancia al estrés y la resistencia a enfermedades en corales (Reed et al., 2010). Por lo tanto, esta familia de proteínas se perfila como una candidata clave en múltiples vías relacionadas con la salud y la tolerancia al estrés en estos organismos marinos (Shen y Pervaiz 2006; Barshis et al. 2013; Cleves et al. 2020). Nuestros hallazgos contrastan con informes previos en *A. hyacinthus* y *Aiptasia* spp., lo que nos permite especular que la disminución de los niveles de esta proteína en especímenes blanqueados de *M. complanata* podría indicar la inhibición de procesos como la apoptosis y la respuesta inmune (Figura 21). Sin embargo, no identificamos otras proteínas específicas de estas vías de señalización con abundancia diferencial, lo que sugiere que se requieren estudios adicionales para confirmar el aumento en la actividad proteica en los especímenes blanqueados.

Transcripción

El control transcripcional experimenta cambios significativos en respuesta a las condiciones de estrés térmico y oxidativo en cnidarios. Estas alteraciones incluyen variaciones en la abundancia de transcritos, la regulación de factores de transcripción y la expresión de proteínas asociadas, lo que impacta en múltiples procesos celulares. Bajo estrés térmico, la activación o represión de genes específicos puede modular la respuesta antioxidante, la reparación del daño celular y la regulación de la apoptosis. Asimismo, se ha observado que algunos factores de transcripción clave, como los reguladores de la respuesta al estrés y los

moduladores del metabolismo energético, presentan cambios en su expresión, lo que sugiere una reprogramación transcripcional que influye en la capacidad de recuperación del coral. Estas modificaciones pueden determinar la resiliencia del organismo ante el blanqueamiento, afectando la homeostasis del holobionte y su interacción con sus endosimbiontes (DeSalvo et al., 2010; Meyer et al., 2009; Pinzón et al., 2015; Rose et al., 2016). Asociadas a este proceso, identificamos tres histonas que mostraron abundancia diferencial en especímenes blanqueados de *M. complanata*: histona H4, histona H2B y histona H3.

Las **histonas** son proteínas altamente conservadas que regulan una amplia cantidad de procesos asociados al ADN, incluida la replicación, la recombinación, la reparación y la transcripción (Campos & Reinberg, 2009; Hauer & Gasser, 2017). Adicionalmente, podemos destacar también que las histonas juegan un papel importante en el empaquetamiento del ADN conformando los nucleosomas y la cromatina (Alberts et al., 2015). Los genes de histonas están codificados por familias de genes de múltiples copias que aseguran su suministro tanto en condiciones favorables como adversas (Campos & Reinberg, 2009). Las alteraciones en los niveles de histonas, las modificaciones postraduccionales (PTM) y las interacciones proteína-proteína modulan la estructura y las funciones de la cromatina (Campos & Reinberg, 2009; Hauer & Gasser, 2017). Adicionalmente, estas proteínas que se dividen en cinco familias: H1, H2, H3, H4 y H5.

Anteriormente se han publicado algunos estudios sobre la relación que guardan las concentraciones diferenciales de la proteína H4 y distintos tipos de estrés en diversos organismos. Kumar y colaboradores reportaron en 2020 que en la levadura *Candida glabrata* ocurre una disminución en la concentración de histonas H4 cuando ésta es sometida a estrés oxidativo y a estrés térmico de 42 °C. Adicionalmente, se reportó que la exposición al agente genotóxico metil metanosulfato causa una reducción significativa en las cantidades de ARNm y proteínas de las histonas H3 y H4, así como que una baja expresión del gen H4 genera resistencia a este mismo agente (Kumar et al., 2020). Los mecanismos implicados en el desarrollo de esta resistencia abarcarían la recombinación homóloga de las histonas H3 y H4 en la reparación del daño del ADN, una mayor

eficiencia de este proceso y por lo tanto, una reparación más rápida del ADN dañado por el metil metanosulfato. Estos hallazgos reflejan que la reducción de los niveles de H4 en *C. glabrata* podrían ser una respuesta general al estrés que podría ayudar a la supervivencia del entorno hostil del anfitrión. Adicionalmente, hipotetizan que las cantidades reducidas de H4 en *C. glabrata* podrían también estar implicadas en la liberación de proteínas necesarias para sobrevivir al estrés o activar transcripcionalmente la expresión de las proteínas de respuesta a estrés (Kumar et al., 2020).

Nuestros hallazgos concuerdan con lo reportado en *C. glabrata*, ya que las tres histonas presentaron una abundancia reducida en especímenes blanqueados de *M. complanata*. Se ha propuesto que la disminución en los niveles de H4 podría indicar una respuesta generalizada al estrés que contribuye a la supervivencia en entornos adversos, favoreciendo la expresión de proteínas esenciales para la adaptación al estrés (Figura 21).

Transporte

El transporte celular representa otra función fundamental que suele verse afectada durante los eventos de blanqueamiento, lo que a menudo se atribuye a un aumento en la respuesta de los cnidarios o a un mayor uso de las reservas energéticas. Durante el estrés térmico, la redistribución de nutrientes y metabolitos dentro de la célula se vuelve crucial para sostener la viabilidad celular, ya que el metabolismo energético se ve alterado. Además, el blanqueamiento conlleva la expulsión de simbiontes fotosintéticos, lo que reduce la disponibilidad de compuestos orgánicos derivados de la fotosíntesis y genera una mayor dependencia de rutas metabólicas alternativas. Como consecuencia, los procesos de transporte intracelular pueden experimentar cambios significativos, incluyendo la regulación de proteínas transportadoras, la movilización de iones esenciales y la reorganización del tráfico vesicular (A. D. Hughes et al., 2010; Tremblay et al., 2016; Wooldridge, 2014).

Las proteínas **Rab** son una familia de proteínas que a su vez pertenece a la superfamilia de las proteínas Ras. Las proteínas Rab son pequeñas GTPasas membranales que participan principalmente en la formación y transporte de vesículas mediante reconocimiento por parte de proteínas Rab efectoras. Las

proteínas Rab son reguladores clave del tráfico de las membranas intracelulares, desde la formación de vesículas de transporte hasta su fusión con otras membranas (Hutagalung & Novick, 2011; Saraste, 2016; Stenmark, 2009). En el presente estudio identificamos una proteína Rab1A y una proteína Rab2A con abundancias diferenciales aumentadas en los especímenes blanqueados de *M. complanata*.

Abordando a **Rab1A** específicamente, esta proteoforma de proteína Rab1 está implicada en diversas funciones, por ejemplo, regula el transporte de proteínas vesiculares desde el retículo endoplásmico (RE) hasta el aparato de Golgi y sobre la superficie celular, también desempeña un papel en la secreción de IL-8 y de la hormona del crecimiento. Las proteínas Rab1A son necesarias para modular la morfología compactada del aparato de Golgi, así como para regular el nivel de CASR presente en la membrana celular. Estas proteínas también juegan un papel importante en el tráfico de proteínas, por lo que son importantes para los procesos de adhesión y migración celular. Adicionalmente, las proteínas Rab1A también desempeñan un papel en el ensamblaje del autofagosoma, en las reacciones de defensa celular contra las bacterias patógenas (Zoppino et al., 2010).

En la planta *Hevea brasiliensis* sometidas a estrés por agua (sequía) se reportó una sobreexpresión del gen que codifica para Rab1A y una sobre expresión de la proteína propiamente dicha. Anteriormente se ha descrito la participación del tráfico de vesículas intracelulares en la adaptación de las plantas a diversos tipos de estrés ambiental, por lo que una expresión elevada de esta proteína podría estar implicada en este proceso de supervivencia (Pramod et al., 2017).

Abordando a la proteína **Rab2A**, esta isoforma de Rab2 cumple las mismas funciones que los miembros de la familia Rab y desempeña un papel muy similar al de Rab1A. La principal diferencia radica en la localización de esta enzima, mientras que Rab1 se localiza en tanto en el retículo endoplásmico como en el complejo de Golgi, Rab2 solamente se localiza en la región cis del complejo de Golgi. Esta zona se refiere a la caras cis de los dictiosomas, las cuales se encargan de recibir las vesículas de transición con proteínas interiorizadas sintetizadas en la membrana del retículo rugoso. Adicionalmente, se ha reportado que en plantas, Rab2A está implicada en diversos procesos tales como transporte de proteínas, desarrollo de

raíces, reparación de membranas celulares, osmorregulación y división celular (Cheung et al., 2002; Maringer et al., 2016; O'Mahony & Oliver, 1999; Zhang et al., 2006).

El aumento en la abundancia de proteínas involucradas en el transporte intracelular, como Rab1A y Rab2A, sugiere un aumento en el transporte de micronutrientes en respuesta a la pérdida de los endosimbiontes, las cuales constituyen la principal fuente de alimento para los cnidarios. Ante la reducción en el suministro de compuestos fotosintéticos provenientes de los endosimbiontes, el organismo podría compensar esta deficiencia mediante una mayor movilización de nutrientes y metabolitos esenciales dentro de la célula. Además, las alteraciones en la expresión de proteínas del citoesqueleto también podrían contribuir a este fenómeno, dado el papel crucial que desempeñan los filamentos y microtúbulos en el transporte vesicular. Estos cambios en la dinámica del citoesqueleto pueden facilitar la redistribución de recursos celulares en un intento de mitigar los efectos del estrés térmico y mantener funciones celulares esenciales.

Metabolismo de carbohidratos

La **fosfopiruvato hidratasa**, también conocida como enolasa, es una enzima que forma parte de la vía metabólica de la glucólisis cuya función es la de catalizar la transformación de 2-fosfoglicerato a fosfoenolpiruvato. Además de ser importante para la degradación de la glucosa, la enolasa también participa en diversos procesos como el control del crecimiento, la tolerancia a la hipoxia y las respuestas alérgicas (Li et al., 2017; Yang et al., 2021).

En nuestro estudio previo sobre el proteoma soluble de *M. complanata*, observamos un patrón de expresión diferencial en dos proteínas asociadas al metabolismo de los carbohidratos: alfa-enolasa e isomerasa de triosa fosfato. Ambas proteínas están involucradas en las vías de glucólisis y gluconeogénesis; sin embargo, mientras que la alfa-enolasa presentó una regulación al alza, la isomerasa de triosa fosfato mostró una regulación a la baja (Hernández-Elizárraga et al. 2019). El aumento en la abundancia de la alfa-enolasa podría representar una respuesta a la disminución en la disponibilidad de energía como consecuencia de la reducción en la densidad de simbiontes, dado que la glucólisis es una fuente principal de ATP y

proporciona moléculas precursoras para la síntesis de lípidos (Hernández-Elizárraga et al., 2019; Leggat et al., 2011). Por el contrario, la regulación negativa de la isomerasa de triosa fosfato sugiere que el estrés térmico induce una supresión de esta enzima como un mecanismo para redirigir el flujo metabólico de la glucólisis hacia la vía de las pentosas fosfato, lo que permite contrarrestar el daño oxidativo mediante la generación de NADPH, un importante agente antioxidante (Hernández-Elizárraga et al., 2019; Nogae & Johnston, 1990; Pollak et al., 2007; Ralser et al., 2007).

A pesar de la ausencia de otras proteínas diferencialmente abundantes relacionadas con el metabolismo de los carbohidratos, la sobreexpresión de la enolasa observada en este estudio podría estar vinculada a este fenómeno, indicando una posible reconfiguración metabólica en respuesta a las condiciones de blanqueamiento. Esta reconfiguración podría representar un ajuste adaptativo en el metabolismo energético del coral, en el que se favorece la activación de rutas glucolíticas para compensar la pérdida de aporte energético proveniente de sus endosimbiontes.

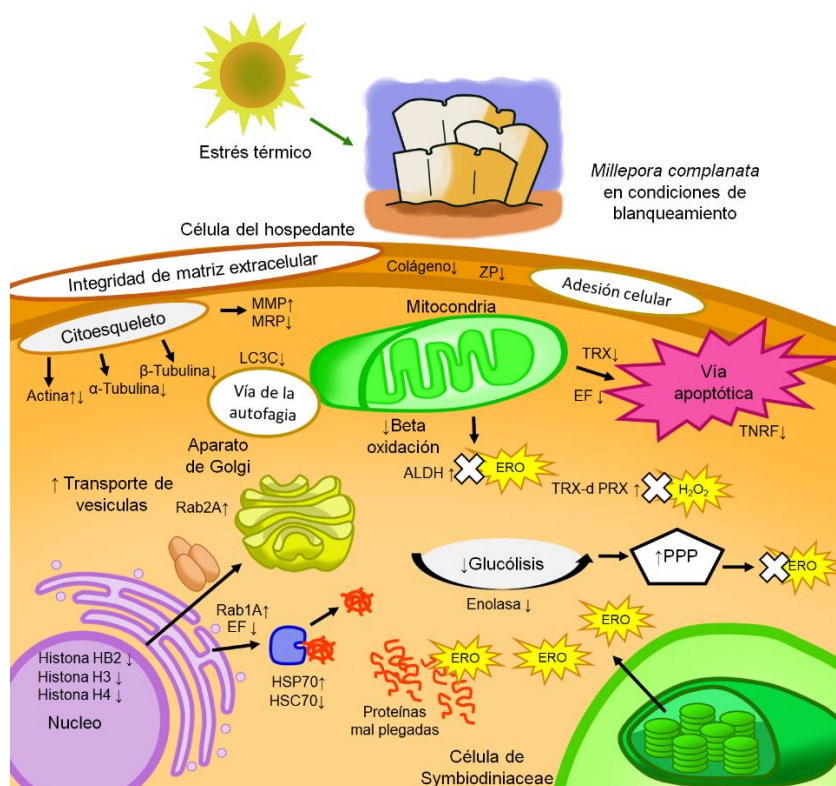


Figura 21. Procesos celulares afectados por la abundancia diferencial de proteínas en especímenes de *M. complanata* blanqueados por estrés térmico. ↑ Indica aumento en la abundancia de proteínas y procesos; ↓ indica disminución en la abundancia de proteínas y procesos. Las cruces blancas representan contrarresto. Acrónimos: tiorredoxina (TRX), proteína de choque térmico 70 (HSP70), proteína de choque térmico 70 cognada (HSC70), especies reactivas de oxígeno (ROS), vía de las pentosas fosfato (PPP), aldehído deshidrogenasa (ALDH), peroxirredoxina dependiente de tiorredoxina (TRX-d PRX), proteína con dominio EF-hand (EF), proteína motora de miosina (MMP), proteína reguladora de miosina (MRP), proteína de cadena ligera 3C asociada a microtúbulos 1A/1B (LC3C), proteína con dominio ZP (ZP).

Los cambios proteómicos observados en *M. complanata* durante el blanqueamiento resaltan los esfuerzos del anfitrión cnidario por adaptarse al estrés térmico mediante procesos como la regulación del transporte intracelular, la reorganización del citoesqueleto y el mantenimiento de la homeostasis redox. Estos mecanismos adaptativos podrían ayudar a mitigar el daño celular inmediato, reflejando la capacidad del holobionte para responder a los factores de estrés ambiental. Sin embargo, la disminución en la abundancia de proteínas esenciales para la reparación tisular, la proliferación celular y la integridad estructural sugiere limitaciones en la resiliencia a largo plazo de *M. complanata* en comparación con otros corales, los cuales a menudo presentan mecanismos de recuperación más robustos. Estos hallazgos resaltan la vulnerabilidad de *M. complanata* ante eventos de blanqueamiento repetidos o prolongados, los cuales podrían comprometer su persistencia en escenarios futuros de cambio climático. Además, la identificación de HSP70 y proteínas con dominio EF-hand como efectores clave en la respuesta al estrés sugiere su potencial como biomarcadores para la detección temprana de estrés y el monitoreo de la resiliencia en *M. complanata*. Esto proporciona un panorama valioso para ayudar a comprender mejor y gestionar las estrategias de supervivencia de los hidrocorales en entornos marinos en constante cambio.

Limitantes

En este punto, es importante considerar que una de las limitaciones de este estudio radica en la recolección de especímenes de hidrocorales provenientes de una sola colonia por condición. Sin duda, el muestreo de múltiples colonias por condición habría proporcionado una mayor diversidad genética, permitiendo una comprensión más amplia de la variabilidad proteómica y aumentando la relevancia biológica de los hallazgos. Lamentablemente, debido a restricciones de accesibilidad y permisos en el momento de la recolección, el muestreo tuvo que limitarse a una sola colonia por condición. Sin embargo, explorando los antecedentes es posible encontrarse con diversos estudios ómicos sobre blanqueamiento que se han realizado con especímenes recolectados de la misma colonia o de líneas clonales de laboratorio (DeSalvo et al., 2010; Ishii et al., 2019; Sproles et al., 2019; Starcevic et al., 2010; Weston et al., 2015). Si bien esta limitación reduce el alcance de la replicación biológica, en el presente estudio se empleó una combinación de enfoques estadísticos univariados y multivariados para reforzar la solidez de nuestros resultados. Estos métodos, que han sido aplicados con éxito en otros estudios ómicos (Durbin et al., 2002; Huber et al., 2002), permiten identificar patrones incluso aun cuando el tamaño de la muestra es limitado. No obstante, los estudios futuros deben aspirar a incorporar un mayor número de réplicas biológicas provenientes de múltiples colonias para considerar la variabilidad entre colonias y fortalecer aún más la validación estadística de los hallazgos.

Por otra parte, la complejidad del proteoma es un factor crucial para considerar al estudiar el proteoma. Al tratarse de una entidad dinámica en constante cambio, la abundancia de diversos tipos de proteínas y proteoformas puede variar debido a múltiples factores, incluso dentro de un mismo organismo (Harper et al., 2016). Estos cambios, en conjunto, pueden generar resultados contrastantes en estudios proteómicos dirigidos a investigar condiciones como el blanqueamiento coralino. Aunque las proteínas identificadas proporcionan una visión general de algunos de los procesos afectados por el estrés térmico en *M. complanata*, estudios adicionales serían requeridos para evaluar la actividad proteica, y así profundizar en la comprensión de los mecanismos de supervivencia celular de estos holobiontes.

9. Conclusiones

El presente estudio proporciona nuevos conocimientos sobre los posibles cambios en los procesos celulares y de supervivencia asociados a las variaciones en la abundancia de proteínas al comparar los proteomas totales de *M. complanata* en condiciones de no blanqueamiento y blanqueamiento después del ENSO 2015-2016. Estos hallazgos permiten identificar patrones diferenciales de expresión proteica que podrían estar relacionados con mecanismos de adaptación o vulnerabilidad frente al estrés térmico. La alteración de estos procesos celulares ha sido ampliamente reportada en estudios previos sobre blanqueamiento en otros cnidarios, utilizando enfoques tanto proteómicos como transcriptómicos para evaluar las respuestas moleculares ante condiciones ambientales adversas.

Nuestros resultados revelan patrones diferenciales en la abundancia de proteínas involucradas en diversos procesos biológicos, tales como la biosíntesis de aminoácidos, el metabolismo de carbohidratos, la comunicación celular, el ciclo celular, la reparación del ADN, el mantenimiento de la matriz extracelular, la respuesta a choque térmico, la señalización y el transporte intracelular. Estos cambios reflejan una reconfiguración molecular que sugiere tanto mecanismos de adaptación como posibles desajustes fisiológicos en respuesta al estrés térmico. Además, resaltan las respuestas del cnidario ante condiciones ambientales adversas, al mismo tiempo que evidencian posibles vulnerabilidades estructurales y funcionales, como una menor capacidad de reparación tisular y proliferación celular, lo que, en consecuencia, podría limitar su resiliencia a largo plazo y afectar su capacidad de recuperación frente a eventos de blanqueamiento recurrentes.

Además, nuestro estudio contribuye a una comprensión más amplia y detallada de las respuestas proteómicas exhibidas por los cnidarios formadores de arrecifes ante el fenómeno del blanqueamiento, proporcionando información clave sobre los mecanismos moleculares involucrados en su adaptación y vulnerabilidad. Por otra parte, investigaciones futuras que exploren perfiles metabolómicos y ensayos enzimáticos podrían aportar datos adicionales sobre la regulación bioquímica y la

dinámica metabólica de estos organismos bajo condiciones de estrés. Esto, a su vez, permitiría obtener una comprensión más integral de sus respuestas fisiológicas al blanqueamiento, así como una mejor evaluación de su capacidad de recuperación y persistencia en condiciones oceánicas adversas y en escenarios de cambio climático acelerado.

11. REFERENCIAS

- Adjeroud, M., Kayal, M., & Penin, L. (2017). Importance of Recruitment Processes in the Dynamics and Resilience of Coral Reef Assemblages. In S. Rossi, L. Bramanti, A. Gori, & C. Orejas (Eds.), *Marine Animal Forests: The Ecology of Benthic Biodiversity Hotspots* (pp. 549–569). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-21012-4_12
- Ahmadia, G. N., Tornabene, L., Smith, D. J., & Pezold, F. L. (2018). The relative importance of regional, local, and evolutionary factors structuring cryptobenthic coral-reef assemblages. *Coral Reefs*, 37(1), 279–293. <https://doi.org/10.1007/s00338-018-1657-2>
- Ainsworth, T., Wasmund, K., L., U., Seneca, F., Yellowlees, D., Miller, D., & Leggat, W. (2011). Defining the tipping point. A complex cellular life/death balance in corals in response to stress. *Scientific Reports*, 1, 160. <https://doi.org/10.1038/srep00160>
- Alcantar-Orozco, E. D. J. (2020). *ESTUDIO PROTEÓMICO DEL EFECTO DEL ESTRÉS TÉRMICO RESPONSABLE DEL BLANQUEAMIENTO DE ARRECIFES CORALINOS EN EL HOLOBIONTE DEL “CORAL DE FUEGO” Millepora complanata*. <https://ring.uaq.mx/handle/123456789/2007>
- Amend, A. S., Barshis, D. J., & Oliver, T. A. (2012). Coral-associated marine fungi form novel lineages and heterogeneous assemblages. *The ISME Journal*, 6(7), 1291–1301. <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.193>
- Axworthy, J. B., Timmins-Schiffman, E., Brown, T., Rodrigues, L. J., Nunn, B. L., & Padilla-Gamiño, J. L. (2022). Shotgun Proteomics Identifies Active Metabolic Pathways in Bleached Coral Tissue and Intraskelatal Compartments. *Frontiers in Marine Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fmars.2022.797517>
- Baker, A. C., Glynn, P. W., & Riegl, B. (2008). Climate change and coral reef bleaching: An ecological assessment of long-term impacts, recovery trends and future outlook. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 80(4), 435–471. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2008.09.003>

- Ball, E. E., Hayward, D. C., Saint, R., & Miller, D. J. (2004). A simple plan—Cnidarians and the origins of developmental mechanisms. *Nature Reviews Genetics*, 5(8), 567–577. <https://doi.org/10.1038/nrg1402>
- Barott, K. L., Venn, A. A., Perez, S. O., Tambutté, S., & Tresguerres, M. (2015). Coral host cells acidify symbiotic algal microenvironment to promote photosynthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(2), 607–612. <https://doi.org/10.1073/pnas.1413483112>
- Barshis, D. J., Ladner, J. T., Oliver, T. A., Seneca, F. O., Traylor-Knowles, N., & Palumbi, S. R. (2013). Genomic basis for coral resilience to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(4), 1387–1392. <https://doi.org/10.1073/pnas.1210224110>
- Beepat, S. S., Davy, S. K., Oakley, C. A., Mashini, A., Peng, L., & Bell, J. J. (2021). Increased cellular detoxification, cytoskeletal activities and protein transport explain physiological stress in a lagoon sponge. *The Journal of Experimental Biology*, 224(22), jeb242820. <https://doi.org/10.1242/jeb.242820>
- Bentis, C., Kaufman, L., & Golubic, S. (2000). Endolithic fungi in reef-building corals (Order: Scleractinia) are common, cosmopolitan, and potentially pathogenic. *The Biological Bulletin*, 198(2), 254–260. <https://doi.org/10.2307/1542528>
- Bernasconi, R., Stat, M., Koenders, A., & Huggett, M. J. (2019). Global Networks of Symbiodinium-Bacteria Within the Coral Holobiont. *Microbial Ecology*, 77(3), 794–807. <https://doi.org/10.1007/s00248-018-1255-4>
- Berridge, M. J., Lipp, P., & Bootman, M. D. (2000). The versatility and universality of calcium signalling. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 1(1), 11–21. <https://doi.org/10.1038/35036035>
- Bhagooli, R. (2013). Inhibition of Calvin–Benson cycle suppresses the repair of photosystem II in Symbiodinium: Implications for coral bleaching. *Hydrobiologia*, 714(1), 183–190. <https://doi.org/10.1007/s10750-013-1535-4>
- Blank, R. J., & Trench, R. K. (1985). Speciation and Symbiotic Dinoflagellates. *Science*, 229(4714), 656–658. <https://doi.org/10.1126/science.229.4714.656>
- Boissin, E., Leung, J. K. L., Denis, V., Bourmaud, C. A. F., & Gravier-Bonnet, N. (2020). Morpho-molecular delineation of structurally important reef species,

- the fire corals, *Millepora* spp., at Réunion Island, Southwestern Indian Ocean. *Hydrobiologia*, 847(5), 1237–1255. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04179-0>
- Bokhove, M., & Jovine, L. (2018). Chapter Thirteen—Structure of Zona Pellucida Module Proteins. In E. S. Litscher & P. M. Wassarman (Eds.), *Current Topics in Developmental Biology* (Vol. 130, pp. 413–442). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/bs.ctdb.2018.02.007>
- Bourne, D. G., Morrow, K. M., & Webster, N. S. (2016). Insights into the Coral Microbiome: Underpinning the Health and Resilience of Reef Ecosystems. *Annual Review of Microbiology*, 70(Volume 70, 2016), 317–340. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-102215-095440>
- Campos, E. I., & Reinberg, D. (2009). Histones: Annotating Chromatin. *Annual Review of Genetics*, 43(Volume 43, 2009), 559–599. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.032608.103928>
- Carbonara, K., Andonovski, M., & Coorssen, J. R. (2021). Proteomes Are of Proteoforms: Embracing the Complexity. *Proteomes*, 9(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/proteomes9030038>
- Chang, E. S., Neuhofer, M., Rubinstein, N. D., Diamant, A., Philippe, H., Huchon, D., & Cartwright, P. (2015). Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(48), 14912–14917. <https://doi.org/10.1073/pnas.1511468112>
- Cheng, H., Zhao, H., Yang, T., Ruan, S., Wang, H., Xiang, N., Zhou, H., Li, Q. X., & Diao, X. (2018). Comparative evaluation of five protocols for protein extraction from stony corals (Scleractinia) for proteomics. *ELECTROPHORESIS*, 39(8), 1062–1070. <https://doi.org/10.1002/elps.201700436>
- Cheung, A. Y., Chen, C. Y. -h., Glaven, R. H., de Graaf, B. H. J., Vidal, L., Hepler, P. K., & Wu, H. (2002). Rab2 GTPase Regulates Vesicle Trafficking between the Endoplasmic Reticulum and the Golgi Bodies and Is Important to Pollen Tube Growth[W]. *The Plant Cell*, 14(4), 945–962. <https://doi.org/10.1105/tpc.000836>
- Clapham, D. E. (2007). Calcium Signaling. *Cell*, 131(6), 1047–1058. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.11.028>

- Cleves, P. A., Krediet, C. J., Lehnert, E. M., Onishi, M., & Pringle, J. R. (2020). Insights into coral bleaching under heat stress from analysis of gene expression in a sea anemone model system. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(46), 28906–28917. <https://doi.org/10.1073/pnas.2015737117>
- Colinge, J., Chiappe, D., Lagache, S., Moniatte, M., & Bougueleret, L. (2005). Differential Proteomics via Probabilistic Peptide Identification Scores. *Analytical Chemistry*, 77(2), 596–606. <https://doi.org/10.1021/ac0488513>
- Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2013). Natural products: A continuing source of novel drug leads. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(6), 3670–3695. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>
- Császár, N. B. M., Seneca, F. O., & Oppen, M. J. H. van. (2009). Variation in antioxidant gene expression in the scleractinian coral *Acropora millepora* under laboratory thermal stress. *Marine Ecology Progress Series*, 392, 93–102. <https://doi.org/10.3354/meps08194>
- Cunha, A. F., Collins, A. G., & Marques, A. C. (2020). When morphometry meets taxonomy: Morphological variation and species boundaries in Proboscoida (Cnidaria: Hydrozoa). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 190(2), 417–447. <https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlz166>
- Curtis, H., & Schnek, A. (2006). *Invitación a la biología*. Ed. Médica Panamericana.
- DeSalvo, M. K., Sunagawa, S., Voolstra, C. R., & Medina, M. (2010). Transcriptomic responses to heat stress and bleaching in the elkhorn coral *Acropora palmata*. *Marine Ecology Progress Series*, 402, 97–113. <https://doi.org/10.3354/meps08372>
- Domínguez, D. C., Guragain, M., & Patrauchan, M. (2015). Calcium binding proteins and calcium signaling in prokaryotes. *Cell Calcium*, 57(3), 151–165. <https://doi.org/10.1016/j.ceca.2014.12.006>
- Downs, C. A., Fauth, J. E., Halas, J. C., Dustan, P., Bemiss, J., & Woodley, C. M. (2002). Oxidative stress and seasonal coral bleaching. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(4), 533–543. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(02\)00907-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(02)00907-3)

- Downs, C. A., Kramarsky-Winter, E., Martinez, J., Kushmaro, A., Woodley, C. M., Loya, Y., & Ostrander, G. K. (2009). Symbiophagy as a cellular mechanism for coral bleaching. *Autophagy*, 5(2), 211–216. <https://doi.org/10.4161/auto.5.2.7405>
- Drazic, A., Aksnes, H., Marie, M., Boczkowska, M., Varland, S., Timmerman, E., Foy, H., Glomnes, N., Rebowski, G., Impens, F., Gevaert, K., Dominguez, R., & Arnesen, T. (2018). NAA80 is actin's N-terminal acetyltransferase and regulates cytoskeleton assembly and cell motility. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(17), 4399–4404. <https://doi.org/10.1073/pnas.1718336115>
- Drees, L., Schneider, S., Riedel, D., Schuh, R., & Behr, M. (2023). The proteolysis of ZP proteins is essential to control cell membrane structure and integrity of developing tracheal tubes in *Drosophila*. *eLife*, 12, e91079. <https://doi.org/10.7554/eLife.91079>
- Dubé, C. E., Bourmaud, C. A. F., Mercière, A., Planes, S., Boissin, E., Dubé, C. E., Bourmaud, C. A. F., Mercière, A., Planes, S., & Boissin, E. (2019). Ecology, Biology and Genetics of *Millepora* Hydrocorals on Coral Reefs. In *Invertebrates—Ecophysiology and Management*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.89103>
- Dunn, S. R., Schnitzler, C. E., & Weis, V. M. (2007). Apoptosis and autophagy as mechanisms of dinoflagellate symbiont release during cnidarian bleaching: Every which way you lose. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 274(1629), 3079–3085. <https://doi.org/10.1098/rspb.2007.0711>
- Durbin, B., Hardin, J., Hawkins, D., & Rocke, D. (2002). A Variance-Stabilizing Transformation for Gene-Expression Microarray Data. *Bioinformatics*, 18. <https://escholarship.org/uc/item/37j5b4z7>
- Ellinger, J. J., Chylla, R. A., Ulrich, E. L., & Markley, J. L. (n.d.). Databases and Software for NMR-Based Metabolomics. <http://www.Eurekaselect.Com>. Retrieved October 14, 2024, from <https://www.eurekaselect.com/article/47597>
- Fan, T., Wang, R., Xiang, Y., An, L., & Cao, S. (2016). Heat stress induces actin cytoskeletal reorganization and transcript profiles of vegetative profilins and

- actin depolymerizing factors (ADFs) in Arabidopsis. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(2), 37. <https://doi.org/10.1007/s11738-016-2061-6>
- Fernández Alamo, M. A., & Rivas Lechuga, G. (2007). Niveles de Organización en Animales. 432. <http://repositorio.fcencias.unam.mx:8080/xmlui/handle/11154/141499>
- Fitt, W. K., Gates, R. D., Hoegh-Guldberg, O., Bythell, J. C., Jatkar, A., Grottoli, A. G., Gomez, M., Fisher, P., Lajuenesse, T. C., Pantos, O., Iglesias-Prieto, R., Franklin, D. J., Rodrigues, L. J., Torregiani, J. M., van Woesik, R., & Lesser, M. P. (2009). Response of two species of Indo-Pacific corals, *Porites cylindrica* and *Stylophora pistillata*, to short-term thermal stress: The host does matter in determining the tolerance of corals to bleaching. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 373(2), 102–110. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2009.03.011>
- Fletcher, D. A., & Mullins, R. D. (2010). Cell mechanics and the cytoskeleton. *Nature*, 463(7280), 485–492. <https://doi.org/10.1038/nature08908>
- Foo, J. L., Ling, H., Lee, Y. S., & Chang, M. W. (2017). Microbiome engineering: Current applications and its future. *Biotechnology Journal*, 12(3), 1600099. <https://doi.org/10.1002/biot.201600099>
- Fransolet, D., Roberty, S., & Plumier, J.-C. (2012). Establishment of endosymbiosis: The case of cnidarians and *Symbiodinium*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 420–421, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2012.03.015>
- Fujii, J., & Ikeda, Y. (2002). Advances in our understanding of peroxiredoxin, a multifunctional, mammalian redox protein. *Redox Report*, 7(3), 123–130. <https://doi.org/10.1179/135100002125000352>
- Gardner, S. G., Raina, J.-B., Nitschke, M. R., Nielsen, D. A., Stat, M., Motti, C. A., Ralph, P. J., & Petrou, K. (2017). A multi-trait systems approach reveals a response cascade to bleaching in corals. *BMC Biology*, 15(1), 117. <https://doi.org/10.1186/s12915-017-0459-2>
- Gates, R. D., Baghdasarian, G., & Muscatine, L. (1992). Temperature Stress Causes Host Cell Detachment in Symbiotic Cnidarians: Implications for Coral

- Bleaching. *The Biological Bulletin*, 182(3), 324–332.
<https://doi.org/10.2307/1542252>
- Glasl, B., Herndl, G. J., & Frade, P. R. (2016). The microbiome of coral surface mucus has a key role in mediating holobiont health and survival upon disturbance. *The ISME Journal*, 10(9), 2280–2292.
<https://doi.org/10.1038/ismej.2016.9>
- Gruber, C. W., Čemažar, M., Heras, B., Martin, J. L., & Craik, D. J. (2006). Protein disulfide isomerase: The structure of oxidative folding. *Trends in Biochemical Sciences*, 31(8), 455–464. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2006.06.001>
- Gupta, A. (2019). *Climate Change and Global Warming: A Critical Analysis | National Journal of Environmental Law*.
<https://lawjournals.celnet.in/index.php/jel/article/view/248>
- Harada, S. (2001). [Classification of alcohol metabolizing enzymes and polymorphisms—Specificity in Japanese]. *Nihon Arukoru Yakubutsu Igakkai zasshi = Japanese journal of alcohol studies & drug dependence*, 36(2), 85–106.
- Harper, J. W., & Bennett, E. J. (2016). Proteome complexity and the forces that drive proteome imbalance. *Nature*, 537(7620), 328–338.
<https://doi.org/10.1038/nature19947>
- Harris, D. L., Rovere, A., Casella, E., Power, H., Canavesio, R., Collin, A., Pomeroy, A., Webster, J. M., & Parravicini, V. (2018). Coral reef structural complexity provides important coastal protection from waves under rising sea levels. *Science Advances*, 4(2), eaao4350. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aao4350>
- Hauer, M. H., & Gasser, S. M. (2017). Chromatin and nucleosome dynamics in DNA damage and repair. *Genes & Development*, 31(22), 2204–2221.
<https://doi.org/10.1101/gad.307702.117>
- Healty Reefs for Healty People organization. (2018). Mesoamerican Reef Report Card: An Evaluation of Ecosystem Healt. 15, 2-15(3).
- Heino, J. (2007). The collagen family members as cell adhesion proteins. *BioEssays*, 29(10), 1001–1010. <https://doi.org/10.1002/bies.20636>
- Helgoe, J., Davy, S. K., Weis, V. M., & Rodriguez-Lanetty, M. (2024). Triggers, cascades, and endpoints: Connecting the dots of coral bleaching

- mechanisms. *Biological Reviews*, 99(3), 715–752.
<https://doi.org/10.1111/brv.13042>
- Helmkamp, M., Renee Bellinger, M., Geib, S. M., Sim, S. B., & Takabayashi, M. (2019). Draft Genome of the Rice Coral *Montipora capitata* Obtained from Linked-Read Sequencing. *Genome Biology and Evolution*, 11(11), 3094.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evz203>
- Hernández-Elizárraga, V. H., Olguín-López, N., Hernández-Matehuala, R., Ocharán-Mercado, A., Cruz-Hernández, A., Guevara-González, R. G., Caballero-Pérez, J., Ibarra-Alvarado, C., Sánchez-Rodríguez, J., & Rojas-Molina, A. (2019). Comparative Analysis of the Soluble Proteome and the Cytolytic Activity of Unbleached and Bleached *Millepora complanata* (“Fire Coral”) from the Mexican Caribbean. *Marine Drugs*, 17(7), Article 7.
<https://doi.org/10.3390/md17070393>
- Hernández-Elizárraga, V. H. H., Olguín-López, N., Hernández-Matehuala, R., Caballero-Pérez, J., Ibarra-Alvarado, C., & Rojas-Molina, A. (2023). Transcriptomic differences between bleached and unbleached hydrozoan *Millepora complanata* following the 2015-2016 ENSO in the Mexican Caribbean. *PeerJ*, 11, e14626. <https://doi.org/10.7717/peerj.14626>
- Hillyer, K. E., Dias, D., Lutz, A., Roessner, U., & Davy, S. K. (2017). 13C metabolomics reveals widespread change in carbon fate during coral bleaching. *Metabolomics*, 14(1), 12. <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1306-8>
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby, P. J., Hooten, A. J., Steneck, R. S., Greenfield, P., Gomez, E., Harvell, C. D., Sale, P. F., Edwards, A. J., Caldeira, K., Knowlton, N., Eakin, C. M., Iglesias-Prieto, R., Muthiga, N., Bradbury, R. H., Dubi, A., & Hatzioi, M. E. (2007). Coral Reefs Under Rapid Climate Change and Ocean Acidification. *Science*, 318(5857), 1737–1742.
<https://doi.org/10.1126/science.1152509>
- Huang, N. F., Lai, E. S., Ribeiro, A. J. S., Pan, S., Pruitt, B. L., Fuller, G. G., & Cooke, J. P. (2013). Spatial patterning of endothelium modulates cell morphology, adhesiveness and transcriptional signature. *Biomaterials*, 34(12), 2928–2937. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.01.017>

- Huang, N. F., Zaitseva, T. S., & Paukshto, M. V. (2023). Biomedical Applications of Collagen. *Bioengineering*, 10(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/bioengineering10010090>
- Huber, W., von Heydebreck, A., Sltmann, H., Poustka, A., & Vingron, M. (2002). Variance stabilization applied to microarray data calibration and to the quantification of differential expression. *Bioinformatics*, 18(suppl_1), S96–S104. https://doi.org/10.1093/bioinformatics/18.suppl_1.S96
- Hughes, A. D., Grottoli, A. G., Pease, T. K., & Matsui, Y. (2010). Acquisition and assimilation of carbon in non-bleached and bleached corals. *Marine Ecology Progress Series*, 420, 91–101. <https://doi.org/10.3354/meps08866>
- Hughes, T. P., Kerry, J. T., Álvarez-Noriega, M., Álvarez-Romero, J. G., Anderson, K. D., Baird, A. H., Babcock, R. C., Beger, M., Bellwood, D. R., Berkelmans, R., Bridge, T. C., Butler, I. R., Byrne, M., Cantin, N. E., Comeau, S., Connolly, S. R., Cumming, G. S., Dalton, S. J., Diaz-Pulido, G., ... Wilson, S. K. (2017). Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*, 543(7645), 373–377. <https://doi.org/10.1038/nature21707>
- Hutagalung, A. H., & Novick, P. J. (2011). Role of Rab GTPases in Membrane Traffic and Cell Physiology. *Physiological Reviews*, 91(1), 119–149. <https://doi.org/10.1152/physrev.00059.2009>
- Iguchi, A., Iwanaga, S., & Nagai, H. (2008). Isolation and characterization of a novel protein toxin from fire coral. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 365(1), 107–112. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.10.153>
- Ishii, Y., Maruyama, S., Takahashi, H., Aihara, Y., Yamaguchi, T., Yamaguchi, K., Shigenobu, S., Kawata, M., Ueno, N., & Minagawa, J. (2019). Global Shifts in Gene Expression Profiles Accompanied with Environmental Changes in Cnidarian-Dinoflagellate Endosymbiosis. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 9(7), 2337–2347. <https://doi.org/10.1534/g3.118.201012>
- Jaimes-Becerra, A., Gacesa, R., Doonan, L. B., Hartigan, A., Marques, A. C., Okamura, B., & Long, P. F. (2019). “Beyond Primary Sequence”—Proteomic Data Reveal Complex Toxins in Cnidarian Venoms. *Integrative and Comparative Biology*, 59(4), 777–785. <https://doi.org/10.1093/icb/icz106>

- Jeong, H. J., Lee, S. Y., Kang, N. S., Yoo, Y. D., Lim, A. S., Lee, M. J., Kim, H. S., Yih, W., Yamashita, H., & LaJeunesse, T. C. (2014). Genetics and morphology characterize the dinoflagellate *Symbiodinium voratum*, n. Sp., (Dinophyceae) as the sole representative of *Symbiodinium* Clade E. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 61(1), 75–94. <https://doi.org/10.1111/jeu.12088>
- Jones, R. J., Hoegh-Guldberg, O., Larkum, A. W. D., & Schreiber, U. (1998). Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO₂ fixation mechanism in zooxanthellae. *Plant, Cell & Environment*, 21(12), 1219–1230. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1998.00345.x>
- Jovine, L., Qi, H., Williams, Z., Litscher, E., & Wassarman, P. M. (2002). The ZP domain is a conserved module for polymerization of extracellular proteins. *Nature Cell Biology*, 4(6), 457–461. <https://doi.org/10.1038/ncb802>
- Kabeya, Y., Mizushima, N., Ueno, T., Yamamoto, A., Kirisako, T., Noda, T., Kominami, E., Ohsumi, Y., & Yoshimori, T. (2000). LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing. *The EMBO Journal*, 19(21), 5720–5728. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.21.5720>
- Käll, L., Storey, J. D., & Noble, W. S. (2008). Non-parametric estimation of posterior error probabilities associated with peptides identified by tandem mass spectrometry. *Bioinformatics*, 24(16), i42–i48. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btn294>
- Kenkel, C. D., Aglyamova, G., Alamaru, A., Bhagooli, R., Capper, R., Cuning, R., deVillers, A., Haslun, J. A., Hédouin, L., Keshavmurthy, S., Kuehl, K. A., Mahmoud, H., McGinty, E. S., Montoya-Maya, P. H., Palmer, C. V., Pantile, R., Sánchez, J. A., Schils, T., Silverstein, R. N., ... Matz, M. V. (2011). Development of Gene Expression Markers of Acute Heat-Light Stress in Reef-Building Corals of the Genus *Porites*. *PLOS ONE*, 6(10), e26914. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0026914>
- Kobayashi, T., & Solaro, R. J. (2005). CALCIUM, THIN FILAMENTS, AND THE INTEGRATIVE BIOLOGY OF CARDIAC CONTRACTILITY. *Annual Review*

- of *Physiology*, 67(Volume 67, 2005), 39–67.
<https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.040403.114025>
- Kondo, R., Ishino, K., Wada, R., Takata, H., Peng, W.-X., Kudo, M., Kure, S., Kaneya, Y., Taniai, N., Yoshida, H., & Naito, Z. (2019). Downregulation of protein disulfide-isomerase A3 expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis through STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma. *International Journal of Oncology*, 54(4), 1409–1421.
<https://doi.org/10.3892/ijo.2019.4710>
- Kropp, L. M., Parsley, C. B., & Burnett, O. L. (2018). Millepora species (Fire Coral) Sting: A Case Report and Review of Recommended Management. *Wilderness & Environmental Medicine*, 29(4), 521–526.
<https://doi.org/10.1016/j.wem.2018.06.012>
- Kumar, K., Moirangthem, R., & Kaur, R. (2020). Histone H4 dosage modulates DNA damage response in the pathogenic yeast *Candida glabrata* via homologous recombination pathway. *PLOS Genetics*, 16(3), e1008620.
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1008620>
- LaBelle, S. A., Iv, A. M. P., Maas, S. A., Rauff, A., Ateshian, G. A., & Weiss, J. A. (2023). Spatial Configurations of 3D Extracellular Matrix Collagen Density and Anisotropy Simultaneously Guide Angiogenesis. *PLOS Computational Biology*, 19(10), e1011553. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1011553>
- 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., Parkinson, J. E., & Reimer, J. D. (2012). A genetics-based description of *Symbiodinium minutum* sp. Nov. And *S. psygmophilum* sp. Nov. (Dinophyceae), two dinoflagellates symbiotic with cnidaria. *Journal of Phycology*, 48(6), 1380–1391. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01217.x>
- LaJeunesse, T. C., Smith, R., Walther, M., Pinzón, 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>
- Lee, S. T. M., Keshavmurthy, S., Fontana, S., Takuma, M., Chou, W.-H., & Chen, C. A. (2018). Transcriptomic response in *Acropora muricata* under acute temperature stress follows preconditioned seasonal temperature fluctuations. *BMC Research Notes*, 11(1), 119. <https://doi.org/10.1186/s13104-018-3230-z>
- 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. (1997). Oxidative stress causes coral bleaching during exposure to elevated temperatures. *Coral Reefs*, 16(3), 187–192. <https://doi.org/10.1007/s003380050073>
- Levin, R. A., Voolstra, C. R., Weynberg, K. D., & van Oppen, M. J. H. (2017). Evidence for a role of viruses in the thermal sensitivity of coral photosymbionts. *The ISME Journal*, 11(3), 808–812. <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.154>
- Lewis, J. B. (2006). Biology and Ecology of the Hydrocoral *Millepora* on Coral Reefs. In *Advances in Marine Biology* (Vol. 50, pp. 1–55). Academic Press. [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(05\)50001-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(05)50001-4)
- Li, X., Meng, X., Luo, K., Luan, S., Cao, B., & Kong, J. (2017). cDNA cloning and expression analysis of a phosphopyruvate hydratase gene from the chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Fish & Shellfish Immunology*, 63, 173–180. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2017.01.042>
- Littman, R., Willis, B. L., & Bourne, D. G. (2011). Metagenomic analysis of the coral holobiont during a natural bleaching event on the Great Barrier Reef. *Environmental Microbiology Reports*, 3(6), 651–660. <https://doi.org/10.1111/j.1758-2229.2010.00234.x>

- Liu, H., Sadygov, R. G., & Yates, J. R. (2004). A Model for Random Sampling and Estimation of Relative Protein Abundance in Shotgun Proteomics. *Analytical Chemistry*, 76(14), 4193–4201. <https://doi.org/10.1021/ac0498563>
- Locksley, R. M., Killeen, N., & Lenardo, M. J. (2001). The TNF and TNF Receptor Superfamilies: Integrating Mammalian Biology. *Cell*, 104(4), 487–501. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(01\)00237-9](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(01)00237-9)
- Louis, Y. D., Bhagooli, R., Kenkel, C. D., Baker, A. C., & Dyll, S. D. (2017). Gene expression biomarkers of heat stress in scleractinian corals: Promises and limitations. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 191, 63–77. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2016.08.007>
- Loven, D. P. (1988). A role for reduced oxygen species in heat induced cell killing and the induction of thermotolerance. *Medical Hypotheses*, 26(1), 39–50. [https://doi.org/10.1016/0306-9877\(88\)90111-9](https://doi.org/10.1016/0306-9877(88)90111-9)
- Lu, J., & Holmgren, A. (2014). The thioredoxin antioxidant system. *Free Radical Biology & Medicine*, 66, 75–87. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.036>
- Manassero, M., Decambron, A., Guillemin, N., Petite, H., Bizios, R., & Viateau, V. (2016). Coral Scaffolds in Bone Tissue Engineering and Bone Regeneration. In S. Goffredo & Z. Dubinsky (Eds.), *The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of Medusa and her sisters* (pp. 691–714). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4_43
- Mansfield, K. M., & Gilmore, T. D. (2019). Innate immunity and cnidarian-Symbiodiniaceae mutualism. *Developmental & Comparative Immunology*, 90, 199–209. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2018.09.020>
- Manzello, D. P., Mark Eakin, C., & Glynn, P. W. (2017). Effects of Global Warming and Ocean Acidification on Carbonate Budgets of Eastern Pacific Coral Reefs. In P. W. Glynn, D. P. Manzello, & I. C. Enochs (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment* (pp. 517–533). Springer Netherlands. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_18
- Maor-Landaw, K., Karako-Lampert, S., Ben-Asher, H. W., Goffredo, S., Falini, G., Dubinsky, Z., & Levy, O. (2014). Gene expression profiles during short-term

- heat stress in the red sea coral *Stylophora pistillata*. *Global Change Biology*, 20(10), 3026–3035. <https://doi.org/10.1111/gcb.12592>
- Maor-Landaw, K., & Levy, O. (2016). Survey of Cnidarian Gene Expression Profiles in Response to Environmental Stressors: Summarizing 20 Years of Research, What Are We Heading for? In S. Goffredo & Z. Dubinsky (Eds.), *The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of Medusa and her sisters* (pp. 523–543). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-31305-4_32
- Maringer, K., Yarbrough, A., Sims-Lucas, S., Saheb, E., Jawed, S., & Bush, J. (2016). Dictyostelium discoideum RabS and Rab2 colocalize with the Golgi and contractile vacuole system and regulate osmoregulation. *Journal of Biosciences*, 41(2), 205–217. <https://doi.org/10.1007/s12038-016-9610-4>
- Matthews, H., Hanison, J., & Nirmalan, N. (2016). “Omics”-Informed Drug and Biomarker Discovery: Opportunities, Challenges and Future Perspectives. *Proteomes*, 4(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/proteomes4030028>
- Mayfield, A. B., Aguilar, C., Kolodziej, G., Enochs, I. C., & Manzello, D. P. (2021). Shotgun Proteomic Analysis of Thermally Challenged Reef Corals. *Frontiers in Marine Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fmars.2021.660153>
- Mayfield, A. B., Chen, Y.-J., Lu, C.-Y., & Chen, C.-S. (2018). The proteomic response of the reef coral *Pocillopora acuta* to experimentally elevated temperatures. *PLOS ONE*, 13(1), e0192001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0192001>
- Mayfield, A. B., & Lin, C. (2023). Field-Testing a Proteomics-Derived Machine-Learning Model for Predicting Coral Bleaching Susceptibility. *Applied Sciences*, 13(3), Article 3. <https://doi.org/10.3390/app13031718>
- Mcleod, E., Anthony, K. R. N., Mumby, P. J., Maynard, J., Beeden, R., Graham, N. A. J., Heron, S. F., Hoegh-Guldberg, O., Jupiter, S., MacGowan, P., Mangubhai, S., Marshall, N., Marshall, P. A., McClanahan, T. R., Mcleod, K., Nyström, M., Obura, D., Parker, B., Possingham, H. P., ... Tamelander, J. (2019). The future of resilience-based management in coral reef ecosystems. *Journal of Environmental Management*, 233, 291–301. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.11.034>

- Meron, D., Maor-Landaw, K., Weizman, E., Waldman Ben-Asher, H., Eyal, G., Banin, E., Loya, Y., & Levy, O. (2019). The Algal Symbiont Modifies the Transcriptome of the Scleractinian Coral *Euphyllia paradivisa* during Heat Stress. *Microorganisms*, 7(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7080256>
- Meyer, E., Aglyamova, G. V., Wang, S., Buchanan-Carter, J., Abrego, D., Colbourne, J. K., Willis, B. L., & Matz, M. V. (2009). Sequencing and de novo analysis of a coral larval transcriptome using 454 GSFlx. *BMC Genomics*, 10(1), 219. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-219>
- Mizushima, N., Yoshimori, T., & Levine, B. (2010). Methods in Mammalian Autophagy Research. *Cell*, 140(3), 313–326. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2010.01.028>
- Moya, A., Ganot, P., Furla, P., & Sabourault, C. (2012). The transcriptomic response to thermal stress is immediate, transient and potentiated by ultraviolet radiation in the sea anemone *Anemonia viridis*. *Molecular Ecology*, 21(5), 1158–1174. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2012.05458.x>
- Nesvizhskii, A. I., Keller, A., Kolker, E., & Aebersold, R. (2003). A Statistical Model for Identifying Proteins by Tandem Mass Spectrometry. *Analytical Chemistry*, 75(17), 4646–4658. <https://doi.org/10.1021/ac0341261>
- Nogae, I., & Johnston, M. (1990). Isolation and characterization of the *ZWF1* gene of *Saccharomyces cerevisiae*, encoding glucose-6-phosphate dehydrogenase. *Gene*, 96(2), 161–169. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(90\)90248-P](https://doi.org/10.1016/0378-1119(90)90248-P)
- Oakley, C. A., & Davy, S. K. (2018). Cell Biology of Coral Bleaching. In M. J. H. van Oppen & J. M. Lough (Eds.), *Coral Bleaching: Patterns, Processes, Causes and Consequences* (pp. 189–211). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-75393-5_8
- Oakley, C. A., Durand, E., Wilkinson, S. P., Peng, L., Weis, V. M., Grossman, A. R., & Davy, S. K. (2017). Thermal Shock Induces Host Proteostasis Disruption and Endoplasmic Reticulum Stress in the Model Symbiotic Cnidarian *Aiptasia*. *Journal of Proteome Research*, 16(6), 2121–2134. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.6b00797>

- Obura, D. O. (2009). Reef corals bleach to resist stress. *Marine Pollution Bulletin*, 58(2), 206–212. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2008.10.002>
- Okamura, T., Uemura, N., Baba, S., Yasuda, N., Yamashiro, H., Imai, K., Nishikawa, T., Shimizu, H., Shida, M., Tominaga, K., & Tanaka, A. (2017). Montipora digitata Exoskeleton Derived Aragonite Particles are useful Scaffold for Tissue-engineered Vascular Graft in Vitro. *Nano Biomedicine*, 9(2), 105–111. <https://doi.org/10.11344/nano.9.105>
- Olguín-López, N., Hernández-Elizárraga, V. H., Hernández-Matehuala, R., Cruz-Hernández, A., Guevara-González, R., Caballero-Pérez, J., Ibarra-Alvarado, C., & Rojas-Molina, A. (2019). Impact of El Niño-Southern Oscillation 2015-2016 on the soluble proteomic profile and cytolytic activity of Millepora alcicornis (“fire coral”) from the Mexican Caribbean. *PeerJ*, 7, e6593. <https://doi.org/10.7717/peerj.6593>
- O'Mahony, P. J., & Oliver, M. J. (1999). Characterization of a desiccation-responsive small GTP-binding protein (Rab2) from the desiccation-tolerant grass Sporobolus stapfianus. *Plant Molecular Biology*, 39(4), 809–821. <https://doi.org/10.1023/A:1006183431854>
- Orrenius, S., Burkitt, M. J., Kass, G. E. N., Dypbukt, J. M., & Nicotera, P. (1992). Calcium ions and oxidative cell injury. *Annals of Neurology*, 32(S1), S33–S42. <https://doi.org/10.1002/ana.410320708>
- O'Sullivan, A., Willoughby, R. E., Mishchuk, D., Alcarraz, B., Cabezas-Sanchez, C., Condori, R. E., David, D., Encarnacion, R., Fatteh, N., Fernandez, J., Franka, R., Hedderwick, S., McCaughey, C., Ondrush, J., Paez-Martinez, A., Rupprecht, C., Velasco-Villa, A., & Slupsky, C. M. (2013). Metabolomics of Cerebrospinal Fluid from Humans Treated for Rabies. *Journal of Proteome Research*, 12(1), 481–490. <https://doi.org/10.1021/pr3009176>
- Özbek, S. (2011). The cnidarian nematocyst: A miniature extracellular matrix within a secretory vesicle. *Protoplasma*, 248(4), 635–640. <https://doi.org/10.1007/s00709-010-0219-4>
- Park, E., Hwang, D.-S., Lee, J.-S., Song, J.-I., Seo, T.-K., & Won, Y.-J. (2012). Estimation of divergence times in cnidarian evolution based on mitochondrial

- protein-coding genes and the fossil record. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 62(1), 329–345. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.10.008>
- Park, G., & Oh, M. S. (2015). Acceleration of heat shock-induced collagen breakdown in human dermal fibroblasts with knockdown of NF-E2-related factor 2. *BMB Reports*, 48(8), 467–472. <https://doi.org/10.5483/BMBRep.2015.48.8.215>
- Perochon, A., Aldon, D., Galaud, J.-P., & Ranty, B. (2011). Calmodulin and calmodulin-like proteins in plant calcium signaling. *Biochimie*, 93(12), 2048–2053. <https://doi.org/10.1016/j.biochi.2011.07.012>
- Petrou, K., Nunn, B. L., Padula, M. P., Miller, D. J., & Nielsen, D. A. (2021). Broad scale proteomic analysis of heat-destabilised symbiosis in the hard coral *Acropora millepora*. *Scientific Reports*, 11(1), 19061. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-98548-x>
- Pinzón, J. H., Kamel, B., Burge, C. A., Harvell, C. D., Medina, M., Weil, E., & Mydlarz, L. D. (2015). Whole transcriptome analysis reveals changes in expression of immune-related genes during and after bleaching in a reef-building coral. *Royal Society Open Science*, 2(4), 140214. <https://doi.org/10.1098/rsos.140214>
- Pochon, X., & Gates, R. D. (2010). A new *Symbiodinium* clade (Dinophyceae) from soritid foraminifera in Hawai'i. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 56(1), 492–497. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2010.03.040>
- Pollak, N., Dölle, C., & Ziegler, M. (2007). The power to reduce: Pyridine nucleotides – small molecules with a multitude of functions. *Biochemical Journal*, 402(2), 205–218. <https://doi.org/10.1042/BJ20061638>
- Pramod, S., K., A., Xavier, S., Kv, S., & Thulaseedharan, A. (2017). Expression analysis of genes encoding sHSP and Rab1 in *Hevea brasiliensis*. *Indian Journal of Biotechnology*, 13, 391–402.
- Ralser, M., Wamelink, M. M., Kowald, A., Gerisch, B., Heeren, G., Struys, E. A., Klipp, E., Jakobs, C., Breitenbach, M., Lehrach, H., & Krobitsch, S. (2007). Dynamic rerouting of the carbohydrate flux is key to counteracting oxidative stress. *Journal of Biology*, 6(4), 10. <https://doi.org/10.1186/jbiol61>

- Reed, K. C., Muller, E. M., & Woesik, R. van. (2010). Coral immunology and resistance to disease. *Diseases of Aquatic Organisms*, 90(2), 85–92. <https://doi.org/10.3354/dao02213>
- Ren, X., Ma, H., Qiu, Y., Liu, B., Qi, H., Li, Z., Kong, H., & Kong, L. (2015). The downregulation of thioredoxin accelerated Neuro2a cell apoptosis induced by advanced glycation end product via activating several pathways. *Neurochemistry International*, 87, 128–135. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.06.009>
- Ricaurte, M., Schizas, N. V., Ciborowski, P., & Boukli, N. M. (2016). Proteomic analysis of bleached and unbleached *Acropora palmata*, a threatened coral species of the Caribbean. *Marine Pollution Bulletin*, 107(1), 224–232. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.03.068>
- Richier, S., Rodriguez-Lanetty, M., Schnitzler, C. E., & Weis, V. M. (2008). Response of the symbiotic cnidarian *Anthopleura elegantissima* transcriptome to temperature and UV increase. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 3(4), 283–289. <https://doi.org/10.1016/j.cbd.2008.08.001>
- Rittié, L., & Fisher, G. J. (2002). UV-light-induced signal cascades and skin aging. *Ageing Research Reviews*, 1(4), 705–720. [https://doi.org/10.1016/S1568-1637\(02\)00024-7](https://doi.org/10.1016/S1568-1637(02)00024-7)
- Rodríguez, L., López, C., Casado-Amezua, P., Ruiz-Ramos, D. V., Martínez, B., Banaszak, A., Tuya, F., García-Fernández, A., & Hernández, M. (2019). Genetic relationships of the hydrocoral *Millepora alcicornis* and its symbionts within and between locations across the Atlantic. *Coral Reefs*, 38(2), 255–268. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01772-1>
- Rosado, P. M., Leite, D. C. A., Duarte, G. A. S., Chaloub, R. M., Jospin, G., Nunes da Rocha, U., P Saraiva, J., Dini-Andreote, F., Eisen, J. A., Bourne, D. G., & Peixoto, R. S. (2019). Marine probiotics: Increasing coral resistance to bleaching through microbiome manipulation. *The ISME Journal*, 13(4), 921–936. <https://doi.org/10.1038/s41396-018-0323-6>
- Rose, N. H., Seneca, F. O., & Palumbi, S. R. (2016). Gene Networks in the Wild: Identifying Transcriptional Modules that Mediate Coral Resistance to

- Experimental Heat Stress. *Genome Biology and Evolution*, 8(1), 243–252.
<https://doi.org/10.1093/gbe/evv258>
- Rosic, N. N., Pernice, M., Dove, S., Dunn, S., & Hoegh-Guldberg, O. (2011). Gene expression profiles of cytosolic heat shock proteins Hsp70 and Hsp90 from symbiotic dinoflagellates in response to thermal stress: Possible implications for coral bleaching. *Cell Stress and Chaperones*, 16(1), 69–80.
<https://doi.org/10.1007/s12192-010-0222-x>
- Rowan, R., & Powers, D. A. (1991). A molecular genetic classification of zooxanthellae and the evolution of animal-algal symbioses. *Science (New York, N.Y.)*, 251(4999), 1348–1351.
<https://doi.org/10.1126/science.251.4999.1348>
- Rowan, R., & Powers, D. A. (1992). Ribosomal RNA sequences and the diversity of symbiotic dinoflagellates (zooxanthellae). *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(8), 3639–3643.
<https://doi.org/10.1073/pnas.89.8.3639>
- Saccenti, E., Hoefsloot, H. C. J., Smilde, A. K., Westerhuis, J. A., & Hendriks, M. M. W. B. (2014). Reflections on univariate and multivariate analysis of metabolomics data. *Metabolomics*, 10(3), 361–374.
<https://doi.org/10.1007/s11306-013-0598-6>
- Sangsawang, L., Casareto, B. E., Ohba, H., Vu, H. M., Meekaew, A., Suzuki, T., Yeemin, T., & Suzuki, Y. (2017). ¹³C and ¹⁵N assimilation and organic matter translocation by the endolithic community in the massive coral *Porites lutea*. *Royal Society Open Science*, 4(12), 171201.
<https://doi.org/10.1098/rsos.171201>
- Santhanam, R. (2020). Biology of Marine Cnidarians [Phylum Cnidaria (= Coelenterata)]. In R. Santhanam (Ed.), *Biology and Ecology of Venomous Marine Cnidarians* (pp. 7–27). Springer. https://doi.org/10.1007/978-981-15-1603-0_2
- Saraste, J. (2016). Spatial and Functional Aspects of ER-Golgi Rabs and Tethers. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 4.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2016.00028>

- Sartelet, H., Rougemont, A.-L., Fabre, M., Castaing, M., Duval, M., Fetni, R., Michiels, S., Beaunoyer, M., & Vassal, G. (2011). Activation of the phosphatidylinositol 3'-kinase/AKT pathway in neuroblastoma and its regulation by thioredoxin 1. *Human Pathology*, 42(11), 1727–1739. <https://doi.org/10.1016/j.humpath.2011.01.019>
- Schlichter, D., Zscharnack, B., & Krisch, H. (1995). Transfer of photoassimilates from endolithic algae to coral tissue. *Naturwissenschaften*, 82(12), 561–564. <https://doi.org/10.1007/BF01140246>
- Schoenberg, D. A., Trench, R. K., & Smith, D. C. (1997). Genetic variation in *Symbiodinium* (=Gymnodinium) *microadriaticum* Freudenthal, and specificity in its symbiosis with marine invertebrates. I. Isoenzyme and soluble protein patterns of axenic cultures of *Symbiodinium microadriaticum*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 207(1169), 405–427. <https://doi.org/10.1098/rspb.1980.0031>
- Seneca, F. O., & Palumbi, S. R. (2015). The role of transcriptome resilience in resistance of corals to bleaching. *Molecular Ecology*, 24(7), 1467–1484. <https://doi.org/10.1111/mec.13125>
- Sharp, V. A., Brown, B. E., & Miller, D. (1997). Heat shock protein (hsp 70) expression in the tropical reef coral *Goniopora djiboutiensis*. *Journal of Thermal Biology*, 22(1), 11–19. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(96\)00029-0](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(96)00029-0)
- Shashar, N., Banaszak, A. T., Lesser, M. P., & Amrami, D. (1997). *Coral Endolithic Algae: Life in a Protected Environment*. <http://hdl.handle.net/10125/3107>
- Shen, H.-M., & Pervaiz, S. (2006). TNF receptor superfamily-induced cell death: Redox-dependent execution. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 20(10), 1589–1598. <https://doi.org/10.1096/fj.05-5603rev>
- Sproles, A. E., Oakley, C. A., Matthews, J. L., Peng, L., Owen, J. G., Grossman, A. R., Weis, V. M., & Davy, S. K. (2019). Proteomics quantifies protein expression changes in a model cnidarian colonised by a thermally tolerant but suboptimal symbiont. *The ISME Journal*, 13(9), 2334–2345. <https://doi.org/10.1038/s41396-019-0437-5>

- Sridharan, S., Kurzawa, N., Werner, T., Günthner, I., Helm, D., Huber, W., Bantscheff, M., & Savitski, M. M. (2019). Proteome-wide solubility and thermal stability profiling reveals distinct regulatory roles for ATP. *Nature Communications*, 10(1), 1155. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09107-y>
- Stabili, L., Parisi, M. G., Parrinello, D., & Cammarata, M. (2018). Cnidarian Interaction with Microbial Communities: From Aid to Animal's Health to Rejection Responses. *Marine Drugs*, 16(9), Article 9. <https://doi.org/10.3390/md16090296>
- Starcevic, A., Dunlap, W. C., Cullum, J., Shick, J. M., Hranueli, D., & Long, P. F. (2010). Gene Expression in the Scleractinian *Acropora microphthalma* Exposed to High Solar Irradiance Reveals Elements of Photoprotection and Coral Bleaching. *PLOS ONE*, 5(11), e13975. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0013975>
- Steen, R. G., & Muscatine, L. (1987). Low temperature evokes rapid exocytosis of symbiotic algae by a sea anemone. *The Biological Bulletin*, 172(2), 246–263. <https://doi.org/10.2307/1541797>
- Stenmark, H. (2009). Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 10(8), 513–525. <https://doi.org/10.1038/nrm2728>
- Svitkina, T. (2018). The Actin Cytoskeleton and Actin-Based Motility. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(1), a018267. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018267>
- Takama, O., Fernandez-Silva, I., López, C., & Reimer, J. D. (2018). Molecular Phylogeny Demonstrates the Need for Taxonomic Reconsideration of Species Diversity of the Hydrocoral Genus *Millepora* (Cnidaria: Hydrozoa) in the Pacific. *Zoological Science*, 35(2), 123–133. <https://doi.org/10.2108/zs170142>
- Thornhill, D. J., Howells, E. J., Wham, D. C., Steury, T. D., & Santos, S. R. (2017). Population genetics of reef coral endosymbionts (Symbiodinium, Dinophyceae). *Molecular Ecology*, 26(10), 2640–2659. <https://doi.org/10.1111/mec.14055>

- Thurber, R. V., Payet, J. P., Thurber, A. R., & Correa, A. M. S. (2017). Virus–host interactions and their roles in coral reef health and disease. *Nature Reviews Microbiology*, 15(4), 205–216. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2016.176>
- Titus, M. A. (2018). Myosin-Driven Intracellular Transport. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 10(3), a021972. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a021972>
- Tremblay, P., Gori, A., Maguer, J. F., Hoogenboom, M., & Ferrier-Pagès, C. (2016). Heterotrophy promotes the re-establishment of photosynthate translocation in a symbiotic coral after heat stress. *Scientific Reports*, 6(1), 38112. <https://doi.org/10.1038/srep38112>
- van Oppen, M. J. H., & Blackall, L. L. (2019). Coral microbiome dynamics, functions and design in a changing world. *Nature Reviews Microbiology*, 17(9), 557–567. <https://doi.org/10.1038/s41579-019-0223-4>
- Vanamee, É. S., & Faustman, D. L. (2023). The benefits of clustering in TNF receptor superfamily signaling. *Frontiers in Immunology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1225704>
- Verma, N., Pink, M., & Schmitz-Spanke, S. (2021). A new perspective on calmodulin-regulated calcium and ROS homeostasis upon carbon black nanoparticle exposure. *Archives of Toxicology*, 95(6), 2007–2018. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03032-0>
- Vuong, N. Q., Breznan, D., Goegan, P., O'Brien, J. S., Williams, A., Karthikeyan, S., Kumarathan, P., & Vincent, R. (2017). In vitro toxicoproteomic analysis of A549 human lung epithelial cells exposed to urban air particulate matter and its water-soluble and insoluble fractions. *Particle and Fibre Toxicology*, 14(1), 39. <https://doi.org/10.1186/s12989-017-0220-6>
- Wassarman, P. M. (2008). Zona Pellucida Glycoproteins *. *Journal of Biological Chemistry*, 283(36), 24285–24289. <https://doi.org/10.1074/jbc.R800027200>
- Wegley, L., Edwards, R., Rodriguez-Brito, B., Liu, H., & Rohwer, F. (2007). Metagenomic analysis of the microbial community associated with the coral *Porites astreoides*. *Environmental Microbiology*, 9(11), 2707–2719. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2007.01383.x>

- Weir, K., Dupre, C., van Giesen, L., Lee, A. S.-Y., & Bellono, N. W. (2020). A molecular filter for the cnidarian stinging response. *eLife*, 9, e57578. <https://doi.org/10.7554/eLife.57578>
- Weis, V. M. (2008a). Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: Stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211(19), 3059–3066. <https://doi.org/10.1242/jeb.009597>
- Weis, V. M. (2008b). Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: Stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211(19), 3059–3066. <https://doi.org/10.1242/jeb.009597>
- Weston, A. J., Dunlap, W. C., Beltran, V. H., Starcevic, A., Hranueli, D., Ward, M., & Long, P. F. (2015). Proteomics Links the Redox State to Calcium Signaling During Bleaching of the Scleractinian Coral *Acropora microphthalma* on Exposure to High Solar Irradiance and Thermal Stress[S]. *Molecular & Cellular Proteomics*, 14(3), 585–595. <https://doi.org/10.1074/mcp.M114.043125>
- Williams, S. M., Sánchez-Godínez, C., Newman, S. P., & Cortés, J. (2017). Ecological assessments of the coral reef communities in the Eastern Caribbean and the effects of herbivory in influencing coral juvenile density and algal cover. *Marine Ecology*, 38(2), e12395. <https://doi.org/10.1111/maec.12395>
- Wood-Charlson, E. M., Weynberg, K. D., Suttle, C. A., Roux, S., & van Oppen, M. J. H. (2015). Metagenomic characterization of viral communities in corals: Mining biological signal from methodological noise. *Environmental Microbiology*, 17(10), 3440–3449. <https://doi.org/10.1111/1462-2920.12803>
- Wooldridge, S. A. (2014). Formalising a mechanistic linkage between heterotrophic feeding and thermal bleaching resistance. *Coral Reefs*, 33(4), 1131–1136. <https://doi.org/10.1007/s00338-014-1193-7>
- World Wildlife Fund organization. (2020). National tragedy: 93% of Great Barrier Reef affected by coral bleaching. <https://www.wwf.org.au/news/news/2016/national-tragedy-93percent-of-great-barrier-reef-affected-by-coral-bleaching>

- Worley, B., & Powers, R. (n.d.). Multivariate Analysis in Metabolomics. *Http://Www.Eurekaselect.Com*. Retrieved October 15, 2024, from <https://www.eurekaselect.com/article/47601>
- Xu, S., Liu, Y., Yang, K., Wang, H., Shergalis, A., Kyani, A., Bankhead, A., Tamura, S., Yang, S., Wang, X., Wang, C., Rehemtulla, A., Ljungman, M., & Neamati, N. (2019). Inhibition of protein disulfide isomerase in glioblastoma causes marked downregulation of DNA repair and DNA damage response genes. *Theranostics*, 9(8), 2282–2298. <https://doi.org/10.7150/thno.30621>
- Yang, Y., Liu, H., Zeng, W., Yang, Y., Zhang, J., Yin, J., Wu, J., & Lai, K. (2021). Characterization and epitope prediction of phosphopyruvate hydratase from *Penaeus monodon* (black tiger shrimp). *Journal of Food Science*, 86(8), 3457–3466. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15819>
- Zhang, J.-M., Sylvester, A. W., Li, D.-Q., & Sun, X.-P. (2006). Complementation and Expression Analysis of SoRab1A and SoRab2A in Sugarcane Demonstrates Their Functional Diversification. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(12), 1450–1457. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2006.00403.x>
- Zhao, H., Liu, X., Zhang, J., Zhu, W., Su, C., Wang, A., & Li, X. (2024). An integrative analysis of proteomics and metabolomics reveals the effects of active restoration on *Acropora hyacinthus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 570, 151972. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151972>
- Zheng, B., Han, M., Bernier, M., & Wen, J. (2009). Nuclear actin and actin-binding proteins in the regulation of transcription and gene expression. *The FEBS Journal*, 276(10), 2669–2685. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2009.06986.x>
- Zoppino, F. C. M., Militello, R. D., Slavin, I., Alvarez, C., & Colombo, M. I. (2010). Autophagosome formation depends on the small GTPase Rab1 and functional ER exit sites. *Traffic (Copenhagen, Denmark)*, 11(9), 1246–1261. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0854.2010.01086.x>