

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS

POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA



VARIACIÓN ESPACIO-TEMPORAL EN LA RESPUESTA DE
MARCADORES DE ESTRÉS FISIOLÓGICO EN CORALES DEL
GÉNERO *Pocillopora* EN EL ARRECIFE CARRIZALES, PACÍFICO
MEXICANO

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA

OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y
BIOTECNOLOGÍA**

PRESENTA:

MANUEL ALEJANDRO DELGADILLO NUÑO

ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO, FEBRERO, 2021

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS MARINAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES OCEANOLÓGICAS
POSGRADO EN ECOLOGÍA MOLECULAR Y BIOTECNOLOGÍA

VARIACIÓN ESPACIO-TEMPORAL EN LA RESPUESTA DE
MARCADORES DE ESTRÉS FISIOLÓGICO EN CORALES DEL
GÉNERO *Pocillopora* EN EL ARRECIFE CARRIZALES, PACÍFICO
MEXICANO

TESIS

QUE PARA CUBRIR PARCIALMENTE LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA
OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

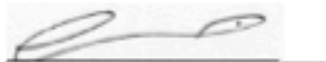
PRESENTA:

MANUEL ALEJANDRO DELGADILLO NUÑO

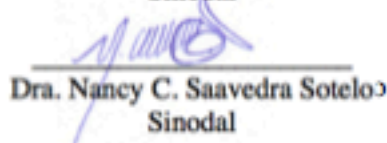
Aprobada por:



Dr. Eugenio de J. Carpizo Ituarte
Director de Tesis



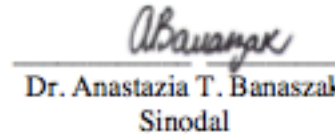
Dr. Pedro Medina Rosas
Sinodal



Dra. Nancy C. Saavedra Sotelo
Sinodal



Dr. Marco A. Liñán-Cabello
Sinodal



Dr. Anastazia T. Banaszak
Sinodal

A mis padres

Agradecimientos

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca proporcionada para desarrollar mis estudios de doctorado, a la Universidad Autónoma de Baja California, particularmente a la Facultad de Ciencias Marinas, por permitirme realizar mis estudios de Doctorado en Ciencias en Ecología Molecular y Biotecnología.

Esta investigación fue apoyada por el CONACYT, con el proyecto: Genes de respuesta al estrés como bioindicadores para evaluar los efectos del cambio global en organismos estructuradores bentónicos en el Pacífico mexicano [Ciencia Básica-2012, N° 181597], aprobado al Dr. Eugenio J. Carpizo-Ituarte, director de la presente tesis y a quién agradezco en especial el trabajo continuo y la dedicación incondicional que ha puesto en mi formación personal y académica. Mi gratitud también está con todos los miembros del comité de tesis, quienes de manera altruista trabajaron arduamente para mejorar el presente trabajo; a las Dras. Nancy Claudia Saavedra-Sotelo y Anastazia Teresa Banaszak, los Dres. José Martín Hernández-Ayón, Pedro Medina-Flores y con profundo agradecimiento al Dr. Marco Agustín Liñán-Cabello por su valiosa asesoría durante el desarrollo inicial de mi formación.

Agradezco todo el apoyo brindado en campo y en laboratorio, sin el cual el desarrollo de esta tesis no hubiera sido posible. A todos los miembros del Laboratorio de Ecología y Biología del Desarrollo (EcoDel) del Instituto de Investigaciones Oceanológicas de la Universidad Autónoma de Baja California, particularmente a Roberto Escobar-Fernández. Agradezco también a los miembros del Laboratorio de Acuicultura/Biotecnología y al Centro Universitario de Investigaciones Oceanológicas de la Facultad de Ciencias Marinas, Universidad de Colima; particularmente a José Adán Hernández-Villaseñor, Leonel González-Magaña, Omar Ahumada, Joel Bracamontes-Ramírez y Maribel Barajas-González por su apoyo en campo, y Al Dr. Aramis Olivos-Ortíz por su ayuda en la determinación de los nutrientes inorgánicos disueltos y la clorofila del agua de mar. Al Centro de Investigación Científica y Educación Superior de Ensenada (CICESE), particularmente a los estudiantes Erick Delgadillo Nuño, Mainer Justel-Díez, Blanca Morales Guerrero, Adonis Minguer-Rodríguez y a los Drs. Clara E. Galindo-Sánchez y Rafael A. Cabral-Tena. Finalmente, agradezco a mis padres Manuel Delgadillo Salazar y Leticia Nuño García y a sus dos hijos, mis hermanos, Erick y Esmeralda.

CONTENIDO

PREFACIO	1
CAPÍTULO I. EFECTO DE LAS CONDICIONES LOCALES EN LA RESPUESTA CELULAR DE ESTRÉS Y ACLIMATACIÓN EN CORALES <i>POCILLOPORA</i> DEL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO.....	4
1.1 Introducción.....	4
1.2 Materiales y métodos.....	7
1.2.1 Sitio de estudio.....	7
1.2.2 Selección de corales	9
1.2.3 Muestreo	10
1.2.4 Análisis de parámetros ambientales.....	11
1.2.5 <i>Análisis fisiológicos</i>	11
1.2.5.1 Densidad de dinoflagelados endosimbiontes	11
1.2.5.2 Concentración de clorofila <i>a</i>	12
1.2.5.3 Relación de ácidos nucleicos	13
1.2.6. Marcador molecular.....	14
1.2.6.1 Purificación de ARN.....	14
1.2.6.2 PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR).....	14
1.2.6.3 Expresión de hsp70.....	15
1.2.7 Análisis estadísticos.....	16
1.3 Resultados.....	17
1.3.1 Parámetros ambientales	17
1.3.2 Parámetros fisiológicos.....	19
1.3.2.1 Densidad de dinoflagelados endosimbiontes	19
1.3.2.2 Concentración de clorofila <i>a</i>	20
1.3.2.3 Relación de ácidos nucleicos	20
1.3.3 Expresión de hsp70.....	22
1.4 Discusión	23
1.5 Conclusión.....	28
CAPÍTULO II. PLASTICIDAD DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN CORALES <i>POCILLOPORA</i> DE DOS LOCALIDADES DEL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO.....	30
2.1 Resumen	30
CAPÍTULO III. EFECTO DE LOS AMBIENTES LOCALES EN LA FOTOACLIMATACIÓN DE CORALES <i>POCILLOPORA</i> EN EL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO	31
3.1 Introducción.....	31
3.2 Materiales y métodos.....	35
3.2.1 Sitio de estudio.....	35
3.2.2 Análisis de laboratorio.....	36
3.2.3 Análisis estadísticos.....	37
3.3 Resultados.....	37
3.4 Discusión	40
3.5 Conclusión.....	44

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL	78
4.1 Introducción.....	78
4.2 Efecto de la variación espacio-temporal.....	78
4.2.1 Estrés térmico	85
4.2.2 Intensidad de la luz	90
4.3 Plasticidad fisiológica.....	93
4.5 Conclusión general	96
LITERATURA CITADA.....	97

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Parámetros de los cebadores empleados en los ensayos de RTq-PCR.....	18
Tabla 2. Concentración de nutrientes inorgánicos disueltos en el arrecife Carrizales durante los días de muestreo	18
Tabla 3. Importancia biológica de los marcadores moleculares y fisiológicos seleccionados en el presente estudio.....	12
Tabla 4. Respuesta fisiológica representativa de <i>Pocillopora</i> a la variación abrupta de la temperatura (véase también el Capítulo 1)	12
Tabla 5. Resumen de las respuestas representativas en <i>Pocillopora</i> a los ambientes locales de luz en el arrecife (véanse también los Capítulos 2 y 3)	12
Tabla 6. Síntesis de las respuestas fisiológicas de las tres morfoespecies en el sitio de mayor irradiancia (véase también el capítulo 2)	12
Tabla 7. Síntesis de la respuesta autotrófica de las tres morfoespecies en relación con el ciclo diurno en ambos sitios de estudio (véase también el capítulo 3).....	12

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1. Ubicación del arrecife Carrizales en la costa de Colima, México 8
- Figura 2. Corales *Pocillopora* del arrecife Carrizales, *P. cf. capitata* (A), *P. cf. damicornis* (B) y *P. cf. verrucosa* (C). 10
- Figura 3. Temperatura superficial del agua de mar registrada cada minuto del 22 al 26 de abril de 2016, en la Bahía de Manzanillo, Colima, México. Se muestran los datos en bruto que se descargaron de la Red Mareográfica de CICESE (redmar.cicese.mx)
..... 18
- Figura 4. Densidad de células de Symbiodiniaceae en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos ($P < 0.05$)..... 19
- Figura 5. Concentración de Chl *a* en las células de Symbiodiniaceae de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos ($P < 0.05$)..... 20
- Figura 6. ARN total en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$) 21
- Figura 7. Relación ARN/ADN en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$)..... 22

Figura 8. Expresión relativa del gen hsp70 en fragmentos de *Pocillopora* cf. *capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media (n = 3). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto de datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$)..... 23

Figura 9. Radiación lumínica natural en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales el 27 de mayo de 2017 38

Figura 10. Densidad de células de Symbiodiniaceae en fragmentos de las tres morfoespecies de *Pocillopora*: “*capitata*”, “*damicornis*” y “*verrucosa*”, muestreados el 27 de mayo a las 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h, en ambos sitios del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media (n = 3). Los asteriscos indican las diferencias significativas entre los datos de los sitios Este y Oeste ($P < 0.05$)..... 39

Figura 11. Concentración de Chl *a* en las células de Symbiodiniaceae de las tres morfoespecies de *Pocillopora*: “*capitata*”, “*damicornis*” y “*verrucosa*”, muestreados el 27 de mayo a las 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h, en ambos sitios del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media (n = 3). Los asteriscos indican las diferencias significativas entre los datos de los sitios Este y Oeste ($P < 0.05$)..... 40

RESUMEN

Actualmente, los arrecifes de coral están entrando en una era de profundo cambio a nivel planetario. El cambio global impulsado por el aumento de CO₂ de origen antropogénico, se asocia generalmente con el calentamiento global y la variación ambiental extrema, y en particular, con el aumento de las temperaturas superficiales del mar y la acidificación del océano. Estos factores, están ocasionando variaciones sin precedentes en las características abióticas en los arrecifes de coral, las cuales se desvían significativamente de las condiciones ambientales que dominaron la historia evolutiva de las especies contemporáneas. Por lo tanto, existe la preocupación de si los organismos arrecifales poseen la capacidad para hacer frente a los cambios acelerados. Suponiendo que la mayoría de los escleractinios son incapaces de respuestas rápidas de adaptación, una alternativa sería su capacidad para presentar un amplio grado de respuestas de aclimatación mediante el ajuste de los procesos fisiológicos (plasticidad fenotípica). En este sentido, la investigación detallada de las respuestas fisiológicas, como las seleccionadas en este estudio, es un antecedente crucial para predecir y mejorar las oportunidades de los arrecifes de coral en un futuro rápidamente cambiante. Con este fin, el presente trabajo representa un primer esfuerzo por establecer una línea base para la investigación detallada de la plasticidad fenotípica en corales *Pocillopora* en relación con la variabilidad ambiental en el arrecife Carrizales de la costa del Pacífico central mexicano. Los resultados mostraron en general, que la luz es el principal factor que afecta la respuestas fisiológica (en sinergia con los altos nutrientes inorgánicos), ya que cuenta con una mayor variación espacio-temporal dentro del arrecife. Lo anterior, resulta en un una alta plasticidad fotosintética (pigmentos y densidad de Symbiodiniaceae), entre los dos ambientes con menor y mayor luz (Este y

Oeste, respectivamente). Además, los distintos ambientes de luz provocaron diferencias en la expresión génica relacionada con el metabolismo celular (relación de ác. nucleicos y proteínas), regulación del CO_2 y HCO_3^- (*anhidrasa carbónica*) y respuesta al estrés térmico, lumínico y oxidativo (*hsp70*, *GFP* y *SOD*, respectivamente). Por otro lado, la variación de temperatura se caracterizó por una disminución abrupta y de corto tiempo, que afectó la respuesta al estrés celular (*hsp70*). En conjunto, la alta plasticidad fisiológica se observó principalmente en las morfoespecies *P. cf. capitata* y *P. cf. verrucosa*, mientras que la respuesta al estrés térmico se presentó en *P. cf. verrucosa* y *P. cf. damicornis*; sin embargo, la respuesta de las 3 morfoespecies estuvo claramente asociada al sitio de mayor y menor luz en el arrecife. No obstante, con rutas de expresión significativamente distintas en las respuestas al estrés lumínico y oxidativo entre *P. cf. capitata* y *P. cf. verrucosa*, respectivamente. Estos resultados, coinciden con la alta plasticidad fisiológica reportada en especies *Pocillopora*, particularmente en *P. verrucosa*, la cual depende en gran medida de las capacidades de foto aclimatación. Finalmente, se plantea la hipótesis de que *P. cf. verrucosa* presenta una mayor plasticidad fisiológica relacionada con la variabilidad espacial y temporal en el arrecife, como parte de una adaptación local que le ha permitido ser la morfoespecie más abundante en el arrecife Carrizales, y posiblemente en todo el Pacífico mexicano. Dada la preocupación por el futuro de los arrecifes de coral, consideramos que el presente estudio puede servir como línea base para el estudio de la plasticidad fisiológica y molecular de los corales *Pocillopora* de México, y con ello se podrán desarrollar estrategias de conservación para las morfoespecies clave, como *P. cf. verrucosa*, en los arrecifes coralinos de la costa mexicana del Pacífico.

PREFACIO

Aunque solo un centenar de especies de corales tropicales y subtropicales forman arrecifes, estos ecosistemas son fundamentales para la biodiversidad de los océanos, son de gran importancia para la productividad y protección de las regiones costeras, y albergan principal o exclusivamente a millones de otras especies marinas. Lamentablemente, los arrecifes de coral y los humanos modernos no tienen la relación más afortunada, la mayoría de las actividades antropogénicas, principalmente industriales (pesca, deforestación, desarrollo urbano, quema de combustibles fósiles, uso de pesticidas, herbicidas y fertilizantes), afectan directa o indirectamente a los arrecifes de coral y, es por esta razón, que los corales se encuentran entre los organismos más vulnerables al cambio climático.

Hoy en día, la evidencia científica lo demuestra claramente: los arrecifes de coral en todo el mundo están experimentando cambios importantes en su ecología y evolución, tanto a escala local, como regional y global. Además, la evidencia que señala al incremento de dióxido de carbono y temperatura provocado por el ser humano, como las principales causas, aumenta cada día. Sin embargo, comprender cómo los cambios ambientales a pequeña, mediana y gran escala afectan a las poblaciones de coral en escenarios de acidificación del océano y calentamiento global sigue siendo uno de los mayores desafíos para el estudio de la ecología y el manejo de los arrecifes de coral. Es por eso que la investigación científica busca continuamente definiciones, interpretaciones, predicciones e implicaciones del impacto humano en la naturaleza.

Una de las consecuencias que tiene el cambio climático en los organismos es el aumento en el despliegue de su plasticidad fisiológica, la cual se define como la capacidad

(de aclimatación) del organismo para remodelar su fisiología y compensar así los efectos de la variación ambiental. Esta capacidad de respuesta es crítica para la adaptación a nivel poblacional y se desarrolla mediante una compleja y profunda interacción de los procesos a nivel molecular, celular y ecosistémico que subyacen a la aclimatación. Además, el alcance y la duración de una respuesta particular está estrictamente regulada por el control molecular y/o celular de las funciones fisiológicas. Por lo tanto, una necesidad fundamental es entender las bases genéticas y fisiológicas de la adaptación y la aclimatación al cambio climático.

Para lograr esto, se requiere de un desarrollo metodológico que permita caracterizar los procesos ecológicos y fisiológicos a nivel molecular, celular y sistémico, principalmente en la naturaleza, no solamente en el laboratorio. Esta tesis representa los esfuerzos de investigación que abordan brevemente el tema de la plasticidad fisiológica de los corales *Pocillopora* en un arrecife del Pacífico mexicano. El presente trabajo incorpora tres aspectos principales: 1) la plasticidad fisiológica en respuesta a la variación ambiental de corto plazo, 2) en respuesta a dos microambientes dentro del arrecife y 3) en interacción con la plasticidad morfológica de los corales del género *Pocillopora*. Para lo anterior, se utilizaron un total de ocho biomarcadores, cuatro fisiológicos y cuatro moleculares, los cuales fueron:

- Densidad de células endosimbiontes por superficie de tejido coralino.
- Concentración de pigmentos fotosintéticos por superficie de tejido coralino.
- Concentración de pigmentos fotosintéticos por célula endosimbionte.
- Proporción de ácidos nucleicos: ARN, ADN y proteínas totales.
- Expresión del gen de la proteína de choque térmico de 70 kDa.

- Expresión del gen de la enzima anhidrasa carbónica.
- Expresión del gen de la enzima cobre-zinc superóxido dismutasa.
- Expresión del gen de la cromoproteína similar a proteína verde fluorescente.

Durante el presente estudio quedó claro que, a pesar del gran esfuerzo en investigación y discusión científica sobre identificación, descripción y manejo de la biodiversidad coralina en el Pacífico mexicano, aun queda mucho trabajo por hacer para entender la complejidad de estas comunidades con distribución limitrofe. Por otro lado, la investigación con base en la genética molecular y particularmente perfilada hacia la genómica ecológica, apenas comienzan a ser evidente. En los siguientes capítulos, se aborda una perspectiva general sobre el conocimiento que algunas tecnologías genómicas puede proporcionar en materia de investigación del cambio climático y manejo de los arrecifes de coral. Además, se presenta un enfoque particular de lo que podría estar sucediendo en una comunidad coralina en el arrecife de Carrizales (Pacífico mexicano), a nivel molecular, celular y fisiológico de acuerdo con la plasticidad fisiológica de los corales del género *Pocillopora*.

El alcance que se espera de esta publicación es, que el lector advierta cómo la genómica puede proporcionar respuestas revolucionarias dentro de la ecología marina y particularmente en comunidades coralinas; esta combinación abre la puerta a nuevas formas de aproximar, explorar y entender los aspectos más profundos y complejos de la biología arrecifal coralina.

Manuel Alejandro Delgadillo Nuño

Instituto de Investigaciones Oceanológicas

Ensenada, Baja California, 30 de noviembre de 2020

CAPÍTULO I.

EFFECTO DE LAS CONDICIONES LOCALES EN LA RESPUESTA CELULAR DE ESTRÉS Y ACLIMATACIÓN EN CORALES *POCILLOPORA* DEL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO

1.1 Introducción

Debido al aumento en la emisión de gases de efecto invernadero por la actividad antropogénica (industrialización, deforestación y agricultura), se ha producido un incremento sostenido de la temperatura media en la superficie del mar (una de las consecuencias del calentamiento global), lo cual ha provocado tres eventos masivos de blanqueamiento coralino en distintas regiones del planeta en los últimos cuarenta años, el más reciente en 2015-2016 (Hughes et al., 2017b). Además, en los últimos 100 años han comenzado a disminuir las concentraciones de iones carbonato y el pH en el agua de mar (lo que se ha denominado como acidificación oceánica), lo que podría afectar la velocidad a la que ciertos organismos, como los corales, construyen sus estructuras calcáreas, entre otros efectos (Hoegh-Guldberg et al., 2017). El calentamiento global y la acidificación oceánica son los principales efectos del cambio climático, ambos plantean graves consecuencias para los arrecifes de coral, tanto de manera individual como en sinergia con otros impactos antropogénicos a diversas escalas (sobrepesca, contaminación y desarrollo costero) y representan, actualmente, el mayor desafío de adaptación y aclimatación para los organismos marinos.

A pesar de este panorama, se han documentado evidencias recientes de aclimatación/adaptación ante el incremento de las temperaturas oceánicas en corales (Coles et al., 2018). Los estudios indican que los mecanismos fisiológicos y los tiempos a los que operan así como sus alcances de adaptación/aclimatación, pueden depender del historial térmico de las poblaciones que se han desarrollado en entornos naturales muy variables (Morikawa y Palumbi, 2019). Lo anterior podría favorecer la resistencia y sobrevivencia al cambio climático debido a la tolerancia térmica previa (Bay y Palumbi, 2017). Además, en los corales que habitan ambientes marginales y oceanográficamente dinámicos, se ha observado que la tolerancia térmica se ve reflejada consistentemente en los patrones de expresión génica (Palumbi et al., 2014), por ejemplo, el de las proteínas de choque térmico (Mayfield et al., 2013; Poli et al., 2017).

Particularmente, los corales del género *Pocillopora*, se encuentran entre los más estudiados y en los que se ha documentado extensivamente la capacidad de adaptación/aclimatación al calentamiento y acidificación del océano (Clausen y Roth, 1975; Mayfield et al., 2013; Putnam y Gates 2015; Jiang et al., 2020). Por lo tanto, las comunidades coralinas marginales y en particular las que son dominadas por corales del género *Pocillopora*, que se distribuyen ampliamente en todo el Indo-Pacífico (Veron, 2002), pueden proporcionar laboratorios naturales ideales para estudiar la influencia de la variabilidad térmica y oceanográfica en los mecanismos de adaptación/aclimatación coralina (Randall et al., 2020).

En este sentido, la costa Este del Pacífico tropical (ETP, por sus siglas en inglés), es uno de los entornos oceanográficos más dinámicos y al mismo tiempo alberga algunos de los arrecifes de corales *Pocillopora* con mayor aislamiento en el planeta (Glynn, 2017a).

Los cuales se han desarrollado en ambientes marginales temporal y espacialmente heterogéneos, caracterizados por variaciones extremas de temperatura, radiación solar, salinidad, pH y concentración de nutrientes y carbonatos (Fiedler y Lavín, 2017), debido principalmente a la estacionalidad de las surgencias y la variabilidad climática que supone El Niño Oscilación del Sur (ENSO, por sus siglas en inglés), con un fuerte gradiente oceanográfico (Glynn et al. 2017b; Manzello et al., 2017; Wang et al., 2017). Estas condiciones ambientales generan tal aislamiento y estrés, que la mayoría de los arrecifes presentan distribuciones irregulares con crecimientos y desarrollos muy variables, generalmente a muy poca profundidad y con una pobre cementación (Glynn et al., 2017a; Toth et al. 2017). Estos arrecifes están compuestos en su mayoría por colonias entrelazadas de corales *Pocillopora*, con una baja dominancia de otras especies pero con una biodiversidad marina de gran importancia (Cortés et al., 2017). Además, se ha descubierto que los corales *Pocillopora* del ETP muestran un grado considerable de plasticidad fenotípica (Pinzón, 2017). Probablemente como resultado de la notable capacidad de algunas especies de *Pocillopora* para remodelar su fisiología y/o morfología y compensar así los efectos de la variación ambiental extrema en el ETP (Pinzón y LaJeunesse, 2011; Paz-García et al., 2015a), particularmente en la costa del Pacífico mexicano y Golfo de California (Paz-García et al., 2015b; Delgadillo-Nuño et al. 2020), en donde ya se han documentado respuestas de adaptación/aclimatación al aumento y disminución de la temperatura en el agua de mar (LaJeunesse et al., 2007, 2008, 2010; Rodríguez-Troncoso et al. 2010; Paz-García et al., 2012).

Debido a todo lo anterior, es necesario y urgente avanzar hacia una mayor comprensión de los efectos de la plasticidad fenotípica (morfológica y fisiológica) de los

corales *Pocillopora*, en la capacidad de adaptación y/o aclimatación de las comunidades coralinas del Pacífico mexicano, así como su variación espacio-temporal. Con esto en mente, el presente trabajo tiene como objetivo evaluar la alta plasticidad en la respuesta fisiológica de los corales del género *Pocillopora*, los cuales son capaces de varias respuestas específicas y distintivas de adaptación/aclimatación al entorno cambiante del Pacífico mexicano. Para lo anterior, se utilizaron índices clásicos para el estudio de la foto-fisiología en corales (Cooper et al., 2009), metabolismo (Meesters et al., 2002; Hinrichs et al., 2013), y la expresión del gen de la proteína inducible por choque térmico de 70 kDa (hsp70) que regula la estructura y función proteica en condiciones de estrés fisiológico (Hartl et al., 2011; Poli et al., 2017), en tres morfoespecies de *Pocillopora* (*P. cf. capitata*, *P. cf. damicornis*, y *P. cf. verrucosa*), del arrecife Carrizales, en la costa de Colima, Pacífico mexicano. Además, se evaluó la relación de la plasticidad fisiológica con la variabilidad espacial y temporal en los lados Este y Oeste del arrecife, antes y después de una disminución natural abrupta de la temperatura. Tomando en consideración que *P. cf. verrucosa* es el coral más conspicuo en el sistema arrecifal estudiado (Reyes-Bonilla et al., 2013), se plantea la hipótesis de que ésta morfoespecie presenta una mayor plasticidad fisiológica relacionada con la variabilidad espacial y temporal en el arrecife, como parte de una adaptación local que le ha permitido ser la morfoespecie más abundante en el arrecife Carrizales, y posiblemente en todo el Pacífico mexicano.

1.2 Materiales y métodos

1.2.1 Sitio de estudio

Este estudio se realizó los días 23 y 25 de abril de 2016 al mediodía (12:00 hrs), en el arrecife coralino de la Bahía Carrizales localizada al Suroeste de la costa de Manzanillo, Colima, México (19°05'42'' N, 104°26'21'' W) (Figura 1). Este arrecife representa la comunidad coralina más importante de la costa de Colima, en el cual se pueden encontrar crecimientos coralinos de considerable espesor y extensión (< 3 m y ~4 ha), desarrollados hacia los márgenes someros del Este y Oeste de la Bahía de Carrizales sobre roca granítica, con una profundidad máxima de 10 m y dominados casi en su totalidad por corales del género *Pocillopora* (con una menor presencia de los géneros *Porites*, *Pavona* y *Psammocora*), entre estos corales, *Pocillopora* cf. *capitata*, *P.* cf. *damicornis* y *P.* cf. *verrucosa* son los más abundantes en el arrecife (Reyes-Bonilla et al., 2013).

1.2.2 Selección de corales

Las tres morfoespecies estudiadas en la presente investigación fueron: *Pocillopora* cf. *capitata*, *P.* cf. *damicornis* y *P.* cf. *verrucosa*, las cuales se identificaron consistentemente por características morfológicas clásicas de acuerdo con Veron (2000), y siguiendo las descripciones hechas por Ketchum y Reyes-Bonilla (2001), y Schmidt-Roach et al. (2014). Brevemente, *P.* cf. *capitata* posee verrugas alargadas sobre el corallum, ramas altas, erectas y abiertas, casi cilíndricas en su sección, que se aplanan hacia la punta. *Pocillopora* cf. *damicornis* posee un corallum cespitoso sin distinción clara entre ramas y verrugas, las ramas son tupidas, de tamaño irregular, delgadas, redondas o aplastadas y parecidas a cuernos de ciervo, con una ramificación creciente hacia la punta. *Pocillopora*

cf. *verrucosa* posee verrugas bien desarrolladas sobre el corallum, las ramas son robustas, comprimidas, redondas y separadas, con forma cilíndrica hacia la punta (Figura 2).

No obstante, en el presente estudio no se realizó la identificación genética de los especímenes colectados y, por lo tanto, a pesar de las distinciones consistentes en morfología, existe la posibilidad de que los corales morfológicamente distintos contengan un solo grupo genético en el linaje *Pocillopora* Tipo 1 (Pinzón y LaJeunesse, 2011), y no podemos excluir la posibilidad de que el presente trabajo incluyera colonias genéticamente homogéneas, *sensu* Paz-García et al. (2015a), dado el hecho de que la morfología de las colonias generalmente es incongruente con la genética (Pinzón et al., 2013; véase también Pinzón , 2017). Además, durante la presente investigación no fue posible determinar la diversidad genotípica de los endosimbiontes de la familia Symbiodiniaceae, *sensu* LaJeunesse et al. (2018). Por lo que existe una limitación en torno a la presencia de uno o más clados de Symbiodiniaceae D1 y/o C1b-c (ver: LaJeunesse et al., 2007, 2008, 2010; McGinley et al., 2012; Walther-Mendoza et al., 2016).

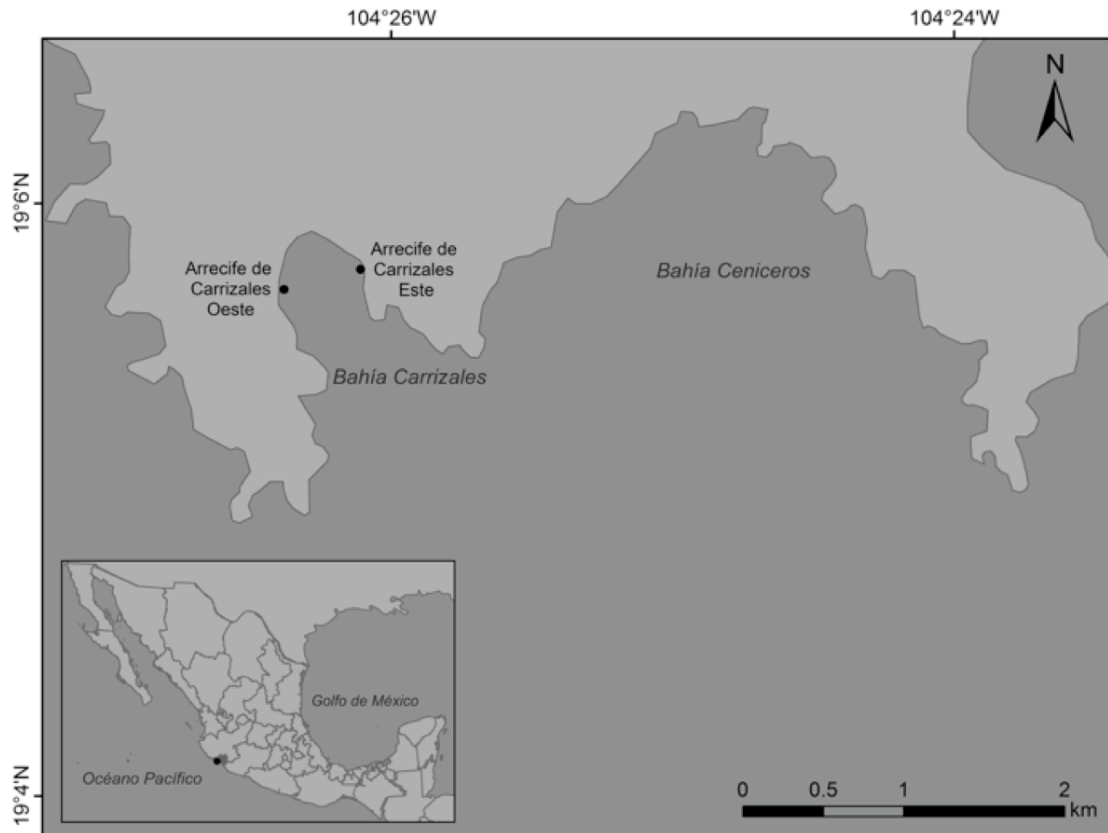


Figura 1. Ubicación del arrecife Carrizales en la costa de Colima, México.

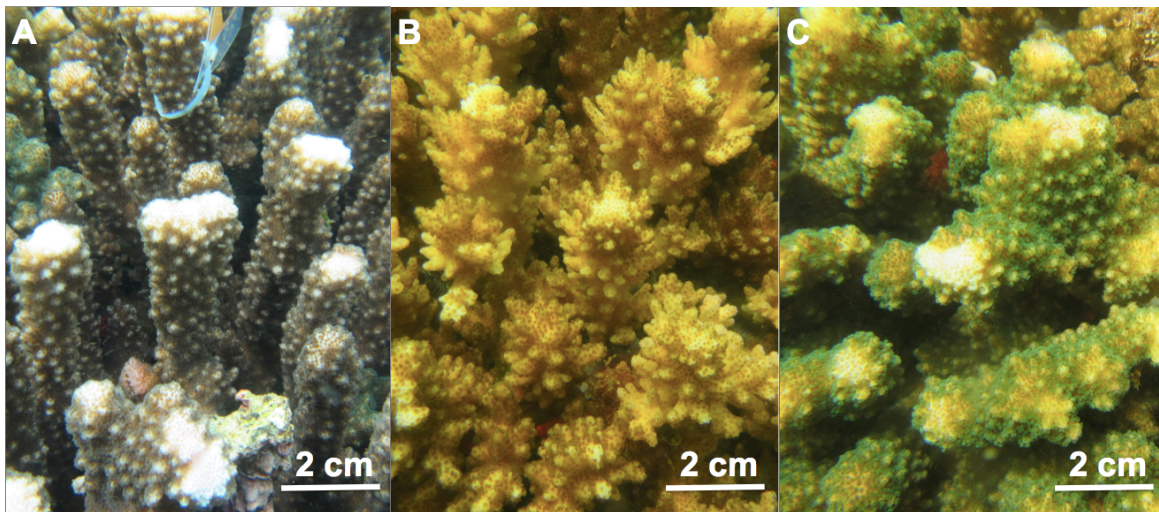


Figura 2. Corales *Pocillopora* del arrecife Carrizales, *P. cf. capitata* (A), *P. cf. damicornis* (B) y *P. cf. verrucosa* (C).

1.2.3 Muestreo

Mediante buceo autónomo (SCUBA), se recolectaron tres fragmentos de 1 cm² aproximadamente, tomados de la parte superior de las colonias que se encontraban simpátricamente, es decir una al lado de la otra, a 3 m de profundidad. El muestreo abarcó cuatro colonias de cada morfoespecie en los sitios Este y Oeste de la bahía de Carrizales; para un total de 24 colonias y 72 fragmentos. Cada uno de los tres fragmentos recolectados por colonia, se preservó *in situ* inmediatamente en una las siguientes soluciones: 1) nitrógeno líquido, 2) 10 mL de solución RNAlater® y 3) 10 mL de formaldehído al 10%. Los fragmentos fueron almacenados a -20, -80 y 4 °C respectivamente hasta el momento de su análisis en laboratorio. Adicionalmente, se recolectaron muestras de agua de mar (200 mL) a 1.0 m de profundidad en ambos sitios del arrecife y se almacenaron a 4 °C hasta el análisis de nutrientes inorgánicos disueltos, en laboratorio. Finalmente, los valores de la temperatura superficial del agua de mar fueron registrados cada minuto en la Estación Costera de Manzanillo (MNZN, 19° 3.832' N, 104° 17.887' W), con un sensor de temperatura 109SS-L ([Campbell Scientific, Inc.](http://www.campbellsci.com)), por parte de la Red mareográfica de CICESE (disponibles en redmar.cicese.mx).

1.2.4 Análisis de parámetros ambientales

Las concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos (NH_4^+ + NO_2^- + NO_3^- , PO_4^{3-} y SiO_2) se determinaron a partir de tres alícuotas de 50 mL de las muestras de agua de mar. La cuantificación se realizó en un auto-analizador de flujo segmentado (Skalar San Plus II, Skalar Analytical B.V.) de acuerdo con los métodos descritos por Strickland y Parsons (1972), y Grasshoff et al. (1999). Para el análisis de la temperatura superficial del agua de mar, se accedió a redmar.cicese.mx en donde se descargaron los archivos de datos para los

días en los que se realizó el muestreo (MNZN-160423.dat y MNZN-160425.dat). Además, para conocer las condiciones de temperatura previas a los muestreos también se descargaron los archivos de datos para los días 22 y 24 de abril de 2016 (MNZN-160422.dat y MNZN-160424.dat). Una vez que se obtuvieron los archivos, se calcularon los valores promedio de la temperatura y los valores máximos y mínimos por día en hojas de Microsoft Excel. Los cambios de temperatura en función del tiempo se presentan como los datos en bruto registrados cada minuto.

1.2.5 Análisis fisiológicos

1.2.5.1 Densidad de endosimbiontes

Las células de dinoflagelados endosimbiontes se extrajeron a partir de fragmentos de coral conservados en 10 mL de formaldehído al 10% de acuerdo al protocolo modificado de Zamoum y Furla (2012). Brevemente, los fragmentos se incubaron en 10 ml de NaOH 4 M a 37.5 °C durante la noche y posteriormente se incubaron a 65 °C hasta que el tejido se desprendió del esqueleto completamente. La densidad de células endosimbiontes se cuantificó a partir de una alícuota de 10 µL usando un hemocitómetro Neubauer (n = 8 repeticiones). La superficie del coral se calculó según Flores-Ramírez y Liñán-Cabello (2007), asumiendo que los fragmentos presentaban una forma cilíndrica y utilizando la formula: $A = 2\pi rh + 2\pi r^2$, donde A = área superficial del fragmento (cm²), r = radio del fragmento (cm) y h = altura máxima del fragmento. Cada fragmento se midió por triplicado con un vernier de precisión milimétrica. Los resultados se expresan como células endosimbiontes por unidad de superficie ocupada por el tejido vivo en el esqueleto de coral (células cm⁻²).

1.2.5.2 Concentración de clorofila a

Las concentraciones de clorofila *a* (Chl *a*) se determinaron a partir de ~100 mg de fragmentos congelados y triturados, previamente medidos por triplicado con un vernier de precisión milimétrica. Las muestras fueron colocadas en tubos de microcentrífuga de 2 mL con 1.5 ml de metanol al 100% y se almacenaron en la oscuridad durante 24 h a $-4\text{ }^{\circ}\text{C}$. La suspensión resultante se sonicó durante 15 segundos y luego se centrifugó a $1,500 \times g$ durante 5 minutos a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$; los extractos resultantes se usaron inmediatamente en el análisis. Brevemente, las absorbancias de las muestras fueron medidas por duplicado con un espectrofotómetro Spectronic® Genesys™ 5 (Thermo Fisher Scientific), utilizando una microplaca de 96 pozos. La concentración de Chl *a* en las muestras se calculó a 664 nm (Jeffrey y Humphrey, 1975), utilizando el coeficiente de extinción $90\text{ L gm}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ (Vernon 1960), con la corrección de turbidez recomendada. Los datos se corrigieron para el volumen del extracto y el área de la superficie del coral (Chl *a* $\mu\text{g cm}^{-2}$). Las concentraciones finales se expresan como picogramos de clorofila por célula endosimbionte (Chl *a* pg célula^{-1}) utilizando las densidades celulares calculadas previamente.

1.2.5.3 Relación de ácidos nucleicos

Previo a las extracciones de ácidos nucleicos, los fragmentos se descongelaron y el exceso de RNAlater® se eliminó secando la muestra sobre un paño Kimwipes® (Kimberly-Clark©, Roswell, GA, EE. UU.). Inmediatamente después la muestra se trituró en un mortero; aproximadamente 100 mg de tejido y esqueleto se colocaron en tubos de

microcentrífuga de 1.5 mL con 1 mL de reactivo TRIzol (Life Technologies©) y se homogeneizaron usando un disruptor mecánico (FastPrep®24, MP Biomedicals, Santa Ana, California, EE. UU.). Las extracciones de ácidos nucleicos se realizaron siguiendo las especificaciones del fabricante con ligeras modificaciones. Se agregaron hasta 2 μ L de HCl 6M para evitar la reacción de neutralización que ocurre entre el carbonato de calcio del esqueleto y la acidez del TRIzol (Anderson et al., 2016). El ARN total se eluyó en 50 μ L de agua libre de ARNasa y el ADN genómico se eluyó en 200 μ L de agua estérilizada y se incubó a 55 °C durante 10 min. La cantidad y calidad de ácidos nucleicos se analizó en un espectrofotómetro Nanodrop® después de lo cual las muestras de ADN y ARN se almacenaron a -20 y -80 °C, respectivamente. La proporción de ácidos nucleicos se expresan como la cantidad de ARN total por peso húmedo de tejido (μ g mg^{-1}) y la cantidad de ARN total por el contenido de ADN genómico (relación ARN/ADN).

1.2.6 Marcador molecular

1.2.6.1 Purificación de ARN

En una misma ocasión todas las muestras de ARN total se descongelaron y purificaron mediante un tratamiento con la enzima ADNasa I, Grado Amplificación (libre de ARNasa), siguiendo las especificaciones del fabricante (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific Inc.). Posteriormente, se purificó 1 μ g de ARN total en un volumen de reacción de 10 μ L, conteniendo 10 X de solución amortiguadora de reacción para ADNasa I, 1 U/ μ L de ADNasa I y agua tratada con Pirocarbonato de dietilo (DECP). A continuación, se incubaron los tubos de reacción durante 15 min a temperatura ambiente (25 ° C). La ADNasa I se inactivó mediante la adición de 1 μ L de solución de ácido

etilendiaminotetraacético (EDTA) 25 mM a la mezcla de reacción e incubación durante 10 min a 65 ° C. Las muestras de ARN purificado (libre de ADN) se utilizaron inmediatamente en la transcripción inversa de ADN complementario de la primera cadena (ADNc), previo al análisis de expresión del gen de hsp70.

1.2.6.2 PCR con transcriptasa inversa (RT-PCR)

Se transcribieron de forma inversa 200 ng μL^{-1} de ARN a 20 ng μL^{-1} de ADNc utilizando el kit de transcripción inversa de alta capacidad (Applied Biosystems, Life Technologies CA.), siguiendo las recomendaciones del fabricante. Brevemente, por cada muestra de ARN purificado, se prepararon en frío 10 μL de la mezcla maestra de transcripción inversa 2X (10X Solución tampón, 25X mezcla de dNTP 100 mM, 10X cebadores aleatorios, transcriptasa inversa MultiScribe™ 50 U/ μL e inhibidor de ARNasa), en agua libre de nucleasas. El volumen total (10 μL), de la mezcla maestra de transcripción inversa 2X, se transfirió a un tubo individual de reacción de 200 μL y se agregaron 10 μL de muestra de ARN purificado. Posteriormente, los tubos fueron sellados y centrifugados para precipitar el contenido y eliminar las burbujas de aire. Finalmente, se realizó la transcripción inversa en un termociclador Veriti™ 96-Well (Applied Biosystems, Life Technologies CA.), previamente programado en 3 pasos con las siguientes condiciones: 1) 25 °C por 10 min, 2) 37 °C por 120 min, 3) 85 °C por 5 min. Las reacciones de transcripción inversa se mantuvieron a 4 °C por un periodo menor a 24 h, y posteriormente se almacenaron a -20 °C hasta el análisis de la expresión del gen de hsp70.

1.2.6.3 Expresión de hsp70

El análisis de la expresión del gen hsp70 se llevó a cabo mediante PCR cuantitativa en tiempo real (RTq-PCR) utilizando SYBR® Green fluorescente (Applied Biosystems). Brevemente, por cada muestra de ADNc se prepararon en frío 20 µL de mezcla maestra de SYBR® Green 2X (Tinte SYBR® Green I, ADN polimerasa AmpliTaq Gold®, dNTP con dUTP, referencia pasiva y componentes de solución tampón optimizados), y cebadores específicos en un sentido y antisentido ($10 \text{ mmol } \mu\text{L}^{-1}$), del gen de hsp70 de *Pocillopora* sp. (gen de interés) y ARN ribosómico 18S de *Pocillopora verrucosa* (gen de control interno de referencia), para cuantificar el gen de interés (Tabla 1). Ambos conjuntos de dos cebadores se diseñaron a partir de secuencias de *Pocillopora* anotadas en GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) para hsp70 (número de acceso X624888.1) y ARN ribosómico 18S (número de acceso HM013849.1). El ensayo de RTq-PCR se llevó a cabo en un termociclador StepOnePlus™ (Applied Biosystems). Las condiciones de termociclado constaron de tres pasos: 1) 95 °C por 10 min para la activación inicial de la polimerasa “Hot Start”; 2) PCR de 40 ciclos de 95 °C por 15 seg, 60 °C por 60 seg, para la amplificación del gen de control interno de referencia y el gen interés y 3) Fusión de 95 °C por 15 seg, 60 °C por 60 seg y 95 °C por 15 seg. Los resultados se expresan en términos de expresión relativa de ARNm usando el método $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ (Schmittgen y Livak, 2008).

Tabla 1. Parámetros de los cebadores empleados en los ensayos de RTq-PCR.

Nombre	Función	Secuencia 5'-3'	T _m (°C)	Fuente
Hsp70 ^a	Estrés térmico	F: CCGCCGGTGGGGTAATGA R: CTTGTCGCGTTTCTTCTCG	60	Presente estudio
18S ARN	Control interno	F: GGTGGTTGAGATGGATGG R: ACGTAGGCAGGCACC	60	Presente estudio

T_m: temperatura de alineamiento; F: cebador sentido, R: cebador anti-sentido.

1.2.7 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R (Core Team, 2020). Todos los datos se analizaron con la prueba de normalidad Shapiro-Wilk y la prueba de Bartlett para la homocedasticidad (intervalos de confianza del 95%). Para los nutrientes inorgánicos, se utilizó una prueba *t-student* para dos conjuntos de datos, y los valores se presentan como promedio \pm desviación estándar. Para los parámetros biológicos se utilizó el Análisis de Varianza de dos vías (ANOVA) seguido de comparaciones múltiples (prueba de Tukey) para evaluar las diferencias significativas ($P > 0.05$). En los casos en que no se cumplieron los preceptos de normalidad y homocedasticidad de los datos, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples de Dunn. Los parámetros biológicos se presentan como valores promedio \pm error estándar de la media.

1.3 Resultados

1.3.1 Parámetros ambientales

De acuerdo con el registro de la estación meteorológica de Manzanillo, Colima, la variación temporal de la temperatura del agua de mar fue la siguiente: el 22 de abril (día previo al muestreo), el promedio de la temperatura fue de 23.92 ± 0.27 °C con un valor máximo y mínimo de 24.76 y 23.54 °C. El 23 de abril (primer día de muestreo), el promedio de la temperatura fue de 23.66 ± 0.19 °C con un valor máximo y mínimo de 24.45 y 23.36 °C. El 24 de abril (día intermedio del muestreo), se registró una disminución abrupta de la temperatura con un promedio de 23.60 ± 0.20 °C y valores máximo y mínimo de 24.12 y 20.75 °C. Finalmente, el 25 de abril (último día de muestreo), la temperatura promedio fue de 23.87 ± 0.27 °C con un máximo y un mínimo de 24.68 y 23.42 °C (Figura 3). En el caso de las concentraciones de nutrientes inorgánicos disueltos en el agua de mar, la variación temporal se muestra en la Tabla 2.

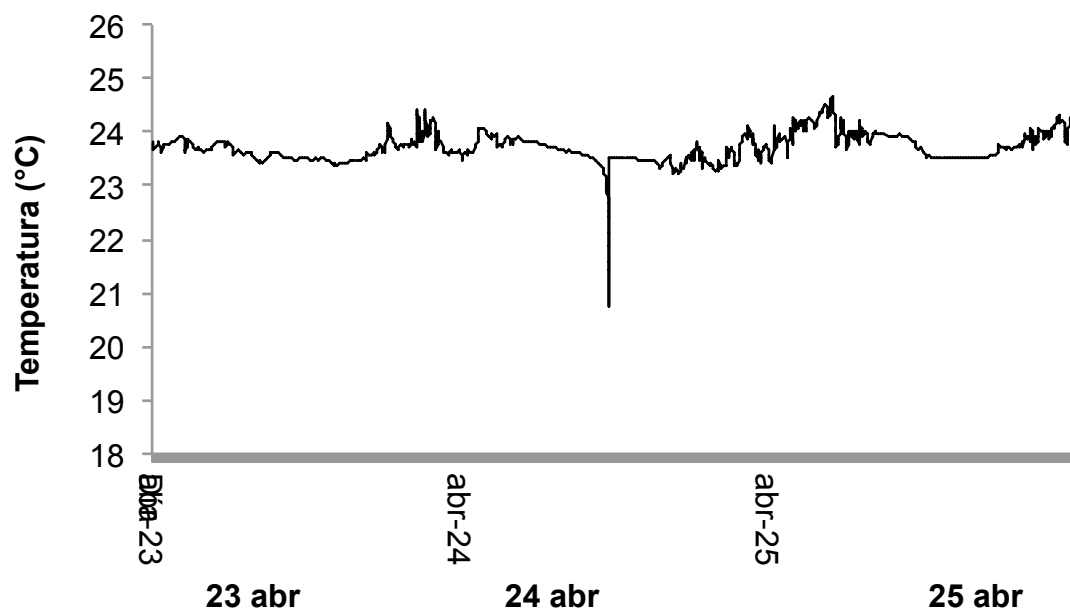


Figura 3. Temperatura superficial del agua de mar registrada del 22 al 26 de abril de 2016, cada minuto, en la Bahía de Manzanillo, Colima, México. Se muestran los datos en bruto que se descargaron de la Red Mareográfica de CICESE (redmar.cicese.mx).

Tabla 2. Concentración de nutrientes inorgánicos disueltos en el arrecife Carrizales durante los días de muestreo.

Nutriente (μM)	23 de abril	25 de abril	Valor de <i>P</i>
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$	9.22 ± 0.19	7.73 ± 0.28	0.01
NH_4^+	0.28 ± 0.04	0.22 ± 0.01	0.10
PO_4^{3-}	1.96 ± 0.81	2.34 ± 0.03	0.29
SiO_2	12.42 ± 0.67	14.43 ± 0.62	0.04

1.3.2 Parámetros fisiológicos

1.3.2.1 Densidad de dinoflagelados endosimbiontes

No se observó una variación temporal significativa en la densidad de células de Symbiodiniaceae en ninguna de las tres morfoespecies. Por el contrario, si se observó una variación espacial significativa ($P < 0.05$), particularmente en *P. cf. verrucosa* (Figura 4), con densidades de Symbiodiniaceae significativamente más altas en las colonias del sitio Oeste del arrecife, tanto el 23 de abril como el 25 de abril (2.68 ± 0.07 y $1.77 \pm 0.4 \times 10^5$ células cm^{-2} , respectivamente). Lo anterior, en comparación con una menor densidad de células en las colonias del sitio Este, el 23 y 25 de abril (0.80 ± 0.6 y $0.87 \pm 0.1 \times 10^5$ células cm^{-2} , respectivamente).

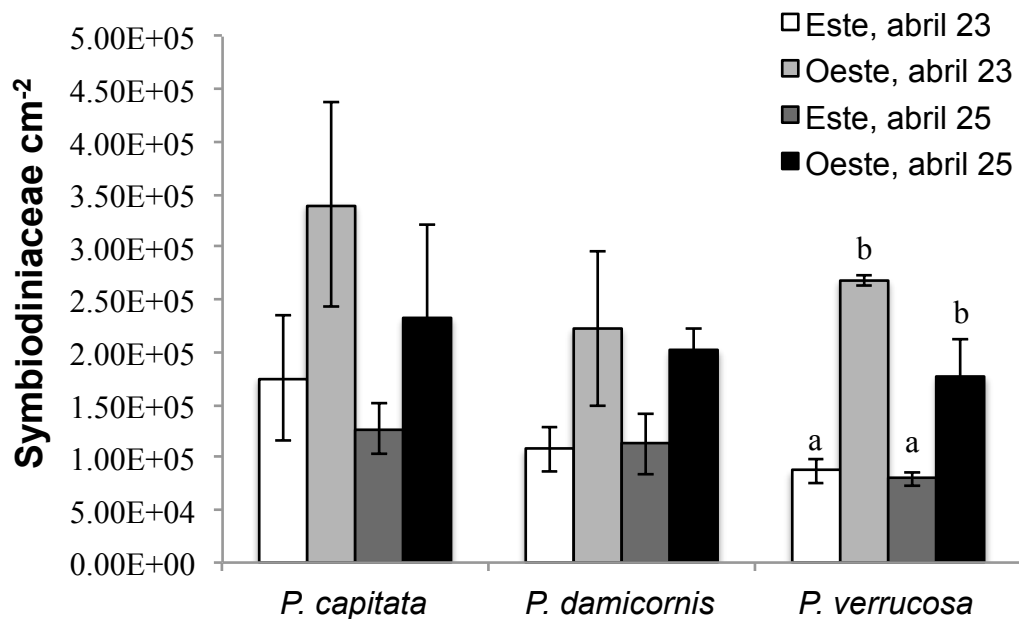


Figura 4 Densidad de células de Symbiodiniaceae en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos ($P < 0.05$).

1.3.2.2 Concentración de Clorofila a

La concentración de Chl *a* por célula endosimbionte tampoco mostró una variación temporal significativa en ninguna morfoespecie, pero, si mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) en la variación espacial el 23 de abril (Figura 5). Tanto *P. cf. capitata* como *P. cf. verrucosa* mostraron concentraciones de Chl *a* significativamente más altas en las colonias del sitio Este del arrecife (90.00 ± 32.60 y 86.86 ± 22.3 Chl *a* pg célula⁻¹, respectivamente), en comparación con las colonias de *P. cf. capitata* y *P. cf. verrucosa* del sitio Oeste (30.25 ± 2.37 y 21.61 ± 3.25 Chl *a* pg célula⁻¹, respectivamente).

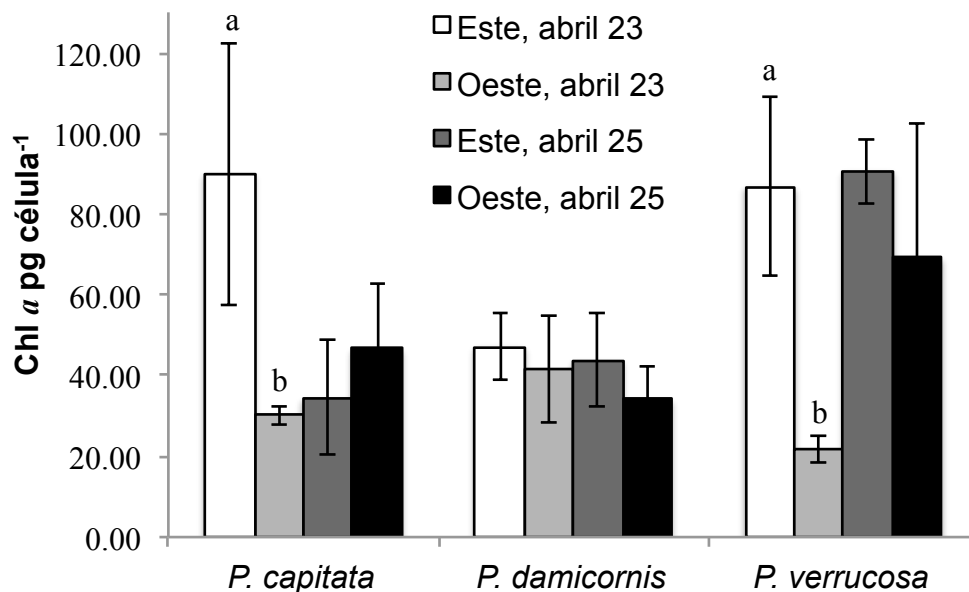


Figura 5. Concentración de Chl *a* en las células de Symbiodiniaceae de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos ($P < 0.05$).

1.3.2.3 Relación de ácidos nucleicos

No se observó una variación temporal significativa ($P < 0.05$) en el contenido total de ARN en ninguna de las tres morfoespecies. Por el contrario, si se observó una variación espacial significativa ($P < 0.05$), pero únicamente en *P. cf. verrucosa* el 25 de abril. La concentración de ARN total fue significativamente más alta en las colonias del sitio Oeste del arrecife en comparación con el sitio Este ($0.12 \pm 0.03 \mu\text{g mg}^{-1}$ y $0.05 \pm 0.00 \mu\text{g mg}^{-1}$, respectivamente). Además, en ambos días de muestreo y para ambos lados del arrecife el ARN total en fragmentos de *P. cf. verrucosa* fue significativamente menor ($P < 0.05$) en comparación con *P. cf. capitata* y *P. cf. damicornis* (Figura 6).

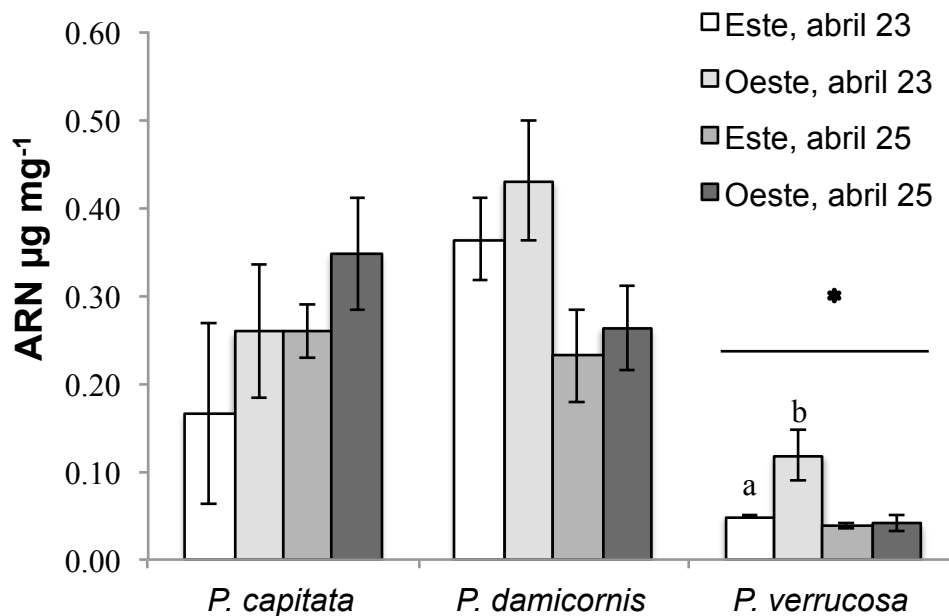


Figura 6. ARN total en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto de datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$).

La relación ARN/ADN tampoco mostró una variación temporal significativa en ninguna morfoespecie, pero si mostró diferencias significativas ($P < 0.05$) en la variación espacial el 23 de abril (Figura 7). Particularmente, *P. cf. verrucosa* mostró una relación ARN/ADN mayor en las colonias del sitio Oeste del arrecife en comparación con el sitio Este (0.09 ± 0.04 y 0.02 ± 0.00 , respectivamente). Además, en ambos días de muestreo y para ambos lados del arrecife la relación de ARN/ADN en fragmentos de *P. cf. verrucosa* fue significativamente menor ($P < 0.05$) en comparación *P. cf. capitata* y *P. cf. damicornis* (Figura 7).

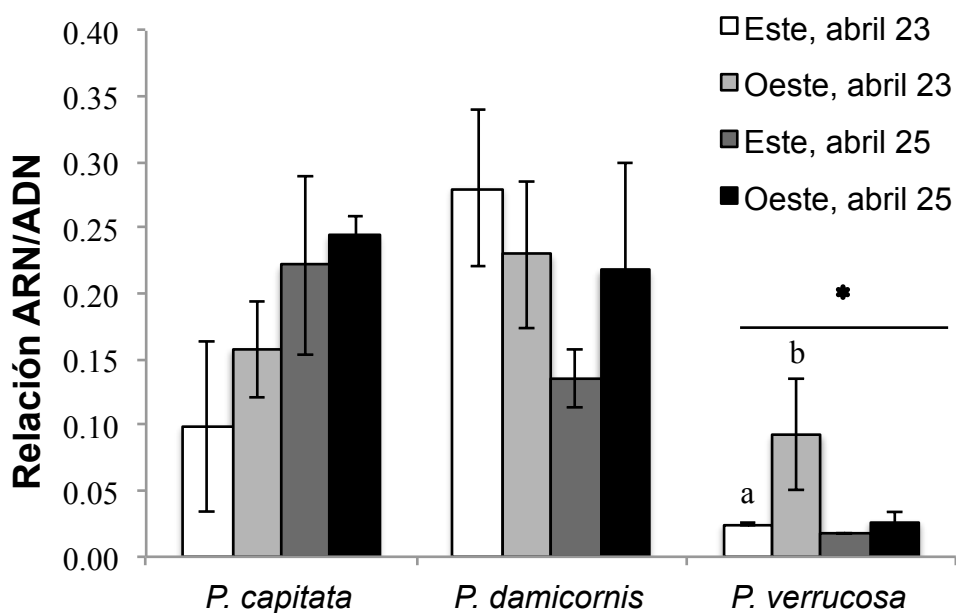


Figura 7. Relación ARN/ADN en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto de datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$).

1.3.3. Expresión de hsp70

Finalmente, la expresión de gen de hsp70 fue el único parámetro fisiológico que no mostró una variación espacial significativa pero que si mostró cambios temporales significativos

($P < 0.05$). El 25 de abril, la expresión relativa del ARNm de hsp70 fue entre 35 y 65 veces mayor en comparación con la expresión del gen el 23 de abril. En *P. cf. verrucosa*, el cambio en expresión fue de 45 a 55 veces mayor entre el 23 y 25 de abril. Mientras que en *P. cf. capitata* el cambio temporal de la expresión no fue significativo, pero valores de expresión relativa fueron significativamente menores en comparación con *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa*. (Figura 8).

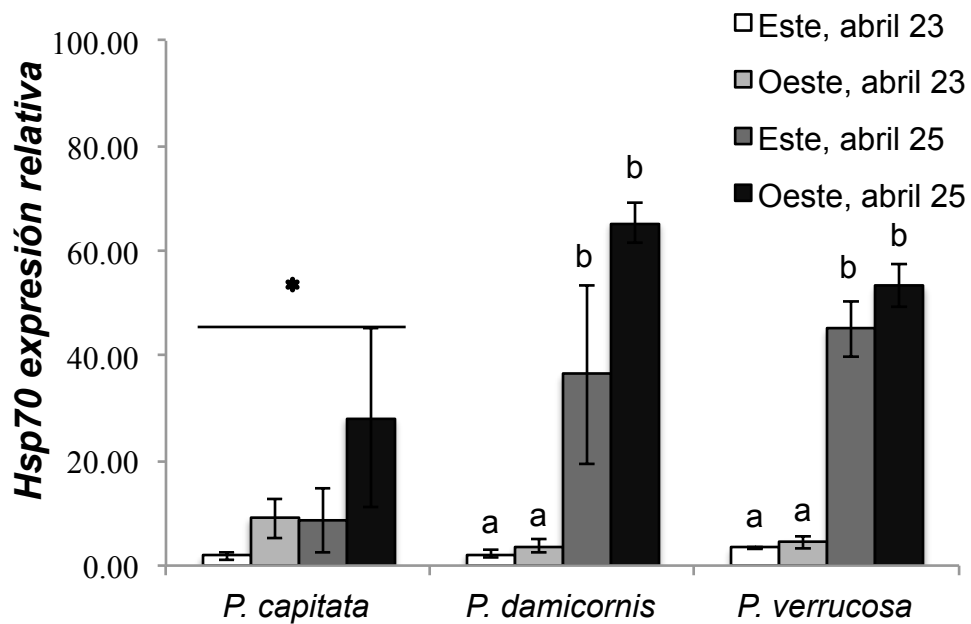


Figura 8. Expresión relativa del gen hsp70 en fragmentos de *Pocillopora cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* recolectados el 23 y 25 de abril en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Las literales distintas indican las diferencias significativas entre los datos en el análisis de un factorial, mientras que el asterisco indica las diferencias significativas entre el conjunto de datos en el análisis de dos factoriales ($P < 0.05$).

1.4 Discusión

Este estudio representa una primera aproximación para evaluar el efecto de la variabilidad ambiental local en la respuesta al estrés y aclimatación fisiológica, valorada mediante la expresión de hsp70 e índices de salud (densidad endosimbionte, Chl *a* y relación ARN/ADN), en corales *Pocillopora* dominantes del arrecife Carrizales. Por una parte, aparentemente la variación de la temperatura en una escala de tiempo muy corta (minutos), tuvo un efecto significativo en la respuesta al estrés en *P. cf. verrucosa* y *P. cf. damicornis*, pero no en *P. cf. capitata*. Por otro lado, el marco espacial las condiciones locales del hábitat no tuvieron un efecto significativo en la respuesta al estrés de los corales, aunque se observó una influencia particularmente significativa en la foto aclimatación y desempeño del metabolismo celular de *P. cf. verrucosa*.

Los parámetros ambientales indican que tuvo lugar una disminución abrupta de la temperatura entre ambas fechas de muestreo. En el arrecife Carrizales, la temporada de primavera se caracteriza por presentar los valores más bajos en la temperatura superficial del agua de mar, 24 ± 1.7 °C (Muñiz-Anguiano et al., 2017), lo cual coincide con las temperaturas promedio obtenidas durante este estudio. Además, las temperaturas coinciden también con el historial térmico de primavera en la costa de Colima (20 – 24 °C), la cual tiene una fuerte influencia oceánica de los eventos de surgencia (Olivos-Ortiz et al., 2005; Quijano-Scheggia et al., 2012). Asimismo, muy posiblemente existan variaciones ambientales a nivel de microescala (centímetros a metros), que resultan imperceptibles en monitoreos a escala mayor (cientos de metros o mayores), lo cual explicaría también la variación temporal observada en los nutrientes inorgánicos dentro del arrecife. En respuesta a esta variación térmica de primavera, los corales *P. cf. verrucosa* y *P. cf. damicornis*

presentaron un incremento en la expresión relativa del gen hsp70. En contraste, en *P. cf. capitata* no se observó esta respuesta, y por el contrario presentó una expresión relativa significativamente menor.

Un gran número de estudios han demostrado que la expresión de hsp70 es un indicador confiable de la respuesta al estrés térmico en corales, incluidas las especies *Pocillopora verrucosa* y *P. damicornis* (Poli et al., 2017; Zhang et al., 2018), con tiempos de respuesta que varían de horas a días, una vez que se presenta el evento de estrés térmico (Mayfield et al., 2013; Putnam et al., 2013). Aquí, se sugiere que la expresión de hsp70 reflejó una respuesta de estrés fisiológico en *P. cf. verrucosa* y *P. cf. damicornis*, derivada de una variación térmica severa (± 4 °C), la cual se dio de manera abrupta, en cuestión de minutos, posiblemente asociada a variaciones espaciales a microescala (cm a metros) que han sido pobremente documentadas. Mientras tanto, en *P. cf. capitata*, esta respuesta estuvo ausente al momento del muestreo debido posiblemente a dos razones: 1) como reflejo de una menor capacidad de aclimatación térmica o 2) por diferencias en el tiempo de respuesta al estrés térmico. En cualquier caso, el efecto de las condiciones locales en la respuesta al estrés ambiental de las 3 morfoespecies (incluida *P. cf. damicornis*), estuvo claramente asociada a la variabilidad temporal, mas no a la variabilidad espacial, en el arrecife.

Algo que resalta de este estudio, a diferencia de otros, es que por lo general la expresión de hsp70 en corales se han evaluado en función del estrés generado por altas temperaturas (≥ 29 °C), (véase Leggat et al., 2011; Barshis et al., 2013; Maor-Landaw et al., 2014; Rosic et al., 2014; Bhattacharya et al., 2016; Franzellitti et al., 2018). Esto es debido a que la degradación y pérdida de la endosimbiosis (blanqueamiento), ocurre

cuando los umbrales de temperatura máxima superan los límites de tolerancia térmica de las especies (Fitt et al., 2001; Bonesso et al., 2017). Sin embargo, en el presente estudio el cambio en la expresión de hsp70 sucedió dentro de un rango de temperaturas relativamente bajas (20 – 24 °C). Lo cual podría indicar que la respuesta de aclimatación en *Pocillopora* es sensible al cambio severo y/o abrupto de la temperatura, y que el primer frente de respuesta celular puede ser inmediato y sostenido, aunque no excedan sus límites de tolerancia térmica y/o umbrales de temperatura máxima.

Lo anterior coincide con el trabajo de Seveso et al. (2016), quienes observaron la sobreexpresión de una proteína de choque térmico, en este caso la hsp60, en un coral de la Familia Pocilloporidae (*Seriatopora caliendrum*), en respuesta a los cambios térmicos moderado y severo (± 2 y ± 6 °C), en condiciones de temperatura relativamente bajas (21 – 25 °C), Esto se podría considerar como las primeras evidencias de una respuesta de proteínas de estrés térmico en corales escleractinios expuestos al estrés por frío y no solo al estrés por calor, lo que sugiere que esta respuesta de estrés celular es vital para *P. damicornis* y *P. verrucosa* en comparación con otros corales (Al-Sofyani y Floos, 2013), dado su notable grado de aclimatación fisiológica respecto a la temperatura (Sawall et al., 2014, 2015; Ziegler et al., 2014, 2015; Poli et al., 2017; Zhang et al., 2018). Lo que resulta particularmente relevante en ambientes marginales altamente variables (Mayfield et al., 2013), como lo es el Pacífico mexicano.

Inicialmente, todos los organismos presentan cambios genómicos cuando se exponen a factores de estrés ambiental, pero cuando el estrés es persistente, estos cambios a nivel molecular se reflejan en niveles de organización biológica cada vez mayores (Hédouin y Berteaux-Lecellier, 2014). En este estudio, el factor de estrés se debió a una

variación térmica de escala temporal corta, más corta que la variación diurna (Barshis et al., 2018; Seveso et al., 2018). Por lo tanto, la respuesta de aclimatación a nivel sub-celular (expresión de *hsp70*), se presentó en una escala temporal igualmente corta la cual puede ser sostenida durante horas o incluso días (Mayfield et al., 2013; Putnam et al., 2012). No obstante, ya que el factor de estrés térmico no fue persistente, en el marco temporal no se alteró significativamente la densidad de células endosimbiontes ni la concentración de la *Chl a* y, por lo tanto, no se vio afectada la foto fisiología de los corales, por ejemplo, en su capacidad para captar la luz (Brown, 1997; Douglas, 2003), traslocar nutrientes a las células hospederas (Saxby et al., 2003; Hoegh-Guldberg et al., 2005; Smith et al., 2005), y mantener la homeostasis metabólica entre el ARN y el ADN del holobionte (Messters et al., 2002; Buckley y Szmant 2004).

Esto explica porque, además de la respuesta molecular a escala de tiempo corta, no se observó una influencia significativa en la transcripción de la *hsp70* entre corales de los sitios Este y Oeste del arrecife. Ya que, si bien las condiciones locales del hábitat pueden influir en la aclimatación fisiológica que afecta la expresión de la *hsp70* (Poli et al., 2017), ésta solo se ha observado cuando la variabilidad ambiental esta relacionada con la zonación dependiente de la profundidad y/o con los hábitats que favorecen distintas condiciones de salud y susceptibilidad al blanqueamiento (Harithsa et al., 2005; Poli et al., 2017; Franzellitti et al., 2018; Louis et al., 2020). Sin embargo, en el presente estudio no se evaluaron otras colonias que se encontraban a profundidades distintas de 3 m (Reyes-Bonilla et al., 2013), ni en las diferentes comunidades coralinas de la costa de Colima (Liñán-Cabello et al., 2006; Muñoz-Anguiano et al., 2017). Por lo que, a diferencia de lo que ocurrió con la expresión de *hsp70*, la plasticidad fisiológica relacionada con la

variabilidad espacial sólo afectó a índices de salud, que por el contrario sí mostraron una influencia significativa dependiente del sitio de muestreo, principalmente en *P. cf. verrucosa*.

En concordancia con trabajos anteriores, se ha observado que en condiciones ambientales naturales las diferencias espacio-temporales e inter-intra específicas de estos índices son claramente discernibles en corales (Brown et al., 1999b; Harithsa et al., 2005), incluyendo *Pocillopora* (Glynn et al., 2001; Delgadillo-Nuño et al., 2020), y pueden además mostrar cambios de la actividad autotrófica y heterotrófica, así como su interacción, para compensar los requisitos fisiológicos de calcificación, reproducción y crecimiento ante la variación espacio-temporal (Hennige et al., 2010; Hauri et al. 2010; Hinrichs et al., 2013), particularmente en diferentes entornos de luz (Buckley y Szmant, 2004), y en ambientes marginales de turbidez/sedimentación (Meesters et al., 2002), como lo representa el Pacífico mexicano. Lo anterior puede resultar en diferentes capacidades de actividad metabólica y respuesta al estrés de las distintas especies de coral, incluso para aquellas distribuidas simpátricamente (Buckley y Szmant, 2004; Rodrigues y Grottoli, 2007), lo que explicaría las diferentes capacidades de aclimatación fisiológica observadas entre *P. cf. verrucosa* y *P. cf. capitata/damicornis*, primero en la amplia foto aclimatación de las células endosimbiontes y la Chl *a* entre distintos microambientes de turbidez, sedimentación y/o incidencia de radiación solar entre los dos sitios del arrecife (Delgadillo-Nuño et al. 2020) y segundo, en el limitado potencial de aclimatación heterotrófica (Ziegler et al., 2014), del metabolismo celular (índice ARN/ADN), por ejemplo mediante la ingestión de materia orgánica particulada (Meesters et al., 2002).

1.5 Conclusión

Este estudio mostró que las condiciones del hábitat local pueden influir significativamente en la respuesta de estrés y aclimatación fisiológica en *Pocillopora*, lo que muestra su capacidad de respuesta a la variabilidad ambiental. Específicamente, en una escala temporal corta, se presentó un frente de respuesta inmediata y sostenida ante la variación abrupta de la temperatura a través de la expresión elevada de hsp70. Este factor de estrés térmico se presentó dentro de un marco de temperaturas relativamente bajas, lo cual indica que la hsp70 puede considerarse como un marcador centinela del estrés ambiental y aclimatación fisiológica en respuesta a la variabilidad térmica de alta y baja temperatura (Seveso et al. (2016) y, por lo tanto, su estudio futuro podría ayudar a entender las bases moleculares del fenómeno de blanqueamiento por temperatura fría en el Pacífico mexicano y golfo de California (LaJeunesse et al., 2008; Hernández et al., 2010; Paz-García et al., 2012; Rodríguez-Troncoso et al., 2014; Muñiz-Anguiano et al., 2017). En la escala espacial, las condiciones locales del hábitat influyeron en la foto aclimatación, regulación de la endosimbiosis y actividad del metabolismo celular. Al respecto, los resultados señalan que *P. cf. verrucosa* tuvo una mayor plasticidad fenotípica, y esto podría estar relacionado con el éxito ecológico de *P. cf. verrucosa* en el Golfo de California (Aranceta-Garza et al., 2012), y Pacífico mexicano, incluido el arrecife Carrizales (Reyes-Bonilla et al., 2013). Esto puede deberse a una mayor aptitud competitiva y ventajas selectivas a través de la aclimatación fisiológica y respuesta de estrés a las condiciones ambientales variables, lo que le ha permitido su permanencia en el arrecife, y por lo tanto podría formar parte de una adaptación local que ha promovido que esta sea la morfoespecie más abundante.

CAPÍTULO II.

PLASTICIDAD DE LA EXPRESIÓN GÉNICA EN CORALES *POCILLOPORA* DE DOS LOCALIDADES DEL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO

2.1 Resumen

Actualmente, la mayor amenaza que enfrentan los corales escleractinios es el cambio climático acelerado. Suponiendo que la mayoría de los escleractinios son incapaces de una respuesta de adaptación a los rápidos cambios globales, una respuesta alternativa sería la plasticidad fenotípica, que se describe clásicamente como aclimatación. Con el fin de establecer una línea base para el estudio de la aclimatación en los corales de la costa mexicana del Pacífico, en el presente trabajo evaluamos la plasticidad de la respuesta fisiológica y molecular de 36 colonias pertenecientes a 3 morfoespecies del género *Pocillopora* (*P. cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa*), ubicadas en 2 sitios (este y oeste) del arrecife Carrizales. Los datos ambientales revelaron mayor incidencia de luz y concentraciones más altas de clorofila *a* en las muestras de agua del sitio oeste, lo que sugiere la presencia de al menos dos microambientes con mayor y menor luz en el arrecife. Como respuesta, las morfoespecies del sitio oeste mostraron una mayor expresión génica y diferencias significativas en el contenido de pigmentos, la densidad de endosimbiontes y los marcadores metabólicos (ARN, ADN y proteínas). Dada la preocupación por el futuro de los arrecifes, consideramos que el presente estudio puede servir como línea base para el estudio de la plasticidad fisiológica y molecular de los corales *Pocillopora* de México, y con ello se podrán desarrollar estrategias de conservación para las morfoespecies clave en los arrecifes coralinos de la costa mexicana del Pacífico.

Aquí se presenta únicamente el resumen de este capítulo ya que ha sido publicado recientemente como: Delgadillo-Nuño, M. A., Liñán-Cabello, M. A., Delgadillo-Nuño, E., Galindo-Sánchez, C. E., & de Jesús Carpizo-Ituarte, E. (2020). Gene expression plasticity in *Pocillopora* corals from 2 locations on the Carrizales Reef, Pacific coast of Mexico. *Ciencias Marinas*, 46(2), 89-100. Para acceder al documento completo véase el Anexo o bien acceda a través de:

<https://cienciasmarinas.com.mx/index.php/cmarinas/article/view/3062>

CAPÍTULO III.

EFFECTO DE LOS AMBIENTES LOCALES EN LA FOTOACLIMATACIÓN DE CORALES *POCILLOPORA* EN EL ARRECIFE CARRIZALES, COSTA MEXICANA DEL PACÍFICO

3.1 Introducción

Los arrecifes de coral son ecosistemas de gran importancia debido a su alta productividad, biodiversidad y valor económico (Muscatine y Hand, 1958; Davy et al., 2012). Por desgracia estos ecosistemas enfrentan actualmente varias amenazas ambientales provocadas por estresores locales y globales (Hoegh-Guldberg et al., 2017; Hughes et al., 2017b), como el incremento en la temperatura superficial del mar y cambios en la calidad del agua. Debido a la delicada relación simbiótica entre corales y dinoflagelados fotosintéticos Symbiodiniaceae, los corales son sensibles al cambio en la temperatura y radiación lumínica (Hoegh-Guldberg y Smith 1989; Lesser y Shick 1989; Iglesias-Prieto et al., 1992). De modo que, los factores locales que determinan la exposición a la radiación solar y la temperatura son en conjunto las variables más importantes que afectan la estabilidad de la simbiosis (Dunne y Brown, 2001; Hoegh-Guldberg et al. 2007).

Por un lado, el exceso de calor y radiación inhiben los mecanismos de captación de luz y fijación de carbono en los cloroplastos de Symbiodiniaceae (Jones et al. 1998; Warner et al. 1999), lo que promueve la fotoinhibición y daño al fotosistema II (PSII) (Lesser, 2011), por lo que, se generan especies reactivas de oxígeno (ROS) que provocan daño al ADN y apoptosis (Goreau 1990; Lesser, 2006, 2011). Estos factores de estrés celular

inducen un fenómeno bien estudiado, conocido como blanqueamiento, que se describe como el proceso celular en el que los tejidos de coral pierden las células simbiotas y los pigmentos fotosintéticos se degradan. La frecuencia y severidad de los eventos masivos de blanqueamiento en los arrecifes de coral alrededor del mundo, se han señalado como un indicador biológico de las consecuencias del cambio climático global (Hughes 2000; Hughes et al., 2017b). Se prevé que los escenarios actuales y futuros de acumulación de gases de efecto invernadero agravarán los fenómenos como el blanqueamiento de coral y sus efectos, como mortalidades inusuales y cambios en la estructura de las comunidades de especies de coral (Hoegh-Guldberg 1999; Sheppard 2003; Hoegh-Guldberg et al. 2007; Hoegh-Guldberg et al., 2017). Lo anterior ocasionará cambios en la abundancia relativa de los corales entre las especies sobrevivientes y resistentes a los eventos de blanqueamiento (Hawkins et al., 2015), dependiendo de la identidad genética del hospedero y el simbiote (Berkelmans y van Oppen, 2006; Baird et al., 2009; Kenkel et al. 2013; Silverstein et al. 2014), la morfología y talla de las colonias (Loya et al., 2001; Loch et al., 2002; McClanahan y Maina, 2003), el historial de vida de la simbiosis (Putnam et al. 2012), la exposición previa al estrés (Bellantuono et al. 2012; Guest et al. 2012), las características del hábitat como profundidad y ambientes de luz y sombra (Lesser et al. 1990; Glynn et al. 2001; Lesser y Farrell, 2004; Fabricius, 2006), entre los más importantes.

Por otra parte, el blanqueamiento coralino es distinto del ciclo estacional en los caracteres fotosintéticos de los corales. Durante este ciclo estacional las concentraciones de Symbiodiniaceae y pigmentos fotosintéticos, así como el número de centros de reacción funcionales del PSII disminuyen a mínimos anuales durante los meses de verano y luego se recuperan durante el otoño y el invierno (Fagoonee et al. 1999; Fitt et al. 2000; Warner et

al. 2002). Sin embargo, la respuesta de los corales y sus simbioses a los cambios estacionales varía geográficamente (y entre diferentes especies). Por ejemplo, Hinrichs et al. (2013), encontraron densidades de Symbiodiniaceae más altas en *Acropora digitifera* pero no en *A. spicifera* durante el invierno en comparación con el verano en el arrecife Ningaloo al noroeste de Australia. Sawall et al. (2014) observaron una marcada estacionalidad en *Pocillopora verrucosa* del Mar Rojo, con densidades de Symbiodiniaceae 2 a 3 veces mayores en invierno en todos los sitios, excepto en Farasan, donde la densidad de Symbiodiniaceae disminuyó en invierno. Delgadillo-Nuño (2015) observó mayores densidades de Symbiodiniaceae durante el verano en comparación con densidades más bajas en el invierno en corales *P. verrucosa* de dos comunidades coralinas impactadas diferencialmente por la actividad antropogénica en la Costa de Colima, México. Otros estudios han demostrado que las densidades de simbioses pueden ser más bajas durante el invierno en diversas especies de corales dominantes (Xu et al. 2017), revelando que la densidad de simbioses puede ser menor durante la estación seca y mayor en la estación húmeda en corales de aguas poco profundas (Brown et al., 1999a), a estos estudios se suman evidencias de arrecifes en los que las influencias antropogénicas son tan altas que no se detecta un marcado ciclo estacional en Symbiodiniaceae (Browne et al., 2015).

A pesar de todo el esfuerzo para comprender la distinta susceptibilidad de los corales a los fenómenos tanto de blanqueamiento estacional como blanqueamiento masivo, el conocimiento de cómo surge esta diferenciación a partir de la regulación de aspectos fundamentales de la biología celular de los corales sigue siendo insuficiente (Hawkins et al. 2015; Traylor-Knowles y Palumbi 2014). En primer lugar, son necesarios más datos para distinguir si los cambios en los caracteres fotosintéticos son indicadores de una variación

temporal normal o manifestaciones tempranas de blanqueamiento (Fitt et al., 2000; Piniak y Brown 2009). Por lo tanto, es de gran importancia estudiar los cambios temporales y las variaciones espaciales de las propiedades fotosintéticas en más de un tipo de coral, para entender los impactos ecológicos del estrés ambiental en los corales arrecifales e identificar qué especies serán más resistentes a los efectos del cambio climático (Jones y Hoegh-Guldberg, 2001; Stimson y Sembali, 2002; Anthony y Hoegh-Guldberg, 2003; Xu et al., 2017).

Con todo esto en mente, se estableció un programa de monitoreo diurno (12 h) en la estación temporal de secas (27 de mayo de 2017), cuando las densidades de Symbiodiniaceae son menores en las especies de *Pocillopora* en el arrecife Carrizales (Liñán-Cabello et al. 2006, 2010; Muñoz-Anguiano et al. 2017). En el estudio se incluyeron las tres morfoespecies más abundantes del arrecife (*P. cf. capitata*, *P. damicornis* y *P. cf. verrucosa*), las cuales se ha visto tienen distinta susceptibilidad al blanqueamiento por estrés térmico y lumínico (Paz-García et al., 2012), así como diferencias en el éxito ecológico reflejado en la cobertura relativa (Reyes-Bonilla et al., 2013). El objetivo de este estudio fue evaluar la variación diurna de las densidades de células Symbiodiniaceae y concentración de clorofila *a*, utilizados frecuentemente como indicadores del estado de salud de la simbiosis (Lesser, 2011; Hinrichs et al., 2013; Browne et al., 2015), en una gran variedad de escalas taxonómicas, geográficas y temporales (Lesser y Gorbunov, 2001; Stimson y Sembali, 2002; Anthony y Hoegh-Guldberg, 2003; Xu et al., 2017), con el propósito de entender mejor la dinámica de las respuestas entre ambientes locales contrastantes de luz/sombra para evidenciar la relación entre la plasticidad morfológica y la plasticidad foto fisiológica de los corales *Pocillopora*.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Sitio de estudio y recolección de muestras

Este estudio se realizó el 27 de mayo de 2017, en el arrecife Carrizales (19°05'42" N, 104°26'21" W) (véase: Figura 1 en *Anexo*). Las morfoespecies estudiadas fueron *P. cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa*, las cuales fueron identificadas igual que en el Capítulo 1 (véase: *Selección de corales*), utilizando buceo autónomo SCUBA. Se eligieron tres colonias de cada morfoespecie las cuales se encontraban simpátricamente a 3 m de profundidad en los sitios Este y Oeste del arrecife de Carrizales (18 colonias en total). Las colonias seleccionadas fueron marcadas numéricamente con etiquetas plásticas e inmediatamente después del marcaje, a las 8:00 h (T_0), se recolectaron dos fragmentos de cada colonia, seguido de lo cual se realizó un muestreo continuo cada cuatro horas: 12:00, 16:00 y 20:00 h (T_1 , T_2 y T_3 , respectivamente), hasta completar 12 horas de ciclo diurno. En cada tiempo de muestreo, un set de fragmentos se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido y se reservó hasta la extracción de clorofila *a* en laboratorio. Mientras que el segundo set de fragmentos se fijó inmediatamente *in situ* en viales de 15 mL conteniendo 10 mL de formaldehído al 10% y se reservó hasta la cuantificación de la densidad de células Symbiodiniaceae en laboratorio.

Adicionalmente, se tomaron 3 muestras del agua de mar circundante a las colonias en cada sitio de muestreo para evaluar la concentración de clorofila *a* (Chl *a*), la cual se determinó con un espectrofotómetro Jenway 6500 (Chelmsford, Essex, UK), de acuerdo con las metodologías de Strickland y Parsons (1972) y Grasshoff et al. (1999). Los resultados se muestran como la concentración de la clorofila *a* por volumen de agua de mar (Chl *a* mg m⁻³). Además, se colocaron dos sensores Onset® HOBO® Pendant™ UA-002-08 (Onset Computer Corporation, Bourne, MA), a un metro de distancia de las colonias a la

misma profundidad, simulando las mismas condiciones ambientales. Los sensores se programaron para medir las condiciones ambientales de luz y temperatura, cada segundo, durante el tiempo total del muestreo. Una vez finalizado el muestreo, los datos registrados por los sensores se descargaron utilizando el software HOBOWare® (Onset Computer Corporation, Bourne, MA). A partir de los archivos obtenidos se calculó el registro promedio de temperatura por hora y el de luz por metro cuadrado por segundo en hojas de Microsoft Excel. Los cambios de luz en función del tiempo se presentan como los datos en bruto registrados cada segundo.

3.2.2 *Análisis de laboratorio*

Las células de dinoflagelados endosimbiontes Symbiodiniaceae se extrajeron y cuantificaron a partir de los fragmentos de coral conservados en 10 mL de formaldehído al 10% siguiendo el protocolo modificado de Zamoum y Furla (2012), como se explicó en el Capítulo 1 (véase: *Análisis fisiológicos*). Los resultados de la densidad endosimbionte se expresan como el número de células Symbiodiniaceae por unidad de superficie ocupada por el tejido vivo en el esqueleto de coral (células cm^{-2}), obtenida midiendo cada fragmento con un vernier de precisión milimétrica.

Los pigmentos fotosintéticos (Chl *a* + *c*) se determinaron a partir de los fragmentos congelados en nitrógeno líquido, previamente medidos con un vernier de precisión milimétrica. La extracción y cuantificación se realizó de la misma manera que en el Capítulo 1 (véase: *Análisis fisiológicos*), y las concentraciones se calcularon de acuerdo con las ecuaciones de Jeffrey y Humphrey (1975) con la corrección de turbidez recomendada.

Los resultados se expresan como la concentración de los pigmentos fotosintéticos en picogramos por célula de Symbiodiniaceae (Chl *a+c* pg célula⁻¹).

3.2.4 Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo utilizando el software R (Core Team, 2021). Todos los datos se analizaron con la prueba de normalidad Shapiro-Wilk y la prueba de Bartlett para la homocedasticidad (intervalos de confianza del 95%). Se utilizó el Análisis de Varianza de dos vías (ANOVA) seguido de comparaciones múltiples (prueba de Tukey) para evaluar las diferencias significativas ($P > 0.05$). En los casos en que no se cumplieron los preceptos de normalidad y homocedasticidad, se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples de Dunn.

3.3 Resultados

La variación espacio-temporal de las variables ambientales en el arrecife reveló que la temperatura no presentó diferencias significativas en los sitios de muestreo Este y Oeste, con promedios de 25.0 ± 0.66 y 25.0 ± 0.55 °C, respectivamente. Por otro lado, los datos de luz fueron significativamente mayores en el sitio Oeste ($P < 0.05$), en comparación con el sitio Este (Figura 10). En relación con la Chl *a* en el agua de mar, los valores más altos ocurrieron en el sitio Oeste del arrecife (0.42 ± 0.21 mg·m⁻³), en comparación con el sitio Este (0.34 ± 0.15 mg·m⁻³).

La densidad de células Symbiodiniaceae en *P. cf. verrucosa* fue significativamente mayor en el sitio Oeste en todos los tiempos de muestreo ($P < 0.05$), mientras que en

P. cf. capitata solo fueron significativamente mayores en T₂ y T₃ en el mismo sitio ($P < 0.05$); en contraste, *P. cf. damicornis* no mostró diferencias significativas (Figura 11). La concentración de pigmentos fotosintéticos en *P. cf. verrucosa* fue mayor en el sitio Este en todos los tiempos de muestreo y este comportamiento fue significativo en T₂ y T₃ ($P < 0.05$), al igual que en *P. cf. capitata* y a diferencia de *P. cf. damicornis* en T₁ (Figura 11).

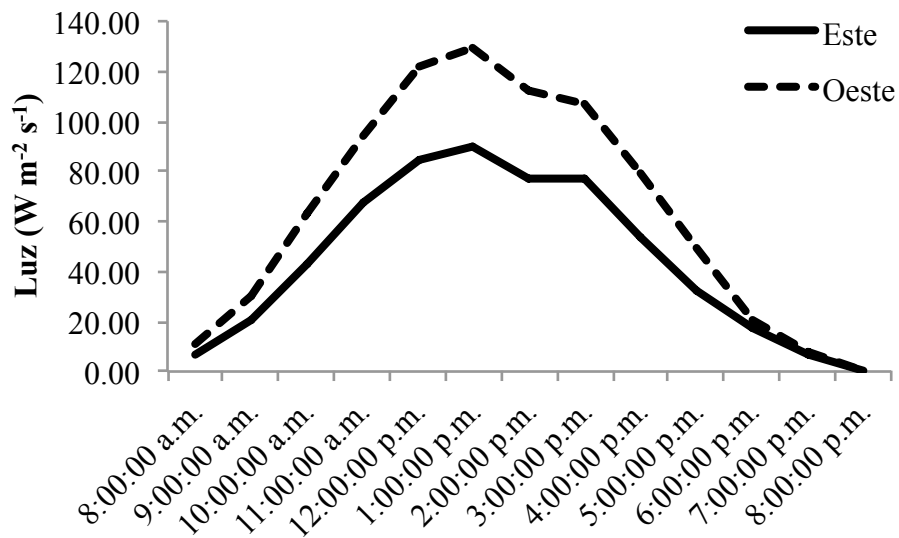


Figura 9. Radiación lumínica natural en los sitios Este y Oeste del arrecife Carrizales el 27 de mayo de 2017.

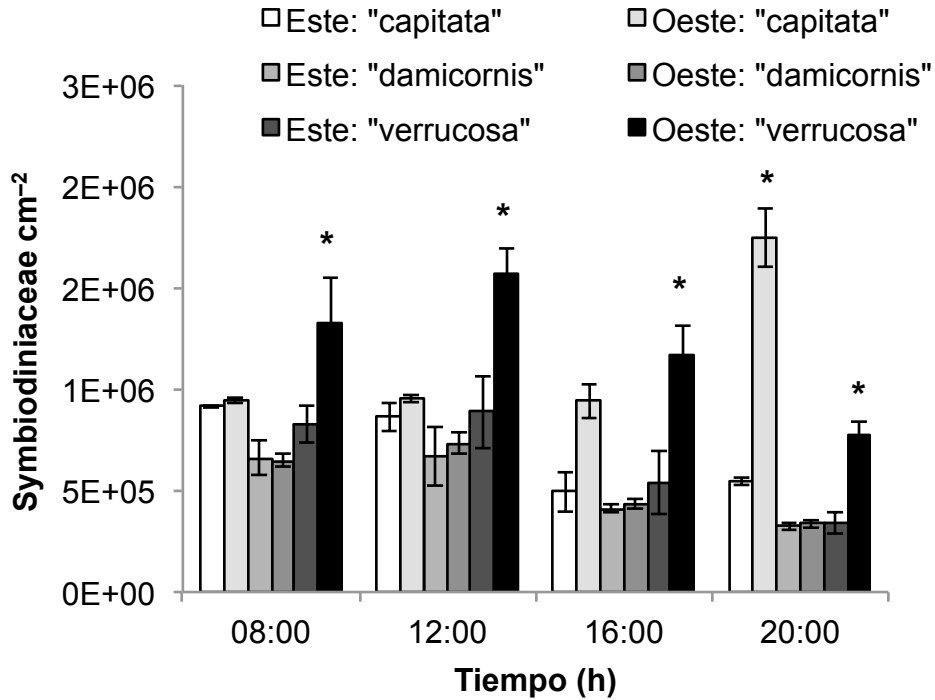


Figura 10. Densidad de células de Symbiodiniaceae en fragmentos de las tres morfoespecies de *Pocillopora*: “*capitata*”, “*damicornis*” y “*verrucosa*”, muestreados el 27 de mayo a las 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h, en ambos sitios del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Los asteriscos indican las diferencias significativas entre los datos de los sitios Este y Oeste ($P < 0.05$).

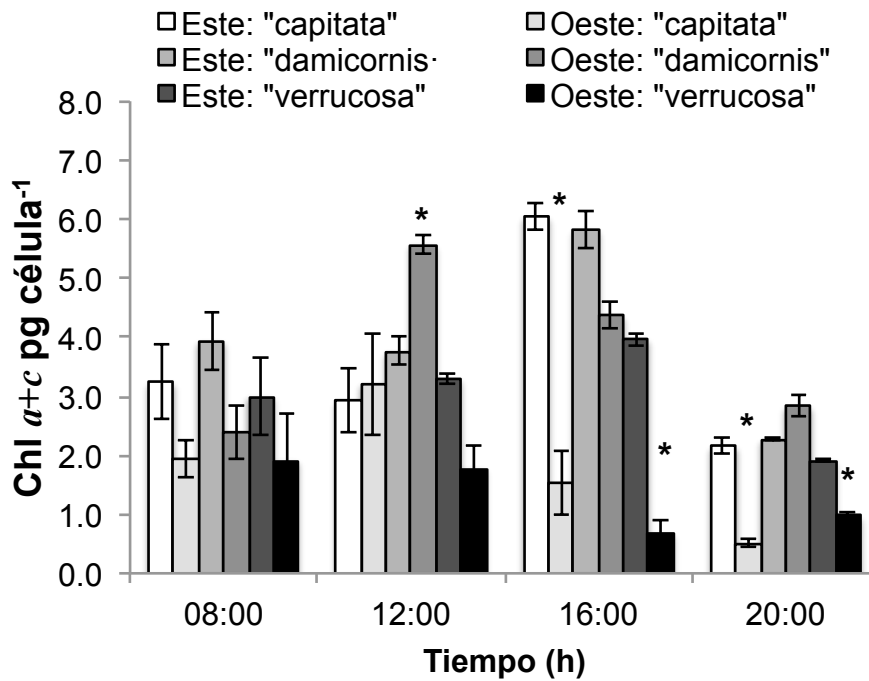


Figura 11. Concentración de Chl *a* en las células de Symbiodiniaceae de las tres morfoespecies de *Pocillopora*: “*capitata*”, “*damicornis*” y “*verrucosa*”, muestreados el 27 de mayo a las 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h, en ambos sitios del arrecife Carrizales. Se muestran los valores de la media \pm error estándar de la media ($n = 3$). Los asteriscos indican las diferencias significativas entre los datos de los sitios Este y Oeste ($P < 0.05$).

3.4 Discusión

En el presente estudio, los resultados del monitoreo de 12 horas indicaron la presencia de dos ambientes relativos con mayor y menor luz en el arrecife. Esta variación espacial en la irradiancia se vio reflejada en la productividad primaria dentro del arrecife y tuvo un efecto significativo en la modulación de la densidad endosimbionte en *P. cf. verrucosa* y *P. cf. capitata*, esta última dependiente del ciclo diurno de luz, además afectó de manera significativa la foto aclimatación de Symbiodiniaceae en las tres morfoespecies (incluida *P. cf. damicornis*).

Una de las estrategias de foto aclimatación en corales a la alta y baja irradiancia es modular las características fotosintéticas de Symbiodiniaceae y su contenido de pigmentos (Falkowski et al., 1984; Muscatine et al. 1984). Por ejemplo, la foto aclimatación de los corales en hábitats de sombra y penumbra da como resultado un aumento de las concentraciones de clorofila al aumentar el tamaño y la cantidad de cloroplastos (sin alterar significativamente el número de células endosimbiontes por unidad de área), lo cual maximiza la captura de luz por parte de la clorofila en Symbiodiniaceae (Porter et al., 1984; Fabricius, 2005; Stambler y Dubinsky, 2005). De tal forma que los corales adaptados a la sombra, cuentan con un mayor contenido de pigmentos, y pueden tener el doble de capacidad de recolección de luz que los corales adaptados a la luz (Dubinsky et al. 1984).

Esto explica porque los corales en general mostraron concentraciones de Chl *a* más altas en el sitio de menor luz (Este).

Por otro lado, se ha visto que la poca cantidad de la luz, o la reducción temporal de la misma por turbidez (exceso de partículas en suspensión), no tienen un efecto significativo en el número de células de Symbiodiniaceae por unidad de superficie del coral (Porter et al., 1984; Fabricius, 2005; Stambler y Dubinsky, 2005), y por el contrario, en alta irradiancia ocurre una limitación de las poblaciones endosimbiontes por la disponibilidad de nutrientes, principalmente del nitrógeno inorgánico disuelto, ya que este nutriente se utiliza preferentemente para el crecimiento celular (síntesis de proteínas) de Symbiodiniaceae, en lugar del crecimiento del tejido del hospedero (Falkowski et al., 1984; Muscatine et al., 1989; Dubinsky y Jokiel, 1994). De acuerdo con Fabricius (2005), la densidad de Symbiodiniaceae aumenta significativamente cuando se da el enriquecimiento durante períodos largos de tiempo. Con valores entre 10 y 20 μM por 30 a 40 días o hasta 8 semanas (Snidvongs y Kinzie, 1994; Marubini y Davies, 1996).

Estudios anteriores han demostrado que esos valores son bastante cercanos a los observados en el arrecife Carrizales, principalmente durante la primavera (Muñiz-Anguiano et al., 2017; presente estudio [véase capítulo 1]), debido posiblemente a las surgencias estacionales en la región del Pacífico mexicano (Olivos-Ortiz et al., 2005; Quijano-Scheggia et al., 2012), a las cuales se pueden atribuir los valores elevados de nutrientes (Kinsey y Davies, 1979; Wellington y Glynn, 1983). De este modo, el incremento de la densidad de Symbiodiniaceae puede ser una consecuencia del enriquecimiento de nitrógeno en ambientes con mayor luz y explica porqué se observaron altas densidades en el sitio Oeste, ya que al liberarse de la limitación por nitrógeno, las células de Symbiodiniaceae

tienen acceso preferencial (sobre el hospedero) al carbono fijado fotosintéticamente, el cual se encuentra ampliamente disponible en ambientes de alta irradiancia (Marubini y Atkinson, 1999; Marubini y Thake, 1999).

Específicamente, *P. cf. verrucosa* mostró respuestas fijas de foto aclimatación y modulación de las poblaciones de Symbiodiniaceae, las cuales fueron consistentes en ambos sitios y mantuvieron el mismo comportamiento a lo largo del ciclo diurno. Esto sugiere una respuesta genética de foto adaptación en *P. cf. verrucosa*, dado el hecho de que la densidad de Symbiodiniaceae y su contenido de Chl *a* fueron paralelas en sus valores más altos y bajos en todo el rango de variación espacio-temporal de la luz. Además, este patrón de respuesta a la variabilidad espacial ya se había reportado en *P. cf. verrucosa* en el arrecife Carrizales (Delgadillo-Nuño et al. 2020); por otra parte, *P. verrucosa* y *P. capitata* son las únicas especies con una distribución a mayor profundidad en ambos sitios del arrecife (Reyes-Bonilla et al. 2013). Es posible que *P. cf. verrucosa* haya obtenido un tipo de Symbiodiniaceae más eficiente en los distintos niveles de irradiancia ambiental (Chang et al. 1983, Rowan et al. 1997; Lesser et al., 2010), aunque las especies de *Pocillopora* en el TEP han mostrado relaciones bastante estables con los clados de Symbiodiniaceae (ver LaJeunesse et al., 2007, 2008, 2010; McGinley et al., 2012; Walther-Mendoza et al., 2016), debido probablemente a la transmisión vertical de los endosimbiontes en este género (Lajeunesse et al., 2008).

Finalmente, *P. cf. capitata*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa* presentaron patrones específicos en las densidades endosimbiontes y concentraciones de clorofila que, en ciertos períodos del ciclo diurno eran contrarios y, en otras ocasiones muy semejantes entre estos. Dada la alta plasticidad fenotípica de *Pocillopora* (Pinzón y LaJeunesse, 2011;

Paz-García et al., 2015a), el espectro de las respuestas que podrían considerarse como “comunes” y “anómalas” quizá se deba a la variación micro esquelética inter e intra específica (Schmidt-Roach et al., 2014), la cual produce distintos microambientes de luz tanto entre colonias como dentro de las mismas (Falkowski y Dubinsky, 1981; Falkowski et al., 1984). Además, otro aspecto a considerar es la presencia de moléculas no fotosintéticas (proteínas fluorescentes y cromoproteínas) con un potencial de absorción y dispersión de la luz (Lyndby et al., 2016), para la fotoprotección de los simbiositos (Smith et al. 2013; Quick et al., 2018), y como parte de la foto aclimatación del hospedero (Roth et al., 2010; Smith et al., 2017), las cuales pueden presentarse diferencialmente en corales (Dove et al., 1995, 2001), incluidos *Pocillopora* (Takabayashi y Hoegh-Guldberg, 1995; Delgadillo-Nuño, 2018; Delgadillo-Nuño et al., 2020).

Estas respuestas específicas, podrían estar relacionadas con distintas características de dominancia y/o susceptibilidad al estrés en la asociación Symbiodiniaceae–*Pocillopora* entre distintas especies, clados o morfoespecies del Pacífico mexicano (véase LaJeunesse et al., 2008; Hernández et al., 2010; Paz-García et al., 2012). Particularmente, en los entornos que suponen límites fisiológicos y biogeográficos (Pörtner y Farrell, 2008; Levin et al., 2016). No obstante, se necesita una mayor comprensión de la respuesta fisiológica ante los cambios cortos (días y semanas) en el régimen de luz, puesto que la exposición lumínica diurna en los arrecifes costeros del ETP, fluctúa hasta cinco veces más que en otras regiones (Glynn et al. 2017a). Estudios futuros más detallados y extensos, podrían resolver las bases genéticas del desempeño foto fisiológico de Symbiodiniaceae en *P. verrucosa* (Al-Sofyani et al., 2014; Ziegler et al., 2014), así como los efectos de su extensa

plasticidad fenotípica (Al-Sofyani y Floos, 2013; Poli et al., 2017), que subyacen a las respuestas observadas en este estudio.

3.5 Conclusión

Este estudio mostró que las condiciones locales de luz en el arrecife Carrizales presentan una alta variación espacial, con la presencia de ambientes relativos de mayor y menor luz. Estas condiciones locales influyen significativamente en las características de los endosimbiontes relacionadas con la foto fisiología de *Pocillopora*, especialmente en *P. cf. verrucosa*, y en menor medida en *P. cf. capitata* y *P. cf. damicornis*. Estos resultados proporcionan información adicional sobre la plasticidad fisiológica de *P. cf. verrucosa* y explican, en parte, los patrones de abundancia y distribución observados anteriormente en el arrecife (Reyes-Bonilla et al., 2013). En conclusión, las morfoespecies *Pocillopora* podrían presentar distintos grados de vulnerabilidad a la atenuación de la luz, así como al estrés de alta radiación lumínica. Provocados por cambios repentinos de la luz bajo el agua, debido a procesos naturales o actividades antropogénicas, como el desarrollo costero a lo largo de la costa del Pacífico mexicano.

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN GENERAL

4.1 Introducción

Los arrecifes de coral del planeta están entrando en una era de profundo cambio. El cambio global impulsado por el aumento de CO₂ de origen antropogénico (Hughes et al., 2017a), generalmente asociado con factores de calentamiento global y la variación ambiental extrema en el océano (Kleypas, 2019) las cuales incluyen aumento de las temperaturas superficiales del mar y la acidificación del océano, están ocasionando variaciones sin precedentes en las características abióticas de los ecosistemas marinos (Hoegh-Guldberg et al., 2017; Hughes et al., 2017b). Dado que sus efectos se desvían significativamente de las condiciones ambientales que dominaron la historia evolutiva de las especies contemporáneas (Jackson, 2010), existe la preocupación de si los organismos marinos poseen la capacidad para hacer frente a estos cambios tan rápidos (Palumbi et al. 2014; Barshis 2015).

A pesar de este panorama, recientemente se han documentado evidencias de extenso potencial de aclimatación/adaptación en algunas poblaciones de corales (Coles et al., 2018; Keshavmurthy et al., 2020), y Symbiodiniaceae (Hume et al., 2016; Ziegler et al., 2018). Principalmente aquellas que se han desarrollado en entornos naturalmente variables (Morikawa y Palumbi, 2019), como los que representa el ETP (Glynn et al., 2017a, 2017b). Por lo tanto, la investigación detallada de las respuestas fisiológicas de aclimatación/adaptación, como las seleccionadas en este estudio (Tabla 3), es un

antecedente importante predecir el futuro de los arrecifes en un océano rápidamente cambiante.

Tabla 3. Importancia biológica de los marcadores moleculares y fisiológicos seleccionados en el presente estudio.

Marcador	Importancia biológica
Coral hospedero	
Anhidrasa carbónica	Enzima que cataliza la reacción de hidratación del dióxido de carbono (CO ₂) en bicarbonato (HCO ₃ ⁻) y protones (H ⁺). Desempeña un papel crucial en diferentes procesos fisiológicos, entre los cuales se sabe que tiene un papel fundamental en los procesos de bio-calcificación, esto es, la capacidad de depositar cristales de carbonato de calcio de manera controlada. El incremento en la expresión del gen sugiere un aumento en la actividad metabólica celular relacionada con estos procesos
Cu-ZnSOD	Enzima involucrada en una importante vía de defensa celular al estrés oxidativo. El incremento en la expresión del gen sugiere un aumento en la concentración de esta enzima con actividad antioxidante
GFP-like cp	Se ha planteado la hipótesis de que las GFP reflejan la luz y dispersan el exceso de energía potencialmente dañina lejos de los endosimbiontes. El incremento en la expresión del gen sugiere un exposición a la luz alta o directa
Hsp70	Chaperona molecular que regula la estructura de las proteínas y participan en la reconstitución de proteínas desnaturalizadas. El incremento en la expresión del gen sugiere una respuesta de defensa celular en respuesta al estrés térmico, principalmente
Simbiosis en conjunto	
Relaciones de ácidos nucleicos y proteínas totales	Componentes bioquímicos que reflejan el estado metabólico y la capacidad de síntesis y producción proteínas para el crecimiento celular. Los índices más altos están relacionados con la dependencia a la luz y reflejan períodos o lugares en los que las condiciones son favorables para los procesos fisiológicos
Symbiodiniaceae	
Densidad celular	Symbiodiniaceae representa la principal fuente trófica en corales. Trasloca más del 90 % de los requerimientos nutricionales lo que contribuye al crecimiento de la colonia y el mantenimiento de los arrecifes. La densidad celular por unidad de área es regulada en el tejido coralino y bajo condiciones favorables, su aumento y disminución depende principalmente de la concentración de nutrientes inorgánicos disueltos
Pigmentos	La composición y contenido de una gran variedad de pigmentos, incluidos clorofila <i>a</i> , clorofila <i>c</i> , peridina, diadinoxantina, diatoxantina y β -caroteno. determinan conjuntamente las características ópticas de los corales y describen su capacidad para capturar la energía de radiación fotosintéticamente activa. El aumento y disminución de los de pigmentos refleja el potencial para la actividad fotosintética en los corales que depende fundamentalmente de la luz

4.2 Efectos de la variación espacio-temporal

En el presente estudio, se exploró tanto la respuesta de estrés térmico como la capacidad de foto aclimatación dentro de un marco espacio-temporal, además del efecto potencial de la alta plasticidad fenotípica de el genero *Pocillopora* en estas respuestas.

Tabla 4 Resumen de las respuestas representativas de *Pocillopora* a la variación abrupta de la temperatura (véase también el Capítulo 1).

Tiempo (día)	Elemento	Respuesta
Antes de la variación térmica	Temperatura 23 - 24 °C. Entre 10 y 20 % menos nitrógeno, fósforo y sílice	Expresión basal del gen de hsp70
Después de la variación térmica	Temperatura 20 - 24 °C. 20 % más nitrógeno y sílice, hasta 60 % más fósforo	Incremento significativo en la expresión relativa de hsp70 (10 - 20 veces mayor). Disminución en la síntesis de ARN (). Sin efectos significativos en la producción de proteínas, densidad endosimbionte y concentración de chl <i>a</i>

4.2.1 Estrés térmico

En primer lugar, se investigó la modulación del ARN mensajero de la hsp70 dentro de una población de corales *Pocillopora* que difieren en sus características morfológicas (*sensu* Pinzón y LaJeunesse, 2011), antes y después una variación térmica en un entorno natural. Los resultados en el Capítulo 1, mostraron que tuvo lugar un cambio en la temperatura del agua de mar caracterizado por una disminución y aumento (± 4 °C) casi inmediatos. Esta variación térmica fue suficiente para generar una respuesta molecular significativa (incremento en la transcripción de hsp70), y ocasionó una reducción general en la síntesis

de ARN total pero no afectó significativamente la endosimbiosis, al menos en relación con los indicadores utilizados en el presente estudio (Tabla 4).

Los cambios de temperatura han sido reconocidos como la variable ambiental más importante que afecta la fisiología de los corales, con el blanqueamiento coralino como una respuesta celular posterior (Ainsworth et al., 2008). Por lo tanto, se ha realizado un gran esfuerzo para comprender los efectos del estrés térmico (generalmente ≥ 29 °C) en la respuesta celular de los corales (Lesser, 2004; Ferrier-Pages et al., 2007; Weis, 2008; Fitt et al., 2009; Vidal-Dupiol et al., 2009; Mayfield et al., 2013; Rodolfo-Metalpa et al., 2014). No obstante, este estudio señala que cambios repentinos y de corto plazo en la temperatura del agua de mar podría significar un factor de estrés fisiológico para *Pocillopora*, principalmente *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa*, incluyendo los cambios térmicos de baja temperatura (Roth et al., 2012; Roth y Deheyn, 2013; Rodríguez-Troncoso et al., 2014; Seveso et al., 2016), la cual también puede ocasionar eventos de blanqueamiento (LaJeunesse et al., 2008; Hernández et al., 2010; Paz-García et al., 2012)

Los niveles de expresión resultaron significativamente influenciados por la variación térmica; esto coincide con la alta capacidad de estas especies para expresar un mayor conjunto de proteínas hsp70 que otros cnidarios como parte de una respuesta vital al estrés celular (Poli et al., 2017; Zhang et al., 2018). No obstante, la expresión de hsp70 en corales puede aumentar o disminuir significativamente en períodos cortos de tiempo (días) en relación con los ciclos de 12 h de luz (Chow et al., 2012), aún en condiciones de temperatura ambiente (Brown et al., 2002), por lo que resulta primordial, afinar la escala de respuesta temporal de la expresión de este gen, para entender mejor su respuesta. En particular, es necesario investigar si la respuesta se debió al potencial de recuperación

celular (Hartl et al., 2011), que resultó de un choque térmico por agua fría (Seveso et al., 2016), y/o debido a la oscilación diurna en la expresión de hsp70 relacionada con los cambios normales de luz y temperatura durante el ciclo diurno natural (Seveso et al., 2018). Todos estos factores deben ser considerados a futuro tanto en estudios experimentales como de campo lo cual contribuirá a explicar los resultados iniciales de este estudio.

4.2.2 Intensidad de la luz

En este estudio, se observó una extensa capacidad de aclimatación a los distintos regímenes de luz en ambos sitios del arrecife y para todas las fechas de muestreo (véase Capítulos 1 a 3). De acuerdo con los resultados obtenidos, la modulación del ARN mensajero tanto de la anhidrasa carbónica, Cu-ZnSOD, GFP-like cp y Hsp70 forma parte importante de la respuesta de aclimatación del hospedero a los ambientes locales de luz. Entre estos se destacan la estrecha asociación de las cuatro rutas celulares estudiadas a un ambiente de mayor radiación lumínica (Tablas 3 y 5), esto es, mediante el aumento del metabolismo celular y transporte iónico en el sitio de calcificación (Chew et al., 2019), la absorción y dispersión del exceso de energía lumínica que causa la fotoinhibición (Quick et al., 2018), y las respuestas al estrés celular inducido por la luz. Lo anterior, tanto para prevenir y controlar los niveles subletales de radicales libres de oxígeno que provocan el estrés oxidativo (Mydlarz et al. 2016), como mantener la homeostasis de las proteínas y recuperar o mitigar el daño ocasionado por el estrés (Chow et al. 2012). Esto representa una primera aproximación de cómo la plasticidad fisiológica relacionada con el ambiente local

en el arrecife Carrizales afecta la expresión génica en los corales (véase también Delgadillo-Nuño et al., 2020).

Tabla 5. Resumen de las respuestas representativas en *Pocillopora* a los ambientes locales de luz en el arrecife (véanse también los Capítulos 2 y 3).

Sitio	Elemento	Respuesta
Este	Hasta 1.7 veces menor intensidad de luz ($W\ m^{-2}\ s^{-1}$) y 1.5 menos Chl <i>a</i> m^{-3} respecto al sitio Oeste. Sin diferencias significativas en la temperatura	Menor expresión relativa de la anhidrasa carbónica, Cu-ZnSOD, GFP-like cp y Hsp70. Síntesis de ácidos nucleicos y proteínas totales disminuida. Aumento en la concentración de Chl <i>a</i> y <i>c</i> , carotenoides y xantofilas totales. Baja densidad endosimbionte. Sin efecto en el contenido de MAAs
Oeste	30 % más luz acumulada en 12 h y 25 % más Chl <i>a</i> m^{-3} respecto al sitio Este. Sin diferencias significativas en la temperatura	Incremento de la expresión génica, síntesis de ARN, producción de proteínas y densidad endosimbionte. Reducción en la concentración de Chl <i>a</i> y <i>c</i> , carotenoides y xantofilas totales. Sin efecto en el contenido de MAAs

Los patrones de expresión génica significativamente mayores en la región con mayor nivel de luz (Oeste), estuvieron claramente impulsados por la aclimatación local de estos cuatro genes en las tres morfoespecies de *Pocillopora* (*P. cf. damicornis*, *P. cf. capitata* y *P. cf. verrucosa*). Estas respuestas subcelulares, forman parte importante de una respuesta de la simbiosis y tiene implicaciones fundamentales en la protección de Symbiodiniaceae, en la fotosíntesis y posiblemente también en el crecimiento, reproducción y calcificación. Estos tres últimos elementos, podrían tener implicaciones para la tolerancia diferencial de estos corales al estrés fisiológico asociado a los niveles de luz y temperatura que ocasiona el blanqueamiento.

Tabla 6. Síntesis de las respuestas fisiológicas de las tres morfoespecies en el sitio de mayor irradiancia (véase también el capítulo 2).

	<i>P. capitata</i>	<i>P. damicornis</i>	<i>P. verrucosa</i>
Expresión génica			
Anhidrasa carbónica	↑	↑	↑
Cu-ZnSOD	↑	↑	–
GFP-like cp	↑	↑	↑
Hsp70	↑	↑	↑
Síntesis de ARN			
ARN total	↑	↑	↑
Relación ARN/ADN	↑	↑	↑
Relación ARN/prot	↑	↑	↑
Síntesis de proteínas			
Proteínas totales	↑	↑	↑
Relación prot/ADN	↑	↑	↑
MAAs	↑	↓	↓
Pigmentos			
Chl <i>a</i>	↓	↓	↓
Chl <i>c</i>	–	–	↓
Carotenoides totales	↓	–	↓
Xantofilas totales	↓	–	↓
Radio Chl <i>a:c</i>	↓	–	↓
Radio carotenos:Chl <i>a</i>	↓	–	↓
Radio xantofilas:Chl <i>a</i>	↓	–	↓
Symbiodiniaceae			
Densidad celular	↑	↑	↑

Las flechas indican el tipo y característica de la respuesta (flecha gruesa o delgada = significativa o no significativa respectivamente; flecha ascendente o descendente = respuesta relativamente mayor o menor, respectivamente). El guión indica ausencia de respuesta.

Tabla 7. Síntesis de la respuesta autotrófica de las tres morfoespecies en relación con el ciclo diurno en ambos sitios de estudio (véase también el capítulo 3).

	Este				Oeste			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
Pigmentos								
<i>capitata</i>	-	→	↑	↓	-	↑	↓	↓
<i>damicornis</i>	-	→	↑	↓	-	↑	↓	↓
<i>verrucosa</i>	-	→	↑	↓	-	→	↓	→
Symbiodiniaceae								
<i>capitata</i>	-	→	↓	→	-	→	→	↑
<i>damicornis</i>	-	→	↓	→	-	→	↓	→
<i>verrucosa</i>	-	→	↓	↓	-	↑	↓	↓

Horario del ciclo diurno: 08:00, 12:00, 16:00 y 20:00 h (T₀, T₁, T₂, y T₃, respectivamente). Las flechas indican el tipo y característica de la respuesta (flecha gruesa o delgada = significativa o no significativa respectivamente; flecha ascendente o descendente = incremento o disminución respectivamente; flecha horizontal = sin cambio). El guión indica que no hay datos previos disponibles.

4.3 Plasticidad fisiológica

Los resultados sugieren que las tres morfoespecies de *Pocillopora* estudiadas (*P. cf. capitata*, *P. cf. damicornis*, *P. cf. verrucosa*), pueden responder de manera distinta ante la variación ambiental, espacial y temporal en el arrecife Carrizales, a través de la variación específica de rutas de expresión génica, modulación de la simbiosis y actividad

metabólica en la asociación Symbiodiniaceae–*Pocillopora* (Tablas 6 y 7). Anteriormente, Rodríguez-Troncoso et al. (2013), habían sugerido que podrían existir respuestas moleculares distintas entre los corales *Pocillopora* del Pacífico mexicano. Al comparar sus resultados de un experimento de choque térmico, con los resultados de otro experimento similar (Flores-Ramírez y Liñán-Cabello, 2007), los autores determinaron que el aumento en la temperatura produjo un incremento en la actividad de la CuZnSOD en *Pocillopora verrucosa*, mientras que en *P. capitata* los resultados no mostraron un aumento en la actividad de la SOD inducido a l alta temperatura. Los autores señalan que las diferencias entre estos estudios, podrían deberse a que el tiempo de respuesta puede cambiar entre especies e incluso en colonias de una sola especie dentro de la misma región (Yakovleva et al. 2004). No obstante, en el presente estudio la respuesta molecular fue contraria a lo observado por Rodríguez-Troncoso et al. (2013) y Flores-Ramírez y Liñán-Cabello, (2007). Puesto que se presentó un incremento en la expresión de CuZnSOD en *P. cf. capitata*, pero esta respuesta estuvo ausente en *P. cf. verrucosa*. Esto sugiere que las distintas respuesta entre corales y/o colonias pueden variar además entre los factores de estrés (irradiancia y temperatura), así como debido a su fluctuación espacio-temporal (Liñán-Cabello et al., 2010a, 2010b).

La plasticidad fenotípica se refiere al proceso de aclimatación ambiental mediante el ajuste de la fisiología de los organismos a lo largo de su vida, lo que les permite hacer frente a diferentes entornos (Hoffmann y Todgham, 2010). Es decir, la plasticidad fenotípica es la capacidad de un genotipo para producir más de un fenotipo (comportamiento, morfología y fisiología), cuando se expone a diferentes entornos. Por ejemplo, diversos estudios apoyan la hipótesis de que la alta variabilidad morfológica en corales es el resultado principal de la plasticidad fenotípica (Shaish et al., 2007; Flot et al.

2011, Pinzón y LaJeunesse 2013; Paz-García et al., 2015b). Sin embargo, Todd (2008), señala que al referirse a la morfología del coral, variación y plasticidad no debe utilizarse indistintamente. Aunque una especie morfológicamente plástica exhibirá usualmente alguna forma de variación, una especie morfológicamente variable no es necesariamente plástica, es decir, la variación puede deberse simplemente a que diferentes colonias tienen diferentes genotipos (Todd, 2008). Mientras que los cambios inducidos por el ambiente son cambios plásticos (Bradshaw, 1965; Pigliucci, 2006).

Ya que los corales ocupan rutinariamente un entorno físicamente heterogéneo, esto puede ser el resultado de su plasticidad (Gates y Edmunds, 1999). La plasticidad permite que múltiples morfologías tengan una adquisición de energía comparable, resaltando la importancia de la plasticidad fenotípica en múltiples escalas biológicas (Hoogenboom et al., 2008). La plasticidad fisiológica podría estar relacionada con el polimorfismo fenotípico, es decir, la capacidad del fenotipo de presentar morfos o formas distintas que ocupan el mismo hábitat al mismo tiempo (Marti-Puig et al., 2014). De acuerdo con Hoogenboom et al. (2008), la variación morfológica es importante en los límites de nicho en los que las condiciones son cada vez más estresantes, mientras que la plasticidad fisiológica es importante en hábitats intermedios y menos predecibles en los que una respuesta rápida y reversible a las fluctuaciones ambientales conlleva beneficios adicionales. Ambos procesos han sido señalados como cruciales para la aclimatación y adaptación a los ambientes marginales (Hennige et al., 2010; Padilla-Gamiño et al., 2012), y el cambio climático (Palumbi et al., 2014; Boyd et al., 2016), por lo que su estudio y comprensión es de vital importancia para el futuro de los corales arrecifales. En el presente estudio, concluimos que la variación de la respuesta fisiológica y molecular en los corales

estrechamente relacionados como *P. cf. capita*, *P. cf. damicornis* y *P. cf. verrucosa*, entre otros (Pinzón y LaJeunesse 2013; Paz-García et al., 2015b; Mayfield et al., 2016), se debe principalmente a su alta plasticidad fisiológica (Sawall et al., 2014, 2015; Ziegler et al., 2014, 2015; Poli et al. 2017), en relación directa con la variabilidad espacial y temporal en el arrecife Carrizales.

4.3 Conclusión general

En la presente investigación se realizó un primer esfuerzo por comprender como la variación espacio-temporal afecta la respuesta fisiológica y molecular de diversos corales *Pocillopora* en el arrecife Carrizales. En resumen, se observó una gran variedad de respuestas moleculares y fisiológicas entre los corales *Pocillopora* ante 1) la variación espacial debido a los microambientes del arrecife, 2) la variación temporal de corto plazo debido a una anomalía térmica de baja temperatura, 3) la variación diurna relacionada con los cambios espacio-temporales de luz/oscuridad y 4) la variación espacio-temporal de las respuestas de acuerdo a cada morfoespecie de *Pocillopora*. Lo anterior sugiere una elevada plasticidad o flexibilidad fisiológica en los corales *Pocillopora* probablemente como un modo de mitigar los efectos de la heterogeneidad en las escalas espaciales y temporales del Pacífico mexicano. Lo anterior requiere ser documentado más ampliamente (p. ej., por estudios de trasplantes), para poder arribar a conclusiones más robustas.

Además, para comprender cómo la variabilidad y heterogeneidad ambiental puede influir significativamente en la sensibilidad de los organismos con una alta plasticidad y flexibilidad será necesaria la investigación en factores múltiples, interacciones a nivel

comunitario y de rápida evolución, es decir, tasas evolutivas relativamente rápidas que pueden mitigar el declive mediado por el cambio climático en las poblaciones (Gonzalez et al., 2013). Se requieren además estudios interdisciplinarios para comprender el efecto de la heterogeneidad ambiental y la plasticidad fenotípica sobre la tolerancia al cambio climático por parte de la vida marina. En su conjunto, la presente investigación y los estudios futuros mejorarán la comprensión actual de la evolución y biodiversidad en *Pocillopora*, encausando los esfuerzos de conservación de este importante grupo de corales, y con ello ofrecer alternativas de manejo que nos permitan una mejor utilización de los sistemas arrecifales en el escenario actual de cambio constante en el océano.

Literatura citada

- Ainsworth TD, Hoegh-Guldberg O, Heron SF, Skirving WJ, Leggat W. 2008. Early cellular changes are indicators of pre-bleaching thermal stress in the coral host. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 364(2): 63-71.
- Al-Sofyani AA, Floos, YA. 2013. Effect of temperature on two reef-building corals *Pocillopora damicornis* and *P. verrucosa* in the Red Sea. *Oceanologia*, 55(4): 917-935.
- Al-Sofyani AA, Marimuthu N, Wilson JJ. 2014. A rapid assessment of Scleractinian and non-Scleractinian coral growth forms along the Saudi Arabian coast, Red Sea. *Journal of Ocean University of China*, 13(2): 243-248.
- Anderson DA, Walz ME, Weil E, Tonellato P, Smith MC. 2016. RNA-Seq of the Caribbean reef-building coral *Orbicella faveolata* (Scleractinia-Merulinidae) under bleaching and disease stress expands models of coral innate immunity. *PeerJ* 4: e1616.
- Anthony KRN, Hoegh-Guldberg O. 2003. Variation in coral photosynthesis, respiration and growth characteristics in contrasting light microhabitats: an analogue to plants in forest gaps and understoreys? *Functional Ecology*, 17(2): 246-259.
- Baird AH, Bhagooli R, Ralph PJ, Takahashi S. 2009. Coral bleaching: the role of the host. *Trends in Ecology and Evolution*, 24(1): 16-20.
- Barshis DJ, Birkeland C, Toonen RJ, Gates RD, Stillman JH. 2018. High-frequency temperature variability mirrors fixed differences in thermal limits of the massive coral *Porites lobata*. *Journal of Experimental Biology*, 221(24): jeb188581.

- Barshis DJ, Ladner JT, Oliver TA, Seneca FO, Traylor-Knowles N, Palumbi SR. 2013. Genomic basis for coral resilience to climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(4): 1387-1392.
- Barshis DJ. 2015. Genomic potential for coral survival of climate change. In *Coral reefs in the Anthropocene*. Springer, Dordrecht. pp. 133-146.
- Bay RA, Palumbi SR. 2017. Transcriptome predictors of coral survival and growth in a highly variable environment. *Ecology and evolution*, 7(13): 4794-4803.
- Bellantuono AJ, Hoegh-Guldberg O, Rodriguez-Lanetty M. 2012. Resistance to thermal stress in corals without changes in symbiont composition. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279: 1100–1107.
- Berkelmans R, van Oppen MJH. 2006. The role of zooxanthellae in the thermal tolerance of corals: a ‘nugget of hope’ for coral reefs in an era of climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 273: 2305–2312.
- Bhattacharya D, Agrawal S, Aranda M, Baumgarten S, Belcaid M, Drake JL, Erwin D, Foret S, Gates RD, Gruber DF, Kamel B, Lesser MP, Levy O, Liew YJ, MacManes M, Mass T, Medina M, Mehr S, Meyer E, Price DC, Putnam HM, Qiu H, Shinzato C, Shoguchi E, Stokes AJ, Tambutté S, Tchernov D, Voolstra CR, Wagner N, Walker CW, Weber APM, Weis V, Zelzion E, Zoccola D, Falkowski PG. 2016. Comparative genomics explains the evolutionary success of reef-forming corals. *eLife*. 5: e13288.
- Bonesso, J. L., Leggat, W., & Ainsworth, T. D. 2017. Exposure to elevated sea-surface temperatures below the bleaching threshold impairs coral recovery and regeneration following injury. *PeerJ*, 5: e3719.

- Boyd PW, Cornwall CE, Davison A, Doney SC, Fourquez M, Hurd CL, Lima ID, McMinn A. 2016. Biological responses to environmental heterogeneity under future ocean conditions. *Global Change Biology*, 22(8): 2633-2650.
- Bradshaw AD. 1965. Evolutionary significance of phenotypic plasticity in plants. In *Advances in genetics*. Vol. 13, Academic Press. pp. 115-155
- Brown BE, Ambarsari I, Warner ME, Fitt WK, Dunne RP, Gibb SW, Cummings DG. 1999a. Diurnal changes in photochemical efficiency and xanthophyll concentrations in shallow water reef corals: evidence for photoinhibition and photoprotection. *Coral Reefs*. 18: 99-105.
- Brown BE, Downs CA, Dunne RP, Gibb SW. 2002. Exploring the basis of thermotolerance in the reef coral *Goniastrea aspera*. *Marine Ecology Progress Series*, 242: 119-129.
- Brown BE, Dunne RP, Ambarsari I, Le Tissier, MDA, Satapoomin U. 1999b. Seasonal fluctuations in environmental factors and variations in symbiotic algae and chlorophyll pigments in four Indo-Pacific coral species. *Marine Ecology Progress Series*, 191:53-69.
- Brown BE. 1997. Coral bleaching: causes and consequences. *Coral Reefs*. 16(5): S129-S138.
- Browne NK, Tay JKL, Low J, Larson O, Todd PA. 2015. Fluctuations in coral health of four common inshore reef corals in response to seasonal and anthropogenic changes in water quality. *Marine Environmental Research*, 105: 39–52.
- Buckley BA, Szmant AM. 2004. RNA/DNA ratios as indicators of metabolic activity in four species of Caribbean reef-building corals. *Marine Ecology Progress Series*, 282:143-149.

- Chang SS, Prezelin BB, Trench RK. 1983. Mechanisms of photoadaptation in three strains of the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum*. *Marine Biology*, 76(3): 219-229.
- Chew SF, Koh CZ, Hiong KC, Choo CY, Wong WP, Neo ML, Ip YK. 2019. Light-enhanced expression of Carbonic Anhydrase 4-like supports shell formation in the fluted giant clam *Tridacna squamosa*. *Gene*, 683: 101-112.
- Chow AM, Beraud E, Tang DW, Ferrier-Pagès C, Brown IR. 2012. Hsp60 protein pattern in coral is altered by environmental changes in light and temperature. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 161(3): 349-353.
- Clausen CD, Roth AA. 1975. Effect of temperature and temperature adaptation on calcification rate in the hermatypic coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*, 33(2): 93-100.
- Coles SL, Bahr KD, Ku'ulei SR, May SL, McGowan AE, Tsang A, McGowan EA, Tsang A, Bumgarner J, Han JH. 2018. Evidence of acclimatization or adaptation in Hawaiian corals to higher ocean temperatures. *PeerJ*, 6: e5347.
- Cooper TF, Gilmour JP, Fabricius KE. 2009. Bioindicators of changes in water quality on coral reefs: review and recommendations for monitoring programmes. *Coral Reefs*. 28(3): 589-606.
- Cortés J, Enochs IC, Sibaja-Cordero J, Hernández L, Alvarado JJ, Breedy O, Cruz-Barraza JA, Esquivel-Garrote O, Fernández-García G, Hermosillo A, Kaiser KL, Medina-Rosas P, Morales-Ramírez A, Pacheco C, Pérez-Matus A, Reyes-Bonilla H, Riosmena-Rodríguez R, Sánchez-Noguera C, Wieters EA, Zapata FA. 2017. Marine biodiversity of Eastern Tropical Pacific coral reefs. In: Glynn P, Manzello D,

- Enochs I, editors. Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8. Dordrecht: Springer; pp. 203-250.
- Davy SK, Allemand D, Weis VM. 2012. The cell biology of cnidarian–dinoflagellate symbiosis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 76: 229–261.
- Delgadillo-Nuño E. 2018. Expresión diferencial de genes de las proteínas fluorescentes y su asociación con indicadores fisiológicos de estrés en *Pocillopora verrucosa* en dos comunidades coralinas. Tesis de Maestría. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada. Ensenada, BC. 100 pp.
- Delgadillo-Nuño MA, Liñán-Cabello MA, Delgadillo-Nuño E, Galindo-Sánchez CE, Carpizo-Ituarte JE. 2020. Gene expression plasticity in *Pocillopora* corals from 2 locations on the Carrizales Reef, Pacific coast of Mexico. *Ciencias Marinas*, 46(2): 89-100.
- Delgadillo-Nuño MA. 2015. Cambios estacionales en expresión génica, metabolismo y simbiosis en el coral escleractinio *Pocillopora verrucosa* asociados a la respuesta de estrés en la costa de Colima, México. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma de Baja California. Ensenada, BC. 89 pp.
- Douglas AE. 2003. Coral bleaching—how and why? *Marine Pollution Bulletin*, 46(4): 385-392.
- Dove SG, Hoegh-Guldberg O, Ranganathan S. 2001. Major colour patterns of reef-building corals are due to a family of GFP-like proteins. *Coral reefs*, 19(3): 197-204.
- Dove SG, Takabayashi M, Hoegh-Guldberg O. 1995. Isolation and partial characterization of the pink and blue pigments of pocilloporid and acroporid corals. *The Biological Bulletin*, 189(3): 288-297.

- Dubinsky Z, Falkowski PG, Porter JW, Muscatine L. 1984. Absorption and utilization of radiant energy by light-and shade-adapted colonies of the hermatypic coral *Stylophora pistillata*. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences, 222(1227): 203-214.
- Dubinsky Z, Jokiel PL. 1994. Ratio of energy and nutrient fluxes regulates symbiosis between zooxanthellae and corals. Pacific Science, 48: 313–324.
- Dunne R, Brown B. 2001. The influence of solar radiation on bleaching of shallow water reef corals in the Andaman Sea, 1993–1998. Coral Reefs, 20: 201–210.
- Fabricius KE. 2005. Effects of terrestrial runoff on the ecology of corals and coral reefs: review and synthesis. Marine Pollution Bulletin, 50: 125–146.
- Fabricius KE. 2006. Effects of irradiance, flow, and colony pigmentation on the temperature microenvironment around corals: implications for coral bleaching? Limnology and oceanography, 51(1): 30-37.
- Fagoonee I, Wilson HB, Hassell MP, Turner JR. 1999. The dynamics of zooxanthellae populations: a long-term study in the field. Science, 283: 843–845.
- Falkowski PG, Dubinsky Z, Muscatine L, Porter JW. 1984. Light and the bioenergetics of a symbiotic coral. Bioscience, 34(11): 705-709.
- Falkowski PG, Dubinsky Z. 1981. Light-shade adaptation of *Stylophora pistillata*, a hermatypic coral from the Gulf of Eilat. Nature, 289(5794): 172-174.
- Ferrier-Pages C, Richard C, Forcioli D, Allemand D, Pichon M, Shick JM. 2007. Effects of temperature and UV radiation increases on the photosynthetic efficiency in four scleractinian coral species. The Biological Bulletin, 213(1): 76-87.

- Fiedler PC, Lavín MF. 2017. Oceanographic conditions of the eastern tropical Pacific In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8. Dordrecht: Springer; pp. 59-83.
- Fitt WK, Brown BE, Warner ME, Dunne RP. 2001. Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals. *Coral reefs*, 20(1): 51-65.
- Fitt WK, Gates RD, Hoegh-Guldberg O, Bythell JC, Jatkar A, Grottoli AG, Gomez M, Fisher P, Lajuenesse TC, Pantos O, Iglesias-Prieto R, Franklin DJ, Rodrigues LJ, Torregiani JM, van Woesik R, Lesser MP. 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.
- Fitt WK, McFarland FK, Warner ME, Chilcoat GC. 2000. Seasonal patterns of tissue biomass and densities of symbiotic dinoflagellates in reef corals and relation to coral bleaching. *Limnology and oceanography*, 45(3): 677-685.
- Flores-Ramírez LA, Liñán-Cabello MA. 2007. Relationships among thermal stress, bleaching and oxidative damage in the hermatypic coral, *Pocillopora capitata*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146(1):194-202.
- Flot JF, Blanchot J, Charpy L, Cruaud C, Licuanan WY, Nakano Y, Payri C, Tillier S. 2011. Incongruence between morphotypes and genetically delimited species in the coral genus *Stylophora*: phenotypic plasticity, morphological convergence, morphological stasis or interspecific hybridization? *BMC ecology*, 11(1): 22.

- Franzellitti S, Airi V, Calbucci D, Caroselli E, Prada F, Voolstra CR, Mass Falini G, Fabbri E, Goffredo S. 2018. Transcriptional response of the heat shock gene hsp70 aligns with differences in stress susceptibility of shallow-water corals from the Mediterranean Marine Environmental Research, 140: 444-454.
- Gates RD, Edmunds PJ. 1999. The physiological mechanisms of acclimatization in tropical reef corals. *American Zoologist*, 39(1): 30-43.
- Glynn PW, Alvarado JJ, Banks S, Cortés J, Feingold JS, Jiménez C, Maragos JE, Martínez P, Maté JL, Moanga DA, Navarrete S, Reyes-Bonilla H, Riegl B, Rivera F, Vargas-Ángel B, Wieters EA, Zapata FA. 2017a. Eastern Pacific coral reef provinces, coral community structure and composition: an overview. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World*, vol 8. Dordrecht: Springer; p. 107-176.
- Glynn PW, Maté JL, Baker AC, Calderón MO. 2001. Coral bleaching and mortality in Panama and Ecuador during the 1997–1998 El Niño–Southern Oscillation event: spatial/temporal patterns and comparisons with the 1982–1983 event. *Bulletin of Marine Science*, 69(1): 79-109.
- Glynn PW, Mones AB, Podestá GP, Colbert A, Colgan MW. 2017b. El Niño-Southern Oscillation: effects on Eastern Pacific coral reefs and associated biota. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World*, vol 8. Dordrecht: Springer; pp. 251-290.
- Gonzalez A, Ronce O, Ferriere R, Hochberg ME. 2013. Evolutionary rescue: an emerging focus at the intersection between ecology and evolution.
- Goreau TF. 1990. Coral bleaching in Jamaica. *Nature*, 343: 417.

- Grasshoff K, Kremling K, Ehrhardt M. 1999. *Methods of Seawater Analysis*, third edition. Germany: Wiley-VCH; p. 65-70.
- Guest JR, Baird AH, Maynard JA, Muttaqin E, Edwards AJ, Campbell SJ, Yewdall K, Affendi YA, Chou LM. 2012. Contrasting patterns of coral bleaching susceptibility in 2010 suggest an adaptive response to thermal stress. *PLoS One* 7: e33353
- Harithsa S, Raghukumar C, Dalal SG. 2005. Stress response of two coral species in the Kavaratti atoll of the Lakshadweep Archipelago, India. *Coral Reefs*, 24(3): 463-474.
- Hartl FU, Bracher A, Hayer-Hartl M. 2011. Molecular chaperones in protein folding and proteostasis. *Nature*, 475(7653):324.
- Hauri C, Fabricius KE, Schaffelke B, Humphrey C. 2010. Chemical and physical environmental conditions underneath mat-and canopy-forming macroalgae, and their effects on understorey corals. *PLoS One*, 5(9):e12685.
- Hawkins TD, Krueger T, Wilkinson, SP, Fisher PL, Davy SK. 2015. Antioxidant responses to heat and light stress differ with habitat in a common reef coral. *Coral Reefs*, 34: 1229–1241.
- Hédouin L, Berteaux-Lecellier V. 2014. Traditional vs new approaches for assessing coral health: a global overview and the paradigm of French polynesia. *Journal of Marine Science and Technology*, 22(1): 25-35.
- Hennige SJ, Smith DJ, Walsh SJ, McGinley MP, Warner ME, Suggett DJ 2010. Acclimation and adaptation of scleractinian coral communities along environmental gradients within an Indonesian reef system. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 391(1): 143-152.

- Hernández L, Reyes-Bonilla H, Balart EF. 2010. Efecto del blanqueamiento del coral por baja temperatura en los crustáceos decápodos asociados a arrecifes del suroeste del golfo de California. *Revista mexicana de biodiversidad*, 81: 113-119.
- Hinrichs S, Patten NL, Allcock RJN, Saunders SM, Strickland D, Waite AM. 2013. Seasonal variations in energy levels and metabolic processes of two dominant *Acropora* species (*A. spicifera* and *A. digitifera*) at Ningaloo Reef. *Coral Reefs*, 32(3): 623-635.
- Hoegh-Guldberg O, Fine M, Skirving W, Johnstone R, Dove S, Strong A. 2005. Coral bleaching following wintry weather. *Limnology and Oceanography*, 50(1): 265-271.
- Hoegh-Guldberg O, Poloczanska ES, Skirving W, Dove S. 2017. Coral reef ecosystems under climate change and ocean acidification. *Frontiers in Marine Science*, 4: 158.
- Hoegh-Guldberg O, Smith GJ. 1989. The effect of sudden changes in temperature, light and salinity on the population density and export of zooxanthellae from the reef corals *Stylophora pistillata* and *Seriatopora hystrix* Dana. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 129: 279–304.
- Hoegh-Guldberg O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and freshwater research*, 50(8): 839-866.
- Hoegh-Guldberg, O. 1999. Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs. *Marine and Freshwater Research*, 50(8): 839-866.
- Hoegh-Guldberg, O., Mumby PJ, Hooten AJ, Steneck RS, Greenfield P, Gomez E, Harvell CD, Sale PF, Edwards AJ, Caldeira K, Knowlton N, Eakin CM, Iglesias-Prieto R, Muthiga N, Bradbury RH, Dubi A, Hatziolos ME. 2007. Coral reefs under rapid climate change and ocean acidification. *Science*, 318(5857): 1737-1742.

- Hoffmann GE, Todgham AE. 2010. Living in the now: physiological mechanisms of response to climate change. *Annual Reviews in Physiology*, 72: 127-145.
- Hoogenboom MO, Connolly SR, Anthony KR. 2008. Interactions between morphological and physiological plasticity optimize energy acquisition in corals. *Ecology*, 89(4): 1144-1154.
- Hughes L. 2000. Biological consequences of global warming: is the signal already apparent? *Trends in Ecology & Evolution*, 15: 56-61.
- Hughes TP, Barnes ML, Bellwood DR, Cinner JE, Cumming GS, Jackson JB, Kleypas J, Leemput IA, Lough JM, Morrison TH, Palumbi SR, van Nes EH, Scheffer M. 2017a. Coral reefs in the Anthropocene. *Nature*, 546(7656): 82.
- Hughes TP, Kerry JT, Álvarez-Noriega M, Álvarez-Romero JG, Anderson KD, Baird AH, Babcock RC, Beger M, Bellwood DR, Berkelmans R, Bridge TC, Butler IR, Byrne M, Cantin NE, Comeau S, Connolly SR, Cumming GS, Dalton SJ, Diaz-Pulido G, Eakin CM, Figueira WF, Gilmour JP, Harrison HB, Heron SF, Hoey AS, JA Hobbs, Hoogenboom OM, Kennedy EV, Kuo CY, Lough JM, Lowe RJ, Liu G, McCulloch MT, Malcolm HA, McWilliam MJ, Pandolfi JM, Pears RJ, Pratchett MS, Schoepf V, Simpson T, Skirving WJ, Sommer B, Torda G, Wachenfeld DR, Willis BL, Wilson SK. 2017b. Global warming and recurrent mass bleaching of corals. *Nature*, 543(7645): 373-377.
- Hume BC, Voolstra CR, Arif C, D'Angelo C, Burt JA, Eyal G, Loya Y, Wiedenmann J. 2016. Ancestral genetic diversity associated with the rapid spread of stress-tolerant coral symbionts in response to Holocene climate change. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 113(16): 4416-4421.

- Iglesias-Prieto R, Matta JL, Robins WA, Trench RK. 1992. Photosynthetic response to elevated temperature in the symbiotic dinoflagellate *Symbiodinium microadriaticum* in culture. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 89: 10302–10305.
- Jackson JB. 2010. The future of the oceans past. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365(1558): 3765-3778.
- Jeffrey ST, Humphrey GF. 1975. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c 1 and c 2 in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167(2):191-194.
- Jiang L, Guo ML, Zhang F, Zhang YY, Zhou GW, Lei XM, Yuan XC, Sun YF, Yuan T, Cai L, Lian JS, Liu S, Qian PY, Huang H. 2020. Impacts of elevated temperature and $p\text{CO}_2$ on the brooded larvae of *Pocillopora damicornis* from Luhuitou Reef, China: evidence for local acclimatization. *Coral Reefs*, 39(2): 331-344.
- Jones RJ, Hoegh-Guldberg O, Larkum AWD, Schreiber U. 1998. Temperature-induced bleaching of corals begins with impairment of the CO_2 fixation mechanism in zooxanthellae. *Plant, Cell, and Environment*, 21: 1219–1230.
- Jones RJ, Hoegh-Guldberg O. 2001. Diurnal changes in the photochemical efficiency of the symbiotic dinoflagellates (Dinophyceae) of corals: photoprotection, photoinactivation and the relationship to coral bleaching. *Plant, Cell & Environment*, 24(1), 89-99.
- Kenkel CD, Goodbody-Gringley G, Caillaud D, Davies SW, Bartels E, Matz MV. 2013. Evidence for a host role in thermotolerance divergence between populations of the mustard hill coral (*Porites astreoides*) from different reef environments. *Molecular Ecology*, 22: 4335–4348.

- Keshavmurthy S, Beals M, Hsieh HJ, Choi KS, Chen CA. 2020. Physiological plasticity of corals to temperature stress in marginal coral communities. *Science of The Total Environment*, 758: 143628.
- Ketchum JT, Reyes-Bonilla H. 2001. Taxonomy and distribution of the hermatypic corals (Scleractinia) of the Revillagigedo Archipelago, Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 49(3-4): 803-848.
- Kinsey DW, Davies PJ. 1979. Effects of elevated nitrogen and phosphorus on coral reef growth 1. *Limnology and oceanography*, 24(5): 935-940.
- Kleypas JA. (2019). Climate change and tropical marine ecosystems: A review with an emphasis on coral reefs. *Cuadernos de Investigación UNED*, 11(1): 24-35.
- LaJeunesse TC, Bonilla HR, Warner ME, Wills M, Schmidt GW, Fitt WK. 2008. Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral-algal symbioses. *Limnology and Oceanography*, 53(2): 719-727.
- LaJeunesse TC, Reyes-Bonilla H, Warner ME. 2007. Spring “bleaching” among *Pocillopora* in the Sea of Cortez, eastern Pacific. *Coral Reefs*, 26(2): 265-270.
- LaJeunesse TC, Smith R, Walther M, Pinzón J, Pettay DT, McGinley M, Aschaffenburg M, Medina-Rosas P, Cupul-Magaña AL, López-Pérez A, Reyes-Bonilla Hector, Warner ME 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.
- 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.

- Lesser MP, Farrell JH. 2004. Exposure to solar radiation increases damage to both host tissues and algal symbionts of corals during thermal stress. *Coral Reefs*, 23: 367–377.
- Lesser MP, Gorbunov MY. 2001. Diurnal and bathymetric changes in chlorophyll fluorescence yields of reef corals measured in situ with a fast repetition rate fluorometer. *Marine Ecology Progress Series*, 212: 69–77.
- Lesser MP, Shick JM. 1989. Photoadaptation and defenses against oxygen toxicity in zooxanthellae from natural populations of symbiotic cnidarians. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 134: 129–141.
- Lesser MP, Slattery M, Stat M, Ojimi M, Gates RD, Grottoli A. 2010. Photoacclimatization by the coral *Montastraea cavernosa* in the mesophotic zone: light, food, and genetics. *Ecology*, 91(4), 990-1003.
- Lesser MP, Stochaj WR, Tapley DW, Shick JM. 1990. Bleaching in coral reef anthozoans: effects of irradiance, ultraviolet radiation, and temperature on the activities of protective enzymes against active oxygen. *Coral Reefs*, 8: 225–232.
- Lesser MP. 2006. Benthic–pelagic coupling on coral reefs: feeding and growth of Caribbean sponges. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 328(2): 277-288.
- Lesser MP. 2011. Coral bleaching: causes and mechanisms. In *Coral reefs: an ecosystem in transition*. Springer, Dordrecht. pp. 405-419.
- Levin RA, Beltran VH, Hill R, Kjelleberg S, McDougald D, Steinberg PD, Van Oppen MJ. 2016. Sex, scavengers, and chaperones: transcriptome secrets of divergent *Symbiodinium* thermal tolerances. *Molecular Biology and Evolution*, 33(9), 2201-2215.

- Liñán-Cabello MA, Flores-Ramírez L, Zacarías-Salinas JS, Hernández-Rovelo O, Lezama-Cervantes C. 2006. Correlation of chlorophyll a and total carotenoid concentrations with coral bleaching from locations on the Pacific coast of Mexico. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 39(4): 279-291.
- Liñán-Cabello MA, Flores-Ramírez L, Zenteno-Savin T, Olguín-Monroy NO, Sosa-Avalos R, Patiño-Barragan M, Olivos-Ortiz A. 2010a. Seasonal changes of antioxidant and oxidative parameters in the coral *Pocillopora capitata* on the Pacific coast of Mexico. *Marine Ecology*, 31(3): 407-417.
- Liñán-Cabello MA, Flores-Ramírez LA, Cobo-Díaz JF, Zenteno-Savin T, Olguín-Monroy NO, Olivos-Ortiz A, Tintos-Gómez, A. (2010b). Response to short term ultraviolet stress in the reef-building coral *Pocillopora capitata* (Anthozoa: Scleractinia). *Revista de Biología Tropical*, 58(1): 103-118.
- Loch K, Loch W, Schuhmacher H, See WR. 2002. Coral recruitment and regeneration on a Maldivian reef 21 months after the coral bleaching event of 1998. *Marine Ecology*. 23: 219–236.
- Louis YD, Bhagooli R, Seveso D, Maggioni D, Galli P, Vai M, Dyall SD. 2020. Local acclimatisation-driven differential gene and protein expression patterns of Hsp70 in *Acropora muricata*: Implications for coral tolerance to bleaching. *Molecular Ecology*, 29(22): 4382-4394.
- Loya Y, Sakai K, Yamazato K, Nakano Y, Sambali H, van Woesik R. 2001. Coral bleaching: the winners and the losers. *Ecology Letters*, 4: 122–131.
- Lyndby NH, Kühl M, Wangpraseurt D. 2016. Heat generation and light scattering of green fluorescent protein-like pigments in coral tissue. *Scientific Reports*, 6(1): 1-14.

- Manzello D, Eakin CM, Glynn PW. 2017. Effects of Global Warming and Ocean Acidification on Carbonate Budgets of Eastern Pacific Coral Reefs. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8. Dordrecht: Springer; p. 517-533.
- Maor-Landaw KK, Karako-Lampert S, Ben-Asher HW, 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.
- Marti-Puig P, Forsman ZH, Haverkort-Yeh RD, Knapp IS, Maragos JE, Toonen RJ. 2014. Extreme phenotypic polymorphism in the coral genus Pocillopora; micro-morphology corresponds to mitochondrial groups, while colony morphology does not. *Bulletin of Marine Science*, 90(1): 211-231.
- Marubini F, Atkinson MJ. 1999. Effects of lowered pH and elevated nitrate on coral calcification. *Marine Ecology Progress Series*, 188: 117-121.
- Marubini F, Davies PS. 1996. Nitrate increases zooxanthellae population density and reduces skeletogenesis in corals. *Marine Biology*, 127(2): 319-328.
- Marubini F, Thake B. 1999. Bicarbonate addition promotes coral growth. *Limnology and Oceanography*, 44(3): 716-720.
- Mayfield AB, Chen CS, Dempsey AC, Bruckner AW. 2016. The molecular ecophysiology of closely related pocilloporids from the South Pacific: a case study from the Austral and Cook Islands. *Platax* 13:1-25.
- Mayfield AB, Fan TY, Chen CS. 2013. Physiological acclimation to elevated temperature in a reef-building coral from an upwelling environment. *Coral Reefs*, 32(4): 909-921.

- Mayfield AB, Hsiao Y, Fan T, Chen C. 2012. Temporal variation in nucleic acid and protein ratios in four anthozoan-dinoflagellate endosymbioses of the Indo-Pacific: implications for molecular diagnostics. *Platax*, 9: 1-24.
- McClanahan TR, Maina J 2003. Response of coral assemblages to the interaction between natural temperature variation and rare warm-water events. *Ecosystems*, 6: 551-563.
- McGinley MP, Aschaffenburg MD, Pettay DT, Smith RT, LaJeunesse TC, Warner ME 2012. *Symbiodinium* spp. in colonies of eastern Pacific *Pocillopora* spp. are highly stable despite the prevalence of low-abundance background populations. *Marine Ecology Progress Series*, 462: 1-7.
- Meesters EH, Nieuwland G, Duineveld GCA, Kok A, Bak RPM. 2002. RNA/DNA ratios of scleractinian corals suggest acclimatisation/adaptation in relation to light gradients and turbidity regimes. *Marine Ecology Progress Series*, 227: 233-239.
- Morikawa MK, Palumbi SR. 2019. Using naturally occurring climate resilient corals to construct bleaching-resistant nurseries. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 116(21): 10586-10591.
- Muñiz-Anguiano D, Verduzco-Zapata M, Liñán-Cabello MA. 2017. Factores asociados a la respuesta de *Pocillopora* spp. (Anthozoa: Scleractinia) durante un proceso de restauración en la costa del Pacífico mexicano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía*, 52(2): 299-310.
- Muscatine L, Falkowski PG, Dubinsky Z, Cook PA, McCloskey LR. 1989. The effect of external nutrient resources on the population dynamics of zooxanthellae in a reef coral. *Proceedings of the Royal Society of London. B. Biological Sciences*, 236(1284): 311-324.

- Muscatine L, Falkowski PG, Porter JW, Dubinsky Z. 1984. Fate of photosynthetic fixed carbon in light-and shade-adapted colonies of the symbiotic coral *Stylophora pistillata*. Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences, 222(1227): 181-202.
- Muscatine L, Hand C. 1958. Direct evidence for the transfer of materials from symbiotic algae to the tissues of a coelenterate. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 44: 1259–1263.
- Mydlarz LD, Fuess L, Mann W, Pinzón JH, Gochfeld DJ. 2016. Cnidarian immunity: from genomes to phenomes. In *The Cnidaria, Past, Present and Future*, Springer, Cham. pp. 441-466.
- Ortiz AO, Scheggia SIQ, Uribe GG, Pérez MAG, Rodríguez JHG. 2005. Distribución de los principales grupos fitoplanctónicos en las costas del estado de Colima durante el 2002. *Ciencia en la Frontera*, 13.
- Padilla-Gamiño JL, Hanson KM, Stat M, Gates RD. 2012. Phenotypic plasticity of the coral *Porites rus*: acclimatization responses to a turbid environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 434: 71-80.
- Palumbi SR, Barshis DJ, Traylor-Knowles N, Bay RA. 2014. Mechanisms of reef coral resistance to future climate change. *Science*, 344(6186): 895-898.
- Paz-García DA, Aldana-Moreno A, Cabral-Tena RA, García-De-León FJ, Hellberg ME, Balart EF. 2015a. Morphological variation and different branch modularity across contrasting flow conditions in dominant *Pocillopora* reef-building corals. *Oecologia*, 178: 207–218.

- Paz-García DA, Balart EF, García-de-Léon FJ. 2012. Cold water bleaching of *Pocillopora* in the Gulf of California. In Proceedings of 12th International Coral Reef Symposium, vol 9. p. 10.
- Paz-García DA, Hellberg ME, García-de-León, FJ, Balart EF. 2015b. Switch between morphospecies of *Pocillopora* corals. *The American Naturalist*, 186(3): 434-440.
- Pigliucci M. 2006. Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *Journal of Experimental Biology*, 209: 2362–2367.
- Piniak GA, Brown EK. 2009. Temporal variability in chlorophyll fluorescence of back-reef corals in Ofu, American Samoa. *Biological Bulletin*, 216: 55–67.
- Pinzón JH, 2017. Insights from the Application of Genetics on *Pocillopora*-Symbiodinium Associations in the Eastern Tropical Pacific. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World*, vol 8. Dordrecht: Springer; p. 421-433.
- Pinzón JH, LaJeunesse TC. 2011. Species delimitation of common reef corals in the genus *Pocillopora* using nucleotide sequence phylogenies, population genetics and symbiosis ecology. *Molecular Ecology* 20(2): 311-325.
- Pinzón JH, Sampayo E, Cox E, Chauka LJ, Chen CA, Woolstra CR, LaJeunesse TC. 2013. Blind to morphology: genetics identifies several widespread ecologically common species and few endemics among Indo-Pacific cauliflower corals (*Pocillopora*, Scleractinia). *Journal of Biogeography*, 40(8): 1595-1608.
- Poli D, Fabbri E, Goffredo S, Airi V, Franzellitti S. 2017. Physiological plasticity related to zonation affects hsp70 expression in the reef-building coral *Pocillopora verrucosa*. *PloS One*, 12(2): e0171456.

- Porter JW, Muscatine L, Dubinsky Z, Falkowski PG. 1984. Primary production and photoadaptation in light and shade adapted colonies of the symbiotic coral *Stylophora pistillata*. Proceedings of the Royal Society of London, 22: 161–180.
- Pörtner HO, Farrell AP. 2008. Physiology and climate change. Science, 322(5902): 690-692.
- Putnam HM, Gates RD. 2015. Preconditioning in the reef-building coral *Pocillopora damicornis* and the potential for trans-generational acclimatization in coral larvae under future climate change conditions. Journal of Experimental Biology 218(15): 2365-2372.
- Putnam HM, Mayfield AB, Fan TY, Chen CS, Gates RD. 2013. The physiological and molecular responses of larvae from the reef-building coral *Pocillopora damicornis* exposed to near-future increases in temperature and $p\text{CO}_2$. Marine Biology, 160(8): 2157-2173.
- Putnam HM, Stat M, Pochon X, Gates RD. 2012. Endosymbiotic flexibility associates with environmental sensitivity in scleractinian corals. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 279: 4352–4361.
- Quick C, D'Angelo C, Wiedenmann J. 2018. Trade-offs associated with photoprotective green fluorescent protein expression as potential drivers of balancing selection for color polymorphism in reef corals. Frontiers in Marine Science, 5: 11.
- Quijano-Scheggia S, Olivos-Ortiz A, Bustillos-Guzmán JJ, Garcés E, Gaviño-Rodríguez JH, Galicia-Pérez MA, Patiño-Barragan M, Band-Schmidt CJ, Hernández-Sandoval FJ, López-Cortés DJ. 2012. Bloom of *Gymnodinium catenatum* in Bahía Santiago and Bahía Manzanillo, Colima, Mexico. Revista de Biología Tropical, 60(1), 173-186.

- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.R-project.org/>
- Randall CJ, Toth LT, Leichter JJ, Maté JL, Aronson RB. 2020. Upwelling buffers climate change impacts on coral reefs of the eastern tropical Pacific. *Ecology*, 101(2): e02918.
- Redmar Coastal and Meteorological Database. 2017. Manzanillo (MEX): Centro de Investigación y Estudios Superiores de Ensenada en colaboración con la Secretaría de Marina. [updated 2019 Jan 25; accessed 2017 Dec 30] <http://redmar.cicese.mx/emmc/DATA/MNZN/MIN/>
- Reyes-Bonilla H, Escobosa-González LE, Cupul-Magaña AL, Medina-Rosas P, Calderón-Aguilera LE. 2013. [Community structure of zooxanthellate corals (Anthozoa: Scleractinia) in Carrizales coral reef, Pacific coast, Mexico]. *Revista de Biología Tropical*, 61(2): 583-594.
- Rodolfo-Metalpa R, Hoogenboom MO, Rottier C, Ramos-Esplá A, Baker AC, Fine M, Ferrier-Pagès C. 2014. Thermally tolerant corals have limited capacity to acclimatize to future warming. *Global Change Biology*, 20(10): 3036-3049.
- Rodrigues LJ, Grottoli AG. 2007. Energy reserves and metabolism as indicators of coral recovery from bleaching. *Limnology and Oceanography*, 52(5): 1874-1882.
- Rodríguez-Troncoso AP, Carpizo-Ituarte E, Cupul-Magaña A. 2013. Oxidative damage associated with thermal stress in *Pocillopora verrucosa* from the Mexican Pacific. *Ciencias Marinas*, 39(1): 113-118.
- Rodríguez-Troncoso AP, Carpizo-Ituarte E, Cupul-Magaña AL. 2010. Differential response to cold and warm water conditions in *Pocillopora* colonies from the Central

- Mexican Pacific. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 391(1): 57-64.
- Rodríguez-Troncoso AP, Carpizo-Ituarte E, Pettay DT, Warner ME, Cupul-Magaña AL. 2014. The effects of an abnormal decrease in temperature on the Eastern Pacific reef-building coral *Pocillopora verrucosa*. *Marine biology*, 161(1): 131-139.
- Rosic N, Kaniewska P, Chan CKK, Ling EYS, Edwards D, Dove S, Hoegh-Guldberg O. 2014. Early transcriptional changes in the reef-building coral *Acropora aspera* in response to thermal and nutrient stress. *BMC Genomics*, 15(1): 1052.
- Roth MS, Deheyn DD. 2013. Effects of cold stress and heat stress on coral fluorescence in reef-building corals. *Scientific Reports*, 3(1): 1-8.
- Roth MS, Goericke R, Deheyn DD. 2012. Cold induces acute stress but heat is ultimately more deleterious for the reef-building coral *Acropora yongei*. *Scientific Reports*, 2(1): 1-5.
- Roth MS, Latz MI, Goericke R, Deheyn DD. 2010. Green fluorescent protein regulation in the coral *Acropora yongei* during photoacclimation. *Journal of Experimental Biology*, 213(21): 3644-3655.
- Rowan R, Knowlton N, Baker A, Jara J. 1997. Landscape ecology of algal symbionts creates variation in episodes of coral bleaching. *Nature*, 388(6639): 265-269.
- Sawall Y, Al-Sofyani A, Banguera-Hinestroza E, Voolstra CR. 2014. Spatio-temporal analyses of *Symbiodinium* physiology of the coral *Pocillopora verrucosa* along large-scale nutrient and temperature gradients in the Red Sea. *PloS One*. 9(8): e103179.
- Sawall Y, Al-Sofyani A, Hohn S, Banguera-Hinestroza E, Voolstra CR, Wahl M. 2015. Extensive phenotypic plasticity of a Red Sea coral over a strong latitudinal

- temperature gradient suggests limited acclimatization potential to warming. *Scientific Reports* 5: 8940.
- Saxby T, Dennison WC, Hoegh-Guldberg O. 2003. Photosynthetic responses of the coral *Montipora digitata* to cold temperature stress. *Marine Ecology Progress Series*, 248: 85-97.
- Schmidt-Roach S, Miller KJ, Lundgren P, Andreakis N. 2014. With eyes wide open: a revision of species within and closely related to the *Pocillopora damicornis* species complex (Scleractinia; Pocilloporidae) using morphology and genetics. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 170(1): 1-33.
- Schmittgen TD, Livak KJ. 2008. Analyzing real-time PCR data by the comparative C T method. *Nature Protocols*, 3(6): 1101.
- Seveso D, Montano S, Maggioni D, Pedretti F, Orlandi I, Galli P, Vai M. 2018. Diel modulation of Hsp70 and Hsp60 in corals living in a shallow reef. *Coral Reefs*, 37(3): 801-806.
- Seveso D, Montano S, Strona G, Orlandi I, Galli P, Vai M. 2016. Hsp60 expression profiles in the reef-building coral *Seriatopora caliendrum* subjected to heat and cold shock regimes. *Marine Environmental Research*, 119: 1-11.
- Shaish L, Abelson A, Rinkevich B. 2007. How plastic can phenotypic plasticity be? The branching coral *Stylophora pistillata* as a model system. *PloS one*, 2(7): e644.
- Sheppard C. 2003. Predicted recurrences of mass coral mortality in the Indian Ocean. *Nature*, 425(6955): 294-297.
- Silverstein RN, Cunning R, Baker AC. 2014. Change in algal symbiont communities after bleaching, not prior heat exposure, increases heat tolerance of reef corals. *Global Change Biology*, 21: 236–249.

- Smith DJ, Suggett DJ, Baker NR. 2005. Is photoinhibition of zooxanthellae photosynthesis the primary cause of thermal bleaching in corals?. *Global Change Biology*, 11(1): 1-11.
- Smith EG, D'angelo C, Sharon Y, Tchernov D, Wiedenmann J. 2017. Acclimatization of symbiotic corals to mesophotic light environments through wavelength transformation by fluorescent protein pigments. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 284(1858): 20170320.
- Smith EG, D'Angelo, C, Salih A, Wiedenmann J. 2013. Screening by coral green fluorescent protein (GFP)-like chromoproteins supports a role in photoprotection of zooxanthellae. *Coral Reefs*, 32(2): 463-474.
- Snidvongs A, Kinzie RA. 1994. Effects of nitrogen and phosphorus enrichment on in vivo symbiotic zooxanthellae of *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*, 118(4): 705-711.
- Stambler N., Dubinsky Z. 2005. Corals as light collectors: an integrating sphere approach. *Coral Reefs*, 24: 1–9.
- Stimson J, Sakai K, Sembali H. 2002. Interspecific comparison of the symbiotic relationship in corals with high and low rates of bleaching-induced mortality. *Coral Reefs* 21: 409–421.
- Strickland JDH, Parsons TR. 1972. Determination of reactive silicate, In: Strickland, JDH, editor. *A Practical Handbook of Seawater Analysis*, vol. 167. Canada: Fishery Research Bulletin, Bd: p. 65-70.
- Takabayashi M, Hoegh-Guldberg O. (1995). Ecological and physiological differences between two colour morphs of the coral *Pocillopora damicornis*. *Marine Biology*, 123(4), 705-714.

- Todd PA. 2008. Morphological plasticity in scleractinian corals. *Biological Reviews*, 83(3): 315–337
- Toth LT, Macintyre IG, Aronson RB. 2017. Holocene reef development in the eastern tropical Pacific. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific*. *Coral Reefs of the World*, vol 8. Dordrecht: Springer; pp. 177-201.
- Traylor-Knowles N, Palumbi SR. 2014. Translational environmental biology: cell biology informing conservation. *Trends in cell biology*, 24(5): 265-267.
- Vernon LP. 1960. Spectrophotometric determination of chlorophylls and pheophytins in plant extracts. *Analytical Chemistry*, 32(9): 1144-1150.
- Veron JEN. 2000. *Corals of the world*, vol 11. Townsville, AU. Australian Institute of Marine Science.
- Veron, JEN. 2002. *New species described in Corals of the World*, vol 11. Townsville AU. Australian Institute of Marine Science.
- Vidal-Dupiol J, Adjeroud M, Roger E, Foure L, Duval D, Mone Y, Ferrier-Pages C, Tambutte E, Tambutte S, Zoccola D, Alemanda D, Mitta G. 2009. Coral bleaching under thermal stress: putative involvement of host/symbiont recognition mechanisms. *BMC physiology*, 9(1): 1-16.
- Walther-Mendoza M, Reyes-Bonilla H, LaJeunesse TC, López-Pérez A. 2016. Distribución y diversidad de dinoflagelados simbióticos en corales pétreos de la costa de Oaxaca, Pacífico de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87(2), 417-426.
- Wang C, Deser C, Yu JY, DiNezio P, Clement A. 2017. El Niño and southern oscillation (ENSO): a review. In: Glynn P, Manzello D, Enochs I, editors. *Coral Reefs of the*

- Eastern Tropical Pacific. Coral Reefs of the World, vol 8. Dordrecht: Springer; pp. 85-106.
- Warner M, Chilcoat G, McFarland F, Fitt W. 2002. Seasonal fluctuations in the photosynthetic capacity of photosystem II in symbiotic dinoflagellates in the Caribbean reef-building coral *Montastraea*. *Marine Biology*, 141: 31–38.
- Warner ME, Fitt WK, Schmidt GW. 1999. Damage to photosystem II in symbiotic dinoflagellates: a determinant of coral bleaching. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 96: 8007–8012.
- Weis VM. 2008. Cellular mechanisms of Cnidarian bleaching: stress causes the collapse of symbiosis. *Journal of Experimental Biology*, 211(19): 3059-3066.
- Wellington GM, Glynn PW. 1983. Environmental influences on skeletal banding in eastern Pacific (Panama) corals. *Coral reefs*, 1(4): 215-222.
- Xu L, Yu K, Li S, Liu G, Tao S, Shi Q, Chen T, Zhang H. 2017. Interseasonal and interspecies diversities of *Symbiodinium* density and effective photochemical efficiency in five dominant reef coral species from Luhuitou fringing reef, northern South China Sea. *Coral Reefs*, 36: 477–487.
- Zamoum T, Furla P. 2012. Symbiodinium isolation by NaOH treatment. *Journal of Experimental Biology*, 215(22): 3875-3880.
- Zhang Y, Zhou Z, Wang L, Huang B. 2018. Transcriptome, expression, and activity analyses reveal a vital heat shock protein 70 in the stress response of stony coral *Pocillopora damicornis*. *Cell Stress Chaperon*, 23: 711.
- Ziegler M, Roder C, Büchel C, Voolstra CR. 2015. Niche acclimatization in Red Sea corals is dependent on flexibility of host-symbiont association. *Marine Ecology Progress Series*, 533: 149-161.

Ziegler M, Roder CM, Büchel C, Voolstra CR. 2014. Limits to physiological plasticity of the coral *Pocillopora verrucosa* from the central Red Sea. *Coral Reefs*, 33(4): 1115-1129.