

**UNIVERSIDAD DE PANAMÁ**  
**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y**  
**TECNOLOGÍA**  
**ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**Efectos de la Vitamina C y la N-acetilcisteína en la respuesta fisiológica  
del coral *Pocillopora verrucosa***

**por:**

**Eunice R. Tapia M.**

Trabajo de graduación presentado  
como requisito parcial para optar por  
el título de Licenciado en Biología  
Marina y Limnología

**PANAMÁ, REPÚBLICA DE PANAMÁ**

**2024**

## DEDICATORIA

A mi yo de 5 años... Quiero decirte que lo logramos.

Y a cada persona que lea estas palabras, espero que este trabajo inspire en ti el deseo de investigar y proteger nuestros océanos, tanto como lo inspira en mí.

Para René, Scarlett y Amirah los amo con todo mi corazón.

## AGRADECIMIENTO

Son tantas las personas a las que quiero agradecer que estoy segura de que podría hacer una lista interminable. Este trayecto ha estado lleno de retos, pero no habría sido posible sin el apoyo incondicional de mis padres y mi hermano, quienes, estoy convencida, celebran este logro incluso más que yo. Gracias por confiar en mí, incluso en esos momentos en los que yo misma dudaba.

A mi mejor amiga y hermana del alma, Epifanía Jiménez, gracias por escucharme durante horas interminables mientras hablaba de mi tesis y por estar a mi lado cuando las cosas no salían bien. Este logro no es solo mío, es de las dos.

A mi profesora Yinkiria Cheng, un apoyo incondicional y un gran ejemplo en mi vida. Gracias por tu paciencia, sabiduría y constante motivación.

A la familia Quintero Arrieta, gracias por adoptarme como una más de su familia y ofrecerme su apoyo en todo momento. Su generosidad y calidez marcaron la diferencia en este camino.

Y a mis compañeros del laboratorio del Dr. Connolly en el Smithsonian, gracias por compartir conmigo sus conocimientos y compañerismos. Nada de esto habría sido posible sin ustedes.

# ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTO .....	III
ÍNDICE GENERAL.....	IV
INDICE DE FIGURAS .....	V
INDICE DE CUADRO .....	VI
RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
INTRODUCCIÓN .....	3
OBJETIVOS.....	5
Objetivo general.....	5
Objetivos específicos.....	5
METODOLOGÍA .....	6
<b>Especie de investigación</b> .....	6
<b>Área de estudio</b> .....	6
<b>Procedencia y preparación de las muestras</b> .....	6
<b>Protocolo experimental</b> .....	7
<b>Análisis Fisiológicos</b> .....	8
<b>Análisis de Datos</b> .....	9
RESULTADOS .....	10
DISCUSIÓN .....	23
CONCLUSION.....	27
RECOMENDACIÓN.....	28
BIBLIOGRAFIA .....	29

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Contenido Total de Clorofila a (ng/cm <sup>2</sup> ), experimento 1 .....	10
Figura 2. Potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (Fv/Fm), experimento 1 .....	11
Figura 3. Contenido de Proteínas del coral huésped (mg/cm <sup>2</sup> ) , experimento1 .....	12
Figura 4. Contenido Total de Clorofila a (ng/cm <sup>2</sup> ), experimento 2 .....	14
Figura 5. Potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (Fv/Fm), experimento 2 .....	15
Figura 6. Contenido de Proteínas del coral huésped (mg/cm <sup>2</sup> ), experimento 2.....	16
Figura 7. Contenido Total de Clorofila a (ng/cm <sup>2</sup> ), experimento 3 .....	18
Figura 8. Potencial fotoquímica máximo del fotosistema II (Fv/Fm) , experimeno 3.....	20
Figura 9. Contenido de Proteínas del coral huésped (mg/cm <sup>2</sup> ), experimento 3.....	22

## INDICE DE CUADRO

- Tabla 1. Concentraciones de vitamina C y NAC mg/L, para el experimento 3 ..... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 2. Coeficientes estimados del modelo lineal para Clorofila a, experimento 1.... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 3. Coeficientes estimados del modelo lineal para PSII (Fv/Fm), experimento 1 **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 4. Coeficientes estimados del modelo lineal para el total de proteína del coral huésped, experimento 1 ..... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 5. Coeficientes estimados del modelo lineal para Clorofila a, experimento 2.... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 6. Coeficientes estimados del modelo lineal para PSII (Fv/Fm), experimento 2 **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 7. Coeficientes estimados del modelo lineal para el total de proteína del coral huésped, experimento 2 ..... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 8. Coeficientes estimados del modelo lineal para contenido de Clorofila a, experimento 3 ..... **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 9. Coeficientes estimados del modelo lineal para PSII (Fv/Fm), experimento 3 **Error! Bookmark not defined.**
- Tabla 10. Coeficientes estimados del modelo lineal para el total de proteínas del coral huésped, experimento 3..... **Error! Bookmark not defined.**

## RESUMEN

Los arrecifes de coral son vitales para la biodiversidad y la vida humana, pero enfrentan graves amenazas por el cambio climático y las actividades humanas. El blanqueamiento coralino, intensificado por eventos como El Niño y el aumento de temperaturas oceánicas, ha causado pérdidas significativas de corales. Este fenómeno afecta la simbiosis entre corales y dinoflagelados *Symbiodiniaceae*, crucial para su supervivencia en ambientes pobres en nutrientes. El desequilibrio en esta relación produce especies reactivas de oxígeno (ROS) que dañan los corales. Investigaciones previas sugieren que los antioxidantes exógenos pueden mitigar estos daños. Este estudio evalúa los efectos de la vitamina C y la NAC en la respuesta fisiológica y fotosintética del coral *Pocillopora verrucosa* en el Pacífico Oriental Tropical. Se generaron 108 fragmentos o nubbins de *Pocillopora verrucosa* para experimentos toxicológicos con vitamina C y N-acetilcisteína (NAC). Los nubbins se mantuvieron en tanques experimentales bajo condiciones controladas de luz y aireación, con mediciones fisicoquímicas diarias del agua. Tres experimentos se realizaron para evaluar el efecto de diferentes concentraciones de vitamina C, NAC y su combinación en la capacidad fotosintética del coral. La salud coralina se evaluó midiendo la eficiencia fotosintética del PSII, la concentración de clorofila a y la biomasa proteica del coral huésped.

En conclusión, el estudio revela que la vitamina C por sí sola no obtuvo un impacto significativo en la clorofila a, el contenido de proteínas, ni en la eficiencia fotosintética del coral. En contraste, la N-acetilcisteína mostró un aumento significativo en la concentración de clorofila a, aunque no se observó una variación significativa en la eficiencia fotosintética o el contenido de proteínas. La combinación de vitamina C y NAC produjo efectos variados: mientras que altas concentraciones de NAC y vitamina C disminuyeron la clorofila a, la combinación de ambos antioxidantes a ciertas concentraciones resultó en un aumento significativo en la clorofila a y la eficiencia fotosintética. El contenido de proteínas no mostró cambios significativos en ninguno de los tratamientos combinados, con solo una tendencia no significativa en concentraciones específicas. Los datos de esta investigación contribuirán a futuras soluciones de conservación y a técnicas avanzadas que fortalecerán las iniciativas para preservar la diversidad de nuestros océanos.

## ABSTRACT

Coral reefs are vital for biodiversity and human life but face serious threats from climate change and human activities. Coral bleaching, intensified by events such as El Niño and rising ocean temperatures, has caused significant coral losses. This phenomenon affects the symbiosis between corals and Symbiodiniaceae dinoflagellates, crucial for their survival in nutrient-poor environments. The imbalance in this relationship produces reactive oxygen species (ROS) that damage corals. Previous research suggests that exogenous antioxidants can mitigate this damage. This study evaluates the effects of vitamin C and NAC on the physiological and photosynthetic response of *Pocillopora verrucosa* coral in the Eastern Tropical Pacific. A total of 108 fragments or nubbins of *Pocillopora verrucosa* were generated for toxicological experiments with vitamin C and N-acetylcysteine (NAC). The nubbins were maintained in experimental tanks under controlled light and aeration conditions, with daily physicochemical water measurements. Three experiments were conducted to evaluate the effect of different concentrations of vitamin C, NAC and their combination on coral photosynthetic capacity. Coral health was assessed by measuring photosynthetic efficiency of PSII, chlorophyll a concentration and coral host protein biomass.

In conclusion, the study reveals that vitamin C alone had no significant impact on coral chlorophyll a, protein content, or photosynthetic efficiency. In contrast, N-acetylcysteine showed a significant increase in chlorophyll a concentration, although no significant variation in photosynthetic efficiency or protein content was observed. The combination of vitamin C and NAC produced varied effects: while high concentrations of NAC and vitamin C decreased chlorophyll a, the combination of both antioxidants at certain concentrations resulted in a significant increase in chlorophyll a, and photosynthetic efficiency. Protein content did not show significant changes in any of the combined treatments, with only a non-significant trend at specific concentrations. The data from this research will contribute to future conservation solutions and advanced techniques that will strengthen initiatives to preserve the diversity of our oceans.

## INTRODUCCIÓN

Los arrecifes de coral son uno de los principales focos de biodiversidad del planeta y sustentan en gran medida los medios de subsistencia de millones de seres humanos que viven cerca de ellos (Hoegh-Guldberg et al., 2019). Sin embargo, también son uno de los ecosistemas más amenazados del mundo (Hoegh-Guldberg & Bruno, 2010; Hughes et al., 2003). Los primeros casos de blanqueamiento generalizado de corales se registraron en los años 80, como parte de un evento de El Niño (Coffroth et al., 1990) pero no fue hasta en el año 1998 que se observó este efecto a escala mundial, siendo los más afectados los arrecifes en las zonas tropicales (Wilkinson, C. C., 2004). Diversas investigaciones advierten que el aumento constante de las temperaturas en los océanos está fuertemente asociado con la pérdida de arrecifes coralinos (Buddemeier et al., 2004; Palacio-Castro et al., 2023). El incremento en el sector de industrialización, urbanización y agricultura acelerada (Lapointe et al., 2019; Osborne et al., 2017), sumado al aumento de la intensidad y frecuencia del cambio climático (Eakin et al., 2019; Hughes et al., 2018; Smale et al., 2019) está ocasionando que los arrecifes de corales en todo el mundo presenten deterioro de salud, disminuyendo las poblaciones rápidamente (Hoegh-Guldberg et al., 2017; Smale et al., 2019). Los corales constructores de arrecifes son capaces de prosperar en entornos tropicales pobres en nutrientes gracias a su simbiosis con dinoflagelados Symbiodiniaceae. Esta asociación es la base de los ecosistemas de arrecifes de coral, que son uno de los ecosistemas más biodiversos y productivos de la Tierra (LaJeunesse et al., 2018).

En esta asociación simbiótica, las células del simbionte proveen hasta el 95% de los productos de la fotosíntesis a su huésped principalmente en forma de glicerol, pero también en forma de péptidos, aminoácidos, azúcares y carbohidratos complejos (Hoegh-Guldberg, 2004). Por su parte, el huésped proporciona un ambiente que es presumiblemente ideal para los simbiontes, así como nutrientes inorgánicos como el amonio y fosfato (Pearse & Muscatine, 1971; Sheppard et al., 2017; Walther-Mendoza et al., 2016). Sin embargo, cuando se encuentran bajo estrés intenso, especialmente por el calentamiento del agua circundante, estas algas dinoflageladas ven alterado su proceso fotosintético, generando concentraciones excesivas de especies reactivas de oxígeno (ROS) en el tejido coralino (Lesser, 2006; Roth, 2014). Cuando el simbionte se torna tóxico, el hospedero en este caso el coral, expulsa dichos simbiontes fotosintéticos, como una medida para mitigar los daños ocasionados por un estresor, quedando el tejido del pólipo desprovisto de color, a este efecto se le conoce como blanqueamiento del coral (LaJeunesse et al., 2018; Rädicker et al., 2021).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son moléculas prooxidantes, que cuando se producen en una cantidad excesiva, pueden dañar estructuras importantes y alterar la homeostasis, comprometiendo la supervivencia de los seres vivos (Constantini, 2014; Martignago et al., 2024). Los organismos tienden a contrarrestar esta sobreproducción de ROS a través de su capacidad para sintetizar sustancias neutralizantes, como lo son componentes enzimáticos y no enzimáticos. Los componentes no enzimáticos abarcan moléculas de bajo peso molecular, como glutatión, la melatonina, las vitaminas C y E (Constantini, 2014). A diferencia de muchas células animales, las células vegetales sintetizan altas concentraciones de ácido ascórbico (vitamina C), el cual es un tampón redox hidrofílico (Foyer & Noctor, 2005). Este antioxidante es encontrado mayormente en el citoplasma celular y otro pequeño porcentaje en el apoplasto (Foyer & Noctor, 2005; Zechmann,

2011). Debido a esto la vitamina C constituye un papel vital en mejorar la tolerancia al estrés abiótico, trabajando en la regulación de ROS y las respuestas físico-químicas (Akram et al., 2017). También se ha demostrado que protege los lípidos y las proteínas contra la salinidad o los adversarios oxidativos, puede mejorar el crecimiento de plantas, la tasa fotosintética, y aumentar la concentración de los pigmentos fotosintéticos como es el caso de la clorofila a (Khan et al., s. f.2010).

N-acetilcisteína (NAC) es un antioxidante natural ampliamente conocido por su participación en la actividad antioxidante y antiinflamatoria, que promueve el mantenimiento del equilibrio redox celular. Como resultado, su potencial terapéutico se extiende a varios trastornos cuya etiología y curso están relacionados con el estrés oxidativo (Aldini et al., 2018). Desde la década de 1980 se ha propuesto como tratamiento de enfermedades en seres humanos en las que el estrés oxidativo se ve involucrado en la aparición y progresión del estado de la enfermedad (Dodd et al., 2008). Uno de los mecanismos más importantes de este compuesto es que estimula la producción de glutatión (GSH), que es reconocido como el principal antioxidante del cuerpo, ya que juega un papel crucial en la protección de las células contra daño por estrés (Arakawa & Ito, 2007).

El glutatión es un antioxidante clave en los tejidos animales (Krueger et al., 2014), está involucrado en la eliminación de xenobióticos y peróxidos orgánicos a través de la actividad del glutatión S-transferasa (GST), y desempeña un papel importante en la modificación de proteínas y la señalización celular (Foyer & Noctor, 2011). Se sabe que uno de los principales mecanismos en los cnidarios para neutralizar los efectos potencialmente dañinos de los ROS, es la producción de glutatión (Bielmyer-Fraser et al., 2018) estrechamente vinculado al ciclo Foyer-Halliwel-Asada (o vía ascorbato-glutatión) para regenerar la ascorbato peroxidasa, una enzima responsable de eliminar el peróxido de hidrógeno, el cual es un subproducto metabólico de la reacción (Foyer & Noctor, 2011).

La importancia de una red antioxidante compleja y su papel en la homeostasis celular bajo estrés se ha resaltado en estudios previos, donde la plasticidad de la red antioxidante se muestra crucial para la tolerancia a estrés ambiental (Foyer & Noctor, 2011; Kranter & Birtić, 2005). Pocos estudios aportan pruebas de que el suministro de antioxidantes exógenos (por ejemplo, catequina y catalasa, disueltos en agua de mar) puede mejorar los efectos perjudiciales de las especies reactivas del oxígeno (ROS) en corales, anémonas y Symbiodinaceae durante el estrés térmico, por lo que tiene el potencial de mitigar el blanqueamiento del coral (Dimond et al., 2017; Krueger et al., 2014; Lesser, 1996; Marty-Rivera et al., 2018). En este contexto, este estudio trata de dilucidar cómo la adición exógena de vitamina C y NAC podrían desempeñar un papel importante en la respuesta fisiológica y la fotosíntesis de *Pocillopora spp.* Para la región del Pacífico Oriental Tropical (POT), esta especie es de gran relevancia ya que se considera desarrolladora de comunidades coralinas de tipo mono-especie por su alta cobertura (A.-P. Rodríguez-Troncoso et al., 2023). Históricamente el POT ha sufrido de eventos de blanqueamiento masivo y *Pocillopora* ha sido señalado como el género más sensible al estrés, pero con mayor capacidad de recuperación (A. P. Rodríguez-Troncoso et al., 2016; A.-P. Rodríguez-Troncoso et al., 2023; Romero-Torres et al., 2020).

## OBJETIVOS

### Objetivo general:

Investigar los efectos individuales y combinados de Ácido Ascórbico y N-acetilcisteína, en las respuestas fisiológicas del coral *Pocillopora verrucosa* del pacífico oriental tropical de Panamá.

### Objetivos específicos:

1. Someter el coral *Pocillopora verrucosa* a diferentes gamas de exposición ácido ascórbico, para prueba de toxicidad aguda;
2. Someter el coral *P. verrucosa* a diferentes gamas de exposición N-acetilcisteína para prueba de toxicidad aguda;
3. Someter el coral *P. verrucosa* a diferentes concentraciones de N-acetilcisteína y ácido ascórbico de forma combinada
4. Evaluar los parámetros fisiológicos claves, biomasa del coral hospedero, concentración de pigmentos fotosintéticos y eficiencia máxima del fotosistema II (PSII) de los simbioses ante las diversas concentraciones de antioxidantes probados

## HIPÓTESIS

Dentro del contexto mencionado, pretendemos poner a prueba las siguientes hipótesis

- (i) El ácido ascórbico, en concentraciones adecuadas, beneficia el proceso fotosintético de los endosimbiontes;
- (ii) La N-acetilcisteína, en concentraciones adecuadas, beneficia la salud del coral huésped;
- (ii) La combinación de concentraciones adecuadas de ácido ascórbico y N-acetilcisteína aumenta los efectos beneficiosos para la salud del coral huésped y sus endosimbiontes.

## METODOLOGÍA

### Especie de investigación

Los arrecifes coralinos en el Pacífico oriental tropical (POT) se encuentran dominados por corales del género *Pocillopora* (Pinzón et al., 2013; Stranges et al., 2019), Los pocilopóridos representan un componente clave de las comunidades coralinas en la costa occidental de las Américas; suministran hábitat, refugio y son fuentes de nutrición para múltiples invertebrados y peces (Cortés et al., 2017), además de que aportan gran cantidad de carbonato de calcio que constituye una de las bases principales de la estructura física arrecifal en la región (Carballo et al., 2008). *Pocillopora verrucosa*, anteriormente identificada como *Pocillopora damicornis* (Pinzón & LaJEUNESSE, 2011; Schmidt-Roach et al., 2013), es una especie formadora de arrecifes competitivamente dominante, suelen estar en hábitats poco profundos desde 1 a 7 m de profundidad (Glynn, 1976), y se les puede encontrar ampliamente distribuidos en todo el Indo-Pacífico (Pinzón et al., 2013) y en el Pacífico oriental tropical desde el centro del golfo de California, México hasta la costa de Ecuador, incluyendo todas las islas oceánicas adyacentes (LaJeunesse et al., 2008). Esta especie posee diversas rutas de reproducción ya que se presenta variación geográfica en su modo reproductivo, se le ha descrito con reproducción sexual, asexual y/o desovador, con variabilidad en las temporadas dependiendo de la fase lunar y la estación del medio (Carpizo-Ituarte et al., 2011; Chávez-Romo & Reyes-Bonilla, 2007).

### Área de estudio

El área de estudio comprende la Zona Especial de Manejo Marino-Costera Archipiélago de Las Perlas (ZEMMCAP) ubicada en el Golfo de Panamá. Esta región experimenta un periodo estacional de afloramiento que coincide con la temporada seca (finales de diciembre a inicios de mayo). Este fenómeno es causado por el cambio en la dirección de los vientos alisios provenientes del noreste que empujan la capa de agua superficial del mar hacía fuera de la costa permitiendo a capas más profundas, oxigenadas y llenas de nutrientes ascender a la superficie, disminuyendo la temperatura, visibilidad y aumentando la productividad de la zona (D’Croz & O’Dea, 2007).

### Procedencia y preparación de las muestras

Las recolecciones se realizaron con el permiso del Ministerio de Panamá (MiAmbiente), código de identificación ARB/ARG-090-2022. Las muestras utilizadas son colonias de *Pocillopora verrucosa* las cuales fueron colectadas por buzos SCUBA (Self-Contained Underwater Breathing Apparatus) en 3 sitios diferentes del Pacífico Este Tropical localizados en el "Archipiélago Las Perlas" (Islas MogoMogo, Saboga y Contadora), y transferidas a las instalaciones experimentales del Instituto Smithsonian de Investigaciones Tropicales (Laboratorios Marinos Naos, Panamá). Las colonias de coral recolectadas se mantuvieron durante 3 días en acuarios de 30L con un flujo continuo de agua de mar (10L/h) e iluminación ( $300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , 12 h:12 h luz: oscuridad) para su posterior fragmentación y producción de pequeñas piezas de coral, estas piezas o fragmentos de coral son conocidos como nubbins.

Tras fragmentar las colonias con la ayuda de una pinza quirúrgica cortadora de huesos, cada nubbin se fijó a hilos de nailon debidamente identificados con la colonia de procedencia. Se mantuvieron en los mismos acuarios durante otras dos semanas para la recuperación completa de los tejidos tras la fragmentación.

### **Protocolo experimental**

Se utilizaron tres colonias (una de cada sitio) para generar un total de 108 nubbins (36 por colonia) las cuales se usaron para experimentos toxicológicos agudos (96h) probando diferentes concentraciones de L-ácido ascórbico sódico (Vit C) y N-Acetil-L-cisteína (NAC), de forma aislada y combinada.

Para llevar a cabo cada experimento cada nubbin, sujeto a hilos de nailon y debidamente identificado, se mantuvieron en tanques experimentales independientes de 2 litros con agua de mar. En cada tanque se colocaron tres nubbins procedentes de cada lugar, y los tratamientos se realizaron por duplicado, con un total de 6 nubbins por tratamiento (N=6). El medio de exposición (agua de mar filtrada y antioxidantes diluidos en agua de mar filtrada) se preparó y cambio diariamente utilizando la medida de mg del antioxidante por 1L de agua de mar. La iluminación de los acuarios fue manejada con lámparas de halogenuros metálicas para proporcionar una irradiación de  $300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (12 h:12 h luz: oscuridad) y difusores de aire sumergibles para mantener la aireación dentro de cada tanque. Las mediciones fisicoquímicas del medio de exposición (temperatura, pH, salinidad) se tomaron dos veces al día, por la mañana y por la tarde.

Después de la recuperación, se llevaron a cabo tres experimentos de estrés toxicológico agudo. En el primer experimento (experimento 1: concentraciones altas de Vit C), sometimos los corales a 5 concentraciones diferentes (0, 0.7, 7, 35,70 mg/L). En el segundo experimento (experimento 2: concentraciones altas de NAC) aplicamos las mismas concentraciones que en el experimento 1. Nuestro objetivo fue encontrar la concentración en la que los corales obtuvieran mejor respuesta de fvm para probar la actividad de ambos antioxidantes combinados. En el tercer experimento (experimento 3: combinación de Vit C / NAC) basado en los resultados de los experimentos anteriores se eligieron probar las siguientes concentraciones (tabla 1). Al final de cada experimento, se midió la capacidad fotosintética de los corales (método no destructivo), Las mediciones se realizaron a la misma temperatura y nivel de luz que en las condiciones experimentales (Este procedimiento se explica detalladamente en análisis fisiológicos). Para posteriormente, llevar los corales a congelar a  $-80^{\circ}\text{C}$  para los análisis de laboratorio que se describen a continuación.

Tabla 1. Concentraciones expresadas en miligramos por litro de agua de mar (Experimento 3), prueba de nuevas concentraciones para vitamina C de forma aisladas y la combinación de ambos antioxidantes

<i>Concentración mg/L</i>		<b>Vitamina C</b>	<b>NAC</b>
<i>Tratamiento</i>	1	0,7	0
<i>Tratamiento</i>	2	7	0
<i>Tratamiento</i>	3	3,5	0
<i>Tratamiento</i>	4	0	0
<i>Tratamiento</i>	5	0	7
<i>Tratamiento</i>	6	0.7	7
<i>Tratamiento</i>	7	3.5	7
<i>Tratamiento</i>	8	7	7

### **Análisis Fisiológicos**

Para evaluar la salud del coral huésped y de sus endosimbiontes fotosintetizadores, se llevaron a cabo tres análisis ampliamente utilizados en la bibliografía (Fernandes de Barros Marangoni et al., 2020; Marangoni et al., 2021): (i) eficiencia fotosintética del fotosistema (PSII), (ii) concentración de clorofila *a* (chl *a*), y (iii) biomasa proteica del coral huésped.

El potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (PSII) se evaluó por medio de mediciones de fluorescencia de clorofila *a*, utilizando un fluorímetro de amplitud de pulso modulada - Diving-PAM (Walz, Alemania). El nivel mínimo de fluorescencia ( $F_0$ ) se obtiene mediante una sonda de luz modulada débil, mientras que el nivel máximo de fluorescencia ( $F_m$ ) se detecta tras un pulso de saturación de luz actínica. La fluorescencia variable ( $F_v$ ) se calcula como  $F_m - F_0$ , y el potencial fotoquímico máximo del PSII se obtiene como el cociente de  $F_v/F_m$ . Los valores de fluorescencia (Yield) se tomaron a consideración como medidas del estado de salud de los dinoflagelados endosimbiontes (Jones, 1999).

La clorofila (chl *a*) y el contenido de proteínas del coral huésped se determinaron según lo descrito por (Hoogenboom et al., 2010). Brevemente, el tejido de coral se retiró del esqueleto utilizando un aerógrafo con agua de mar filtrada y se recogió en tubos de 5-50 ml de  $0,45 \mu\text{mol l}^{-1}$ . La suspensión de tejido se homogeneizó utilizando un homogeneizador eléctrico (Tissue-Tearor, modelo 985370). Se tomaron submuestras para cuantificar el contenido de proteínas del huésped coralino según Bradford (1976) utilizando el kit de ensayo de proteínas de Bradford (23200, Thermo Fisher Scientific, EE. UU.). La concentración de clorofila se midió de acuerdo con (Jeffrey & Humphrey, 1975). Posterior se centrifugó un volumen de 2 ml del tejido (8000 g, 10 min), descartando el sobrenadante y manteniendo los simbiontes (pellet) en el tubo para resuspender en 2 ml de etanol para las extracciones de clorofila. Los datos se normalizaron con la superficie del coral ( $\text{cm}^2$ ) utilizando el método de inmersión en cera (Stimson & Kinzie, 1991).

## Análisis de Datos

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el entorno estadístico RStudio, versión 4.1.2. (R Core Team 2021). Para evaluar los efectos individuales y combinados de los dos antioxidantes, los resultados de los análisis fisiológicos (eficiencia fotosintética del PSII, concentración de clorofila *a*, y biomasa proteica del coral huésped) se inició comprobando la normalidad de los datos realizando histogramas, para descubrir la distribución de estos. Se utilizó un modelo lineal simple para analizar los datos obtenidos para cada prueba realizada. Este modelo se basa en la siguiente ecuación  $y_i = \beta_0 + \beta_1 x_i + \epsilon_i$ , en donde

- $y_i$  representa la respuesta medida para el parámetro fisiológico (eficiencia fotosintética del PSII, concentración de clorofila *a*, biomasa proteica del coral huésped).
- $\beta_0$  es el intercepto del modelo, que indica el valor esperado de Y cuando X es cero.
- $\beta_1$  es el coeficiente de regresión que mide el cambio en y por cada unidad de cambio en x.
- $x_i$  es la concentración de antioxidante usado.
- $\epsilon_i$  es el término de error, representando la variabilidad en la respuesta que no es explicada por el modelo.

El modelo fue ajustado usando la función `lm (sqrt)` en R, y el análisis de varianza (ANOVA) se realizó para verificar la significancia de los efectos de los tratamientos sobre los parámetros fisiológicos del coral. Después del ANOVA, se aplicó la prueba LSD de Fisher como análisis post hoc para evaluar las diferencias específicas entre cada tratamiento. La prueba LSD (Least Significant Difference) de Fisher se realizó utilizando la función `LSD.test` del paquete `agricolae` en R. Esta función calcula las diferencias mínimas significativas entre las medias de los tratamientos y proporciona un análisis detallado de las comparaciones entre tratamientos. Los resultados del análisis post hoc se presentaron en términos de letras de agrupación, donde tratamientos que no difieren significativamente comparten la misma letra.

## RESULTADOS

### Experimento 1 – Vit C:

para este experimento se utilizaron en total 30 nubbins, 3 por tratamiento más su duplicado (N=6). El contenido de clorofila *a* no presentó cambios significativos al exponerse a las diferentes concentraciones de vitamina C (ANOVA,  $p = 0.2212$ ). Asimismo, el contenido de proteína no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con vitamina C (ANOVA,  $p = 0.8183$ ). Por otro lado, el potencial de eficiencia fotosintética (Fv/Fm) tampoco presentó variaciones significativas con las diferentes concentraciones de vitamina C (ANOVA,  $p = 0.1732$ ).

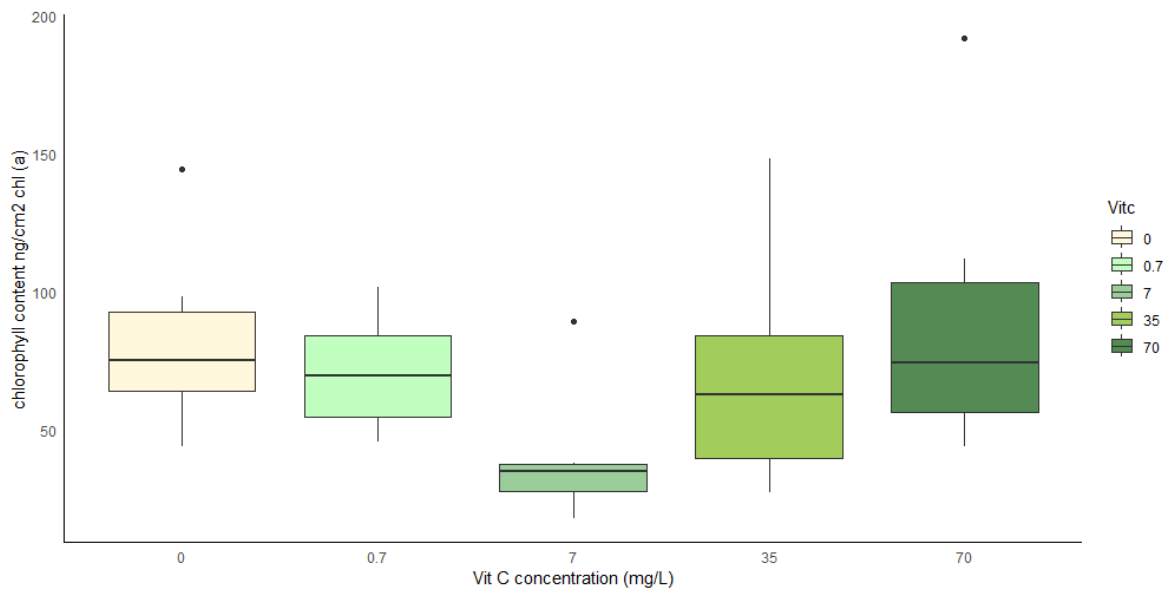


Figura 1. Contenido Total de Clorofila *a* (ng/cm<sup>2</sup>) en *Pocillopora verrucosa*, en diferentes tratamientos de vitamina C. Ninguna de estas concentraciones (0.7, 7, 35, 70 mg/L) mostró diferencias significativas en comparación con el control (ANOVA,  $p = 0.2212$ ).

Tabla 2. Coeficientes estimados de la regresión lineal de la concentración total de clorofila a en función de la vitamina C. El intercepto es altamente significativo ( $p = 1.64e-05$ ) indicando un valor promedio consistente de chl *a* en el control (sin Vit C). Ninguna de las concentraciones de vitamina C muestra significancia estadística, aunque la concentración de 7 mg/L se aproxima a la significancia ( $p = 0.065$ ).

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	82.903	15.586	5.319	1.64e-05 ***
vitc0.7	-11.861	22.042	-0.538	0.595
vitc7	-42.541	22.042	-1.93	0.065.
vitc35	-12.1	22.042	-0.549	0.588
vitc70	8.508	22.042	0.386	0.703

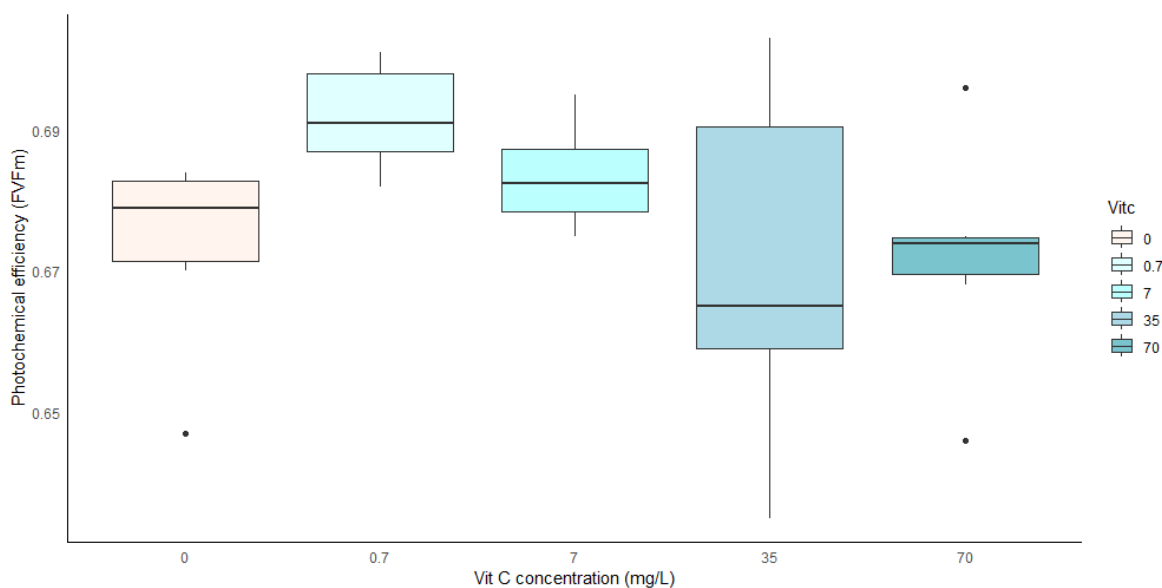


Figura 2. Potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (Fv/Fm) para *Pocillopora verrucosa*, en diferentes tratamientos de vitamina C.

Ninguna de estas concentraciones (0.7, 7, 35, 70 mg/L) mostró diferencias significativas en comparación con el control (ANOVA,  $p = 0.1732$ ).

Tabla 3. Coeficientes estimados del modelo de regresión lineal del potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (PSII) en función de la vitamina C. El intercepto es significativo ( $p < 2e-16$ ). Entre las concentraciones de vitamina C, solo vitc0.7 muestra una tendencia ligeramente significativa ( $p = 0.0741$ ). Los demás coeficientes no son significativos ( $p > 0.1$ ).

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.8207341	0.0039709	206.686	<2e-16 ***
vitic0.7	0.0110005	0.0058898	1.868	0.0741.
vitic7	0.0059966	0.0056157	1.068	0.2962
vitic35	-0.001917	0.0056157	-0.341	0.7358
vitic70	-0.0009251	0.0056157	-0.165	0.8705

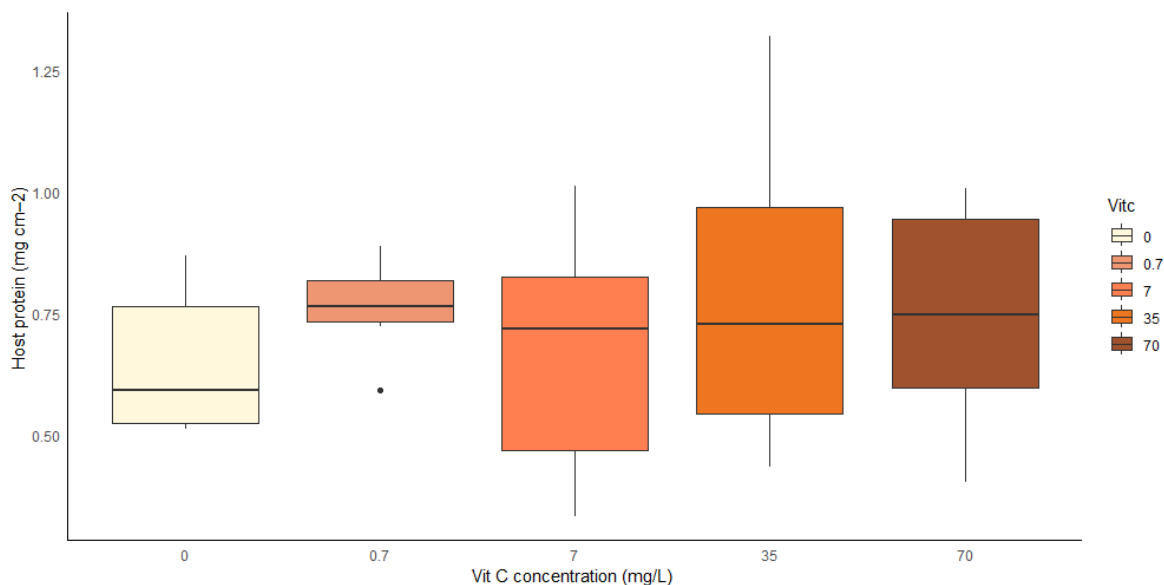


Figura 3. Contenido de Proteínas del coral huésped ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ) en *Pocillopora verrucosa*, en diferentes tratamientos de vitamina C. Ninguna de estas concentraciones (0.7, 7, 35, 70  $\text{mg}/\text{L}$ ) mostró diferencias significativas en comparación con el control (ANOVA,  $p = 0.8183$ ).

Tabla 4. Coeficientes estimados de modelo lineal para contenido total de proteínas del coral huésped en función de vitamina C. El intercepto es altamente significativo ( $p = 2.16e-13$ ). Sin embargo, ninguna de las concentraciones de vitamina C muestra significancia estadística ( $p > 0.1$ ).

---

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.800014	0.056802	14.084	2.16e-13 ***
vitc0.7	0.070635	0.080331	0.879	0.388
vitc7	0.004939	0.080331	0.061	0.951
vitc35	0.072349	0.080331	0.901	0.376
vitc70	0.05163	0.080331	0.643	0.526

---

## Experimento 2- NAC

Se observó un efecto de NAC sobre la concentración de clorofila a (ANOVA,  $p = 0.00225$ ), con un aumento significativo en el tratamiento 0.7 mg/L en comparación con el control (Fisher LSD,  $p = 0.0493$ ). En cuanto al potencial de eficiencia fotosintética ( $F_v/F_m$ ), no se observaron variaciones significativas con las diferentes concentraciones de NAC (ANOVA,  $p = 0.2368$ ). Sin embargo se observa una tendencia general de aumento en la eficiencia fotoquímica con la adición de NAC, aunque no se reportan diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, con un p-valor cercano a 0.05 en la concentración de 7 mg/L. Por otro lado, el contenido de proteína no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con NAC (ANOVA,  $p = 0.3183$ ). Sin embargo, se observó una tendencia no significativa con p-valores cercanos a 0.05 en las concentraciones de 0.7 mg/L y 70 mg/L.

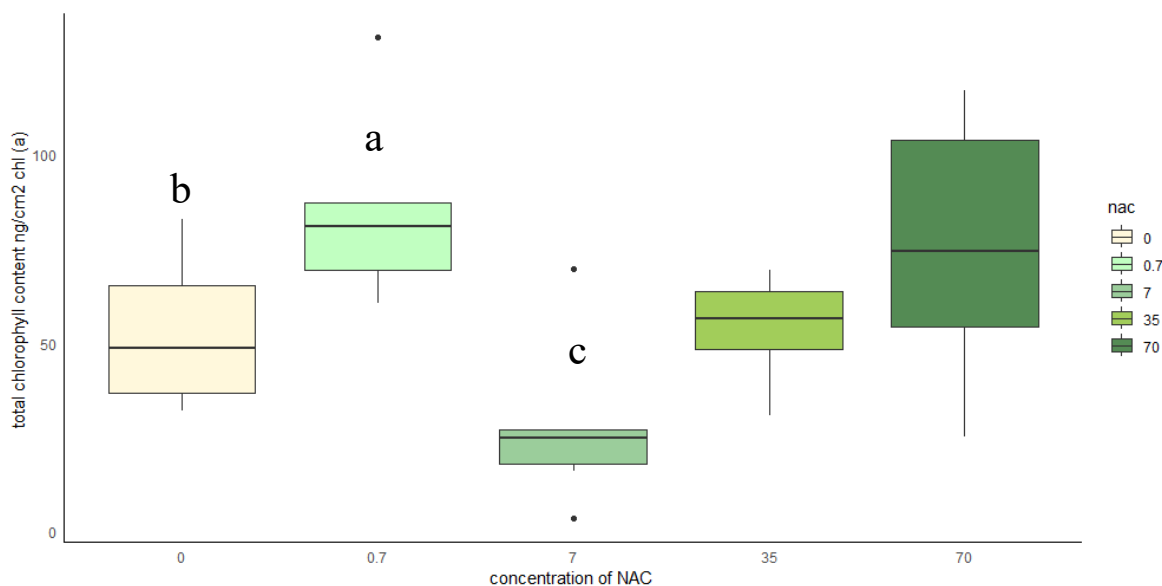


Figura 4. Contenido total de clorofila a ( $\text{ng}/\text{cm}^2$ ) en *Pocillopora verrucosa*, probando diferentes concentraciones de NAC ( $\text{mg}/\text{L}$ ). Se observó un efecto significativo de NAC sobre la concentración de clorofila a (ANOVA,  $p = 0.00225$ ). La concentración de  $0.7 \text{ mg}/\text{L}$  mostró un aumento significativo en comparación con el control (Fisher LSD,  $p = 0.0493$ ). Las diferencias más significativas se observaron entre las concentraciones de  $0.7 \text{ mg}/\text{L}$  (a) y  $7 \text{ mg}/\text{L}$  (c), así como entre  $0.7 \text{ mg}/\text{L}$  (a) y el control  $0$  (b).

Tabla 5. El modelo lineal muestra que el intercepto es altamente significativo ( $p < 2e-16$ ), indicando un valor promedio consistente de Fv/Fm en el control (sin NAC). La concentración de NAC a  $0.7 \text{ mg}/\text{L}$  y  $7 \text{ mg}/\text{L}$  mostraron diferencias significativas en comparación con el control ( $p = 0.0493$  y  $p = 0.0278$ , respectivamente). Las concentraciones de  $35 \text{ mg}/\text{L}$  y  $70 \text{ mg}/\text{L}$  no mostraron diferencias significativas en comparación con el control.

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	7.1525	0.679	10.534	1.11e-10 ***
nac0.7	1.9841	0.9603	2.066	0.0493 *
nac7	-2.2437	0.9603	-2.337	0.0278 *
nac35	0.1548	0.9603	0.161	0.8732
nac70	1.2947	0.9603	1.348	0.1897

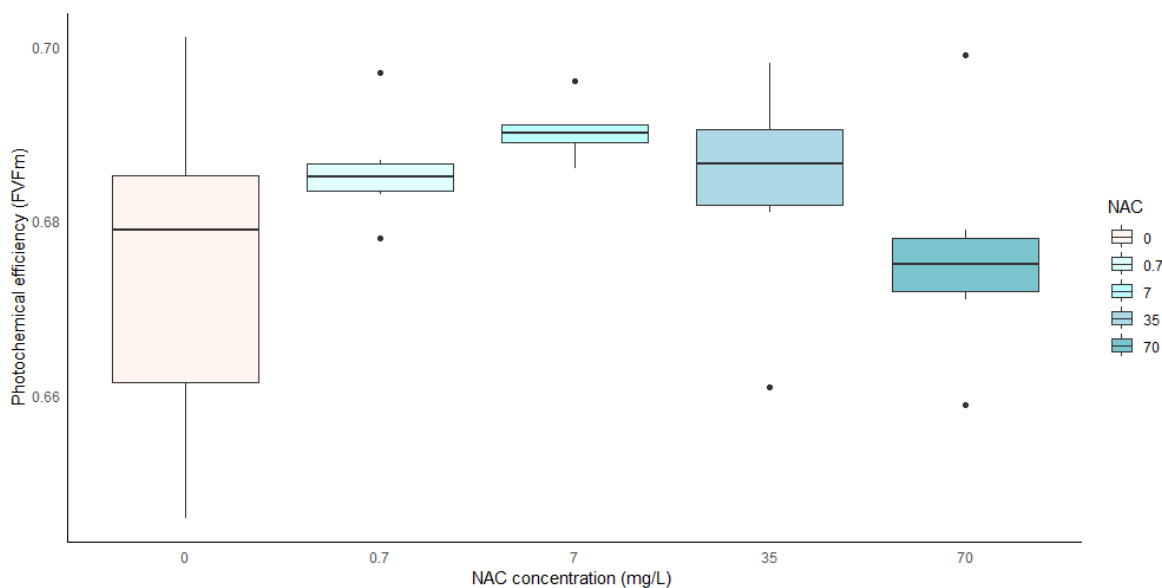


Figura 5. Potencial fotoquímico máximo del fotosistema II (Fv/Fm), en diferentes concentraciones de NAC (mg/L). No se observaron variaciones significativas con las diferentes concentraciones de NAC (ANOVA,  $p = 0.2368$ ).

Tabla 6. Las concentraciones de NAC no mostraron un efecto significativo en la eficiencia fotosintética (Fv/Fm) (ANOVA,  $p = 0.2368$ ).

---

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.821303	0.003192	257.324	<2e-16 ***
nac0.7	0.00684	0.004514	1.515	0.1427
nac7	0.009597	0.004734	2.027	0.0539.
nac35	0.00571	0.004514	1.265	0.218
nac70	0.00106	0.004514	0.235	0.8164

---

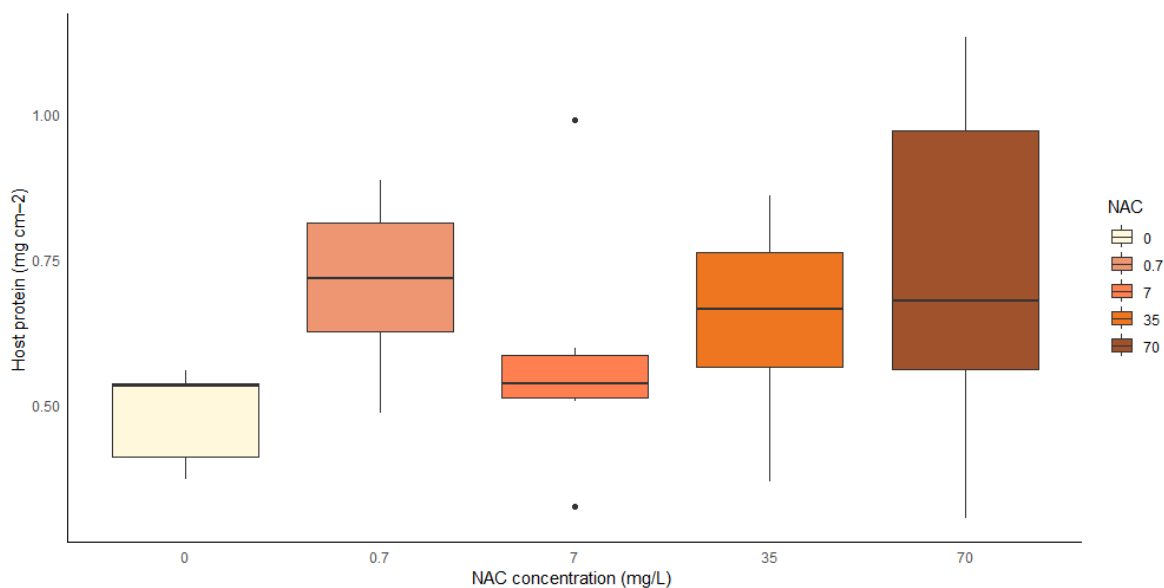


Figura 6. Contenido de Proteínas del coral huésped ( $\text{mg}/\text{cm}^2$ ), no mostró diferencias significativas entre los tratamientos con NAC (ANOVA,  $p = 0.3183$ ).

Tabla 7. Resultado de modelo lineal para el contenido de proteína del coral huésped, las concentraciones de NAC no mostraron un efecto significativo (ANOVA,  $p = 0.3183$ ).

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.69183	0.05771	11.988	1.28e-11 ***
nac0.7	0.14522	0.07814	1.858	0.0754.
nac7	0.06033	0.07814	0.772	0.4476
nac35	0.1052	0.07814	1.346	0.1908
nac70	0.14487	0.07814	1.854	0.0761.

### **Experimento 3- Vit C / NAC**

Se observaron efectos significativos de la interacción entre VitC y NAC para los valores de Chl *a* y Fv/Fm (ANOVA,  $p < 0,017$ ).

#### **Chl a:**

Se observó una disminución en Chl *a* en los corales expuestos a 7 mg/L de NAC ( $p=0.02133$ ) y 3,5 mg/L de VitC ( $p=0.0212$ ) en comparación con el control. Sin embargo, cuando se combinaron Vit C y NAC (en particular 3,5 mg/L de Vit C con 7 mg/L de NAC), los valores de Chl *a* aumentaron significativamente en comparación con los tratamientos aislados ( $p < 0.017$ ). Los resultados del análisis de varianza (ANOVA) confirmaron una interacción significativa entre VitC y NAC en los valores de Chl *a* (ANOVA,  $p = 0.0171$ ).

#### **Fv/Fm:**

El modelo lineal revela que la interacción entre las concentraciones de VitC y NAC tiene un impacto significativo en los valores de Fv/Fm ( $p = 0.004958$ ). Específicamente, la concentración de 7 mg/L de Vit C mostró un aumento significativo en Fv/Fm en comparación con el control ( $p = 0.0111$ ). La combinación de 3.5 mg/L de Vit C con 7 mg/L de NAC también mostró una tendencia hacia un aumento significativo ( $p = 0.0542$ ), mientras que la combinación de 7 mg/L de Vit C con 7 mg/L de NAC resultó en una disminución marginalmente significativa ( $p = 0.0908$ ). El análisis de varianza (ANOVA) también confirmó una interacción significativa entre VitC y NAC en los valores de Fv/Fm ( $p = 0.00259$ ), mientras que los efectos principales de VitC y NAC no fueron significativos por sí solos ( $p > 0.05$ ).

#### **Contenido total de Proteína:**

El contenido de proteína presentó el intercepto del modelo lineal altamente significativo ( $p < 2e-16$ ), sugiriendo un valor base fuerte del contenido de proteína. Sin embargo, no mostró cambios significativos entre los diferentes tratamientos (ANOVA,  $p = 0.565$ ). Se observó una tendencia no significativa con p-valores cercanos a 0.05 en la concentración de 3.5 mg/L.

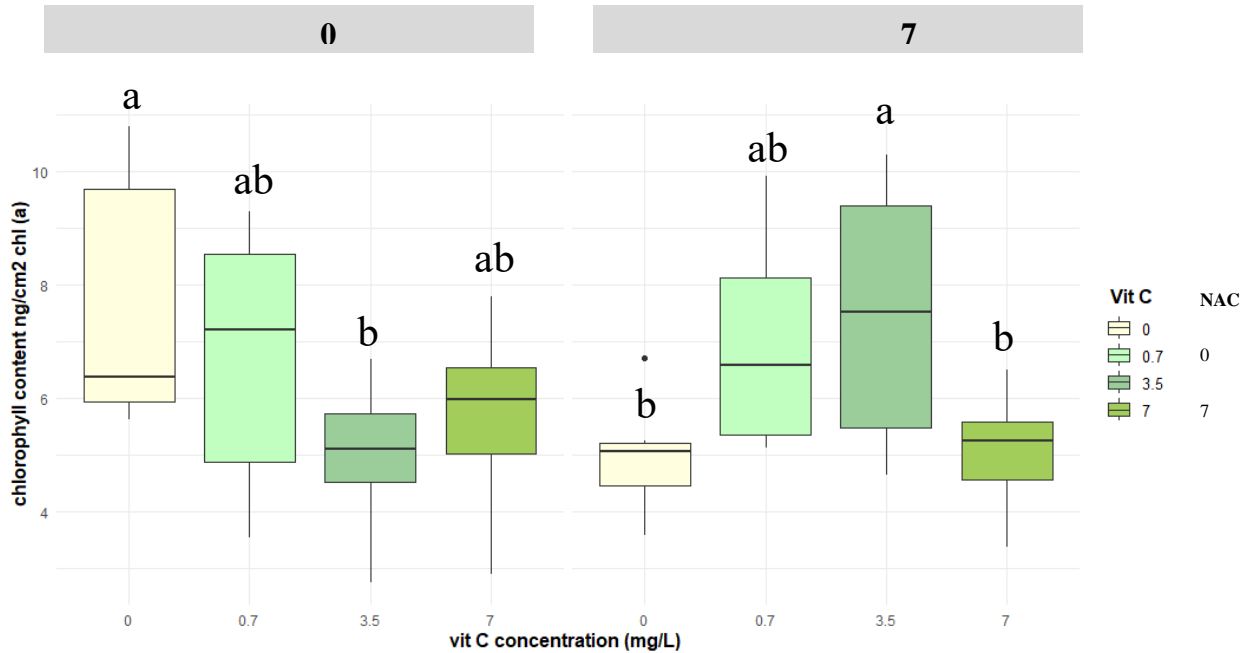


Figura 7. Contenido total de clorofila *a* (ng/cm<sup>2</sup>) en *Pocillopora verrucosa*, expuestos a combinación de Vit C con NAC. El análisis de varianza mostró una interacción significativa entre Vit C y NAC en los valores de Chl *a* (ANOVA,  $p = 0.0171$ ). Se observó un aumento significativo en los valores de chl *a* en los corales expuestos a la combinación de 3,5 mg/L de Vit C \* 7 mg/L NAC (a), disminución significativa en los tratamientos individuales con 3.5 mg/L de Vit C (b) y con NAC a 7 mg/L (b).

Tabla 8. Resultados del modelo lineal para el contenido de clorofila a (Chl *a*) en concentraciones de Vitamina C y combinaciones con NAC a 7 mg/L. El intercepto del modelo fue altamente significativo ( $p < 2.2e-11$ ). Los valores de Chl *a* disminuyeron significativamente con 3.5 mg/L de Vit C ( $p = 0.0212$ ) y con NAC a 7 mg/L ( $p = 0.02133$ ). Sin embargo, la combinación de 3.5 mg/L de Vit C con NAC a 7 mg/L mostró un aumento significativo en Chl *a* ( $p = 0.00189$ ).

---

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	7.6843	0.8304	9.253	2.2e-11 ***
vitc0.7	-0.9662	1.1244	-0.859	0.39542
vitc 3.5	-2.7	1.1244	-2.401	0.02120 *
vitc 7	-2.0058	1.1244	-1.784	0.08224.
nac 7	-2.6972	1.1244	-2.399	0.02133 *
vitc0.7: nac7	2.9409	1.5536	1.893	0.06580.
vitc3.5: nac7	5.1788	1.5536	3.333	0.00189 **
vitc7: nac7	2.0823	1.5536	1.34	0.18791

---

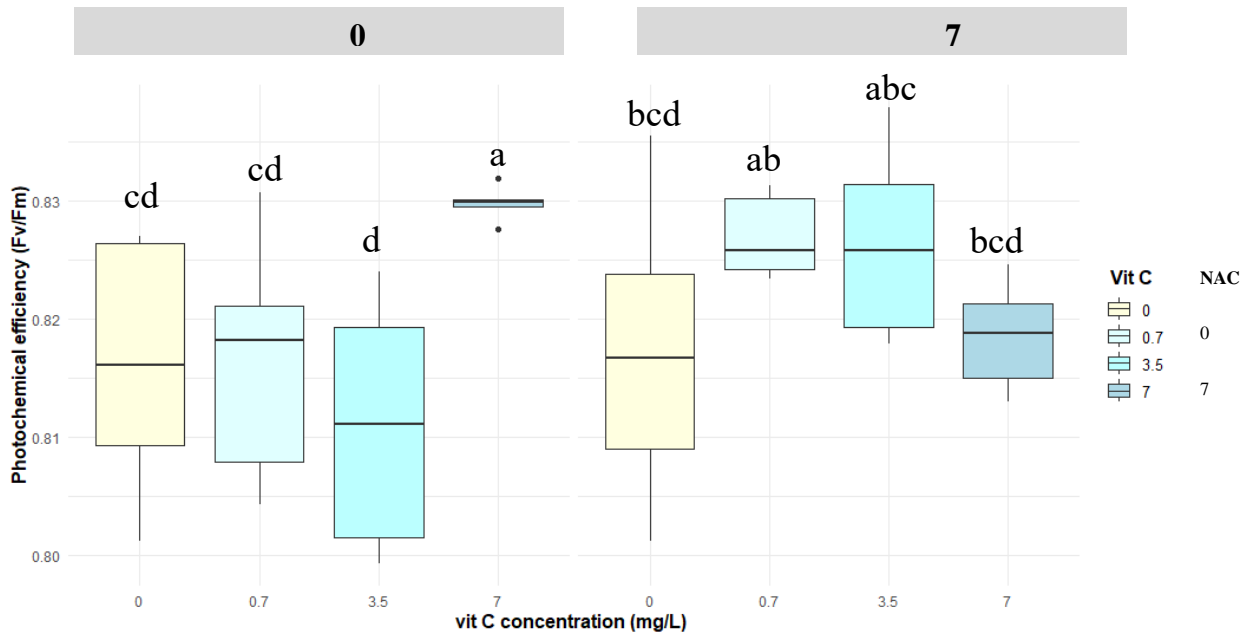


Figura 8. Eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) en *Pocillopora verrucosa*, expuestos a combinación de Vitamina C (VitC) y NAC. Se observó un aumento significativo en los valores de Fv/Fm en los corales expuestos a 7 mg/L de Vit C (a) en comparación con el control y todos los demás tratamientos aislados ( $p < 0.05$ ).

Tabla 9. Resultados del modelo lineal para la eficiencia fotoquímica (Fv/Fm) en corales expuestos a diferentes concentraciones de Vitamina C (Vit C) y NAC. El intercepto del modelo lineal es altamente significativo ( $p < 2e-16$ ). Entre los coeficientes, se observó que la concentración de 7 mg/L de Vit C tuvo un efecto positivo significativo sobre Fv/Fm ( $p = 0.0111$ ).

---

Signif. codes : 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Coefficients:

	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	0.816028	0.003821	213.562	<2e-16 ***
vitc0.7	0.000314	0.005174	0.061	0.9519
vitc 3.5	-0.005016	0.005174	-0.97	0.3383
vitc 7	0.013791	0.005174	2.666	0.0111 *
nac 7	0.001104	0.005174	0.213	0.8322
vitc0.7: nac7	0.00947	0.007149	1.325	0.193
vitc3.5: nac7	0.014188	0.007149	1.985	0.0542.
vitc7: nac7	-0.012397	0.007149	-1.734	0.0908.

---

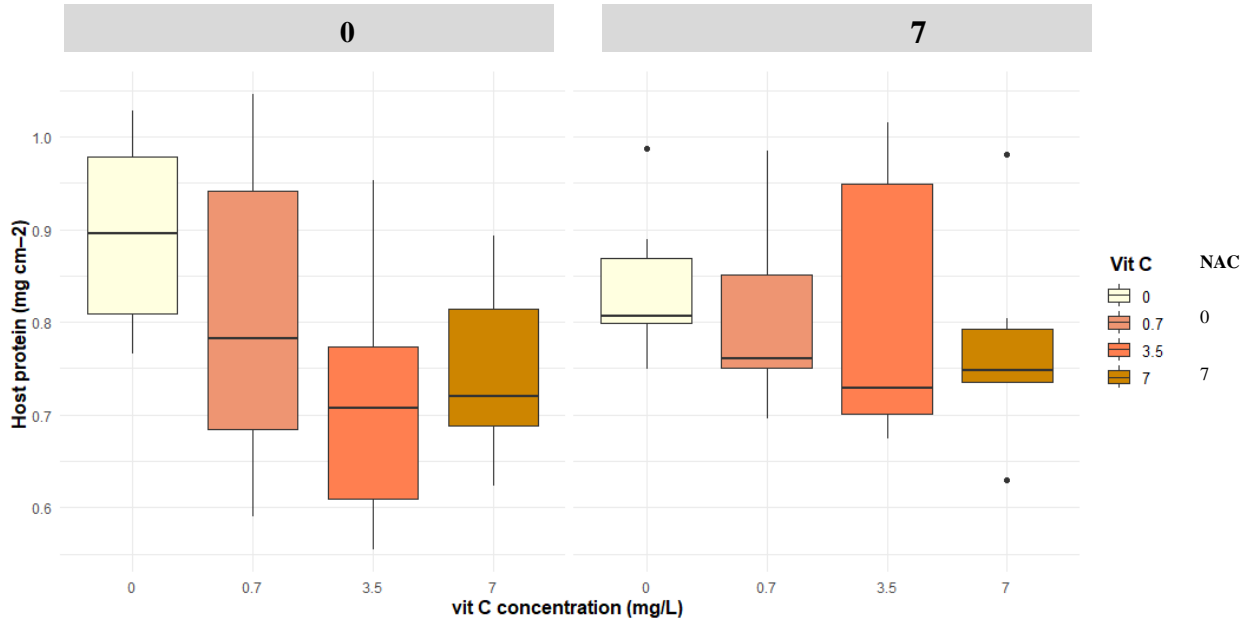


Figura 9. Contenido de Proteínas del coral huésped (mg/cm<sup>2</sup>) en *Pocillopora verrucosa*, expuestos a combinación de Vitamina C (VitC) y NAC. no mostró cambios significativos entre los diferentes tratamientos (ANOVA, p = 0.565).

Tabla 10. Resultados del modelo lineal para el contenido total de proteína en corales expuestos a diferentes concentraciones de Vitamina C (Vit C) y NAC.

<b>Signif. codes : 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1</b>				
<b>Coefficients:</b>				
	Estimate	Std.Error	t value	Pr(> t )
<b>(Intercept)</b>	0.86881	0.05742	15.132	<2e-16 ***
<b>vitc0.7</b>	-0.06095	0.07774	-0.784	0.4378
<b>vitc 3.5</b>	-0.15323	0.07774	-1.971	0.0559.
<b>vitc 7</b>	-0.12212	0.07774	-1.571	0.1243
<b>nac 7</b>	-0.02961	0.07774	-0.381	0.7053
<b>vitc0.7: nac7</b>	0.02659	0.10742	0.248	0.8058
<b>vitc3.5: nac7</b>	0.12395	0.10742	1.154	0.2555
<b>vitc7: nac7</b>	0.05704	0.10742	0.531	0.5984

## DISCUSIÓN

Los resultados de esta investigación proporcionan una comprensión más detallada sobre los efectos de la Vitamina C y la N-acetilcisteína (NAC) en la respuesta fisiológica del coral *Pocillopora verrucosa*. La importancia de una red antioxidante compleja y su papel en la homeostasis celular bajo estrés se ha resaltado en estudios previos, donde la plasticidad de la red antioxidante se muestra crucial para la tolerancia a estrés ambiental (Foyer & Noctor, 2011; Kranner & Birtic, 2005). Otros autores mencionan que la adición experimental de antioxidantes exógenos a corales sometidos a estrés térmico mejoraba la fotosíntesis y mejoraba la respuesta ante el blanqueamiento del coral (Lesser, 1996).

### **Experimento 1: Efectos de la Vitamina C**

El experimento 1 mostró que la exposición a diferentes concentraciones de Vitamina C (0.7, 7, 35 y 70 mg/L) no tuvo un efecto significativo en el contenido de clorofila *a*, contenido de proteína, ni en el potencial de eficiencia fotosintética (Fv/Fm) en *Pocillopora verrucosa* durante las 96 horas de exposición. La falta de efectos significativos sugiere que, la exposición a estas concentraciones, no represento un obstáculo para mantener su proceso fisiológico con normalidad. Esta interpretación está alineada con estudios previos que sugieren que la capacidad de mantener la homeostasis celular bajo estrés depende de la plasticidad de la red antioxidante y su papel en la definición del umbral de aclimatación y resistencia al estrés oxidativo (Krueger et al., 2014).

Aunque no se observaron efectos significativos en este primer experimento, se ha demostrado que la aplicación exógena de Vitamina C puede mejorar ciertos parámetros fisiológicos como en plantas de trigo, donde se ha reportado un aumento en el contenido de clorofila *a* y un mejor crecimiento bajo estrés salino y sequía (Athar et al., 2009; Baghizadeh et al., 2009), así como también se ha demostrado que cumple la función de proteger los lípidos y las proteínas contra la salinidad o los adversarios oxidativos inducidos por la sequía (Khan et al., s. f.2010), Estos resultados sugieren que los mecanismos de acción de la Vitamina C observados en investigaciones anteriores podrían ser replicados en corales, proporcionando una explicación plausible para los efectos observados en este estudio.

Otros estudios mencionan que la vitamina C puede mantener los niveles de ROS dentro de una capacidad tolerable (Shao et al., 2007), esto representa un equilibrio para el organismo, ya que se ha observado que el aumento de dichas moléculas dentro de la célula puede dañar considerablemente el aparato fotosintético, lo que lleva a una disminución más rápida de la actividad fotosintética en los tejidos deficientes en vitamina C, acelerando así la senescencia (Barth et al., 2006).

## **Experimento 2: Efectos de la NAC**

El experimento 2 evidenció que las concentraciones de NAC (0.7, 7, 35 y 70 mg/L) tuvieron un efecto significativo en el incremento del contenido de clorofila a en *Pocillopora verrucosa*, siendo la concentración de 0.7 mg/L la más efectiva ( $p= 0.0493$ ). Este hallazgo sugiere que la NAC puede tener un papel modulador en el metabolismo de los pigmentos fotosintéticos, lo cual es consistente con su función conocida como antioxidante y su capacidad para restaurar la actividad normal del glutatión, un antioxidante crucial en la protección celular (Hosseinjani et al., 2013). La posibilidad de que la NAC promueva la producción de glutatión en los tejidos del coral podría explicar en parte el aumento observado en el contenido de clorofila a, destacando así su potencial como agente modulador de la salud celular en estos organismos.

No obstante, los resultados no revelaron efectos significativos de la NAC en la eficiencia fotosintética ( $F_v/F_m$ ) ni en el contenido de proteínas, ambos manteniéndose relativamente constantes a través de las diferentes concentraciones de NAC evaluadas. Aunque estas variables no respondieron significativamente al tratamiento, se observaron ciertas tendencias que merecen un análisis más profundo en futuras investigaciones. Esto podría estar relacionado con la naturaleza compleja de la NAC en sistemas biológicos, donde su interacción con otros antioxidantes, tanto enzimáticos como no enzimáticos, puede afectar su efectividad (Aldini et al., 2018). Estudios previos indican que para que un antioxidante actúe eficientemente en una matriz biológica, su velocidad de reacción con los oxidantes debe ser mayor que la de los antioxidantes endógenos, y considerablemente más rápida que la de los sustratos celulares (Aldini et al., 2018; Samuni et al., 2013).

Además, aunque NAC es considerada el antioxidante más débil entre los compuestos tiólicos endógenos, posee una ventaja en términos de estabilidad en solución acuosa. Estudios de estabilidad han demostrado que la NAC presenta una baja degradación tanto a temperatura ambiente como en condiciones refrigeradas, con una reducción de 0.89% y 0.48% respectivamente en un periodo de 24 horas (Siddiqui et al., 2016). Este perfil de estabilidad refuerza la viabilidad de NAC como suplemento en estudios con corales, ya que su permanencia en solución asegura una exposición constante durante los experimentos, lo cual es crítico para evaluar su efecto en parámetros fisiológicos y la protección antioxidante en los corales.

## **Experimento 3: Efectos Combinados de la Vitamina C y NAC**

En el experimento 3, se evaluaron los efectos de concentraciones de Vitamina C sola y en combinación con una dosis constante de NAC (7 mg/L para todas las concentraciones de vitamina C). Los resultados indicaron un efecto significativo en el contenido de clorofila a, particularmente en la combinación de 3.5 mg/L de Vitamina C con NAC, que mostró un

aumento mayor en comparación con los tratamientos individuales ( $p=0.00189$ ). Este efecto sugiere que la combinación de Vitamina C y NAC podría tener un papel clave en la protección y recuperación de la salud de los corales bajo condiciones de estrés. Estudios en otros sistemas biológicos, como en modelos de ratas, han mostrado que la terapia combinada de NAC y Vitamina C mejora la regeneración celular y aumenta la actividad antioxidante en casos de estrés extremo, como la pancreatitis aguda (Abdelhafez et al., 2021) lo cual respalda la idea de que una combinación de estos antioxidantes puede tener beneficios importantes para la regeneración y protección celular.

En cuanto a la eficiencia fotosintética (Fv/Fm), se observó una tendencia al aumento en las muestras tratadas con la combinación de 3.5 mg/L de Vitamina C y 7 mg/L de NAC, alcanzando una significancia marginal ( $p = 0.05$ ). Sin embargo, las muestras expuestas solo a 7 mg/L de Vitamina C mostraron un aumento significativo en la eficiencia fotosintética ( $p = 0.0111$ ). Esto sugiere que, si bien la combinación de estos antioxidantes podría potenciar la capacidad fotosintética de los corales, la Vitamina C en concentraciones específicas parece tener un efecto directo más pronunciado en la eficiencia fotosintética.

La tendencia observada en la combinación de antioxidantes es importante de destacar, ya que podría estar indicando efectos que se manifiestan a diferentes escalas y que requieren de observación adicional para determinar sus mecanismos. Además, los resultados individuales refuerzan que la adición de antioxidantes tiene un efecto sobre la concentración de clorofila *a*, sugiriendo que tanto la Vitamina C como la NAC influyen en los parámetros fotosintéticos de los corales de forma dosis-dependiente. Esto se alinea con estudios previos que reportan que la actividad de enzimas antioxidantes, junto con la suplementación de antioxidantes exógenos, puede mejorar la eficiencia fotosintética, incrementando el rendimiento cuántico máximo de PSII (Fv/Fm) y estimulando la actividad de RUBISCO (Athar et al., 2009; Baghizadeh et al., 2009; Lesser, 1996).

A nivel celular, se ha demostrado que la Vitamina C ayuda a mantener los niveles de especies reactivas de oxígeno (ROS) dentro de rangos tolerables, evitando así la acumulación de estos compuestos, que pueden dañar el aparato fotosintético y acelerar la senescencia celular (Shao et al., 2007; Barth et al., 2006). Mientras que otros estudios mencionan que la dosis utilizada para NAC influye mucho en la respuesta observada tanto en pruebas en organismos vivos como en pruebas *in vitro* (Miazek et al., 2022; Tenório et al., 2021).

La ausencia de cambios significativos en el contenido de proteínas en los corales tratados sugiere que las concentraciones probadas no tuvieron efectos adversos notorios, o bien, que existen mecanismos compensatorios en los corales que mantienen un equilibrio proteico. Esto último es particularmente relevante, dado que investigaciones previas señalan que la actividad de la NAC puede verse influenciada por interacciones con otros antioxidantes endógenos, lo que implica la necesidad de considerar interacciones complejas en estudios fisiológicos (Aldini et al., 2018; Tenório et al., 2021). En otros estudios se ha encontrado que NAC puede modificar la estructura o función de proteínas (Tenório et al., 2021), lo cual

podría afectar indirectamente algunos procesos fisiológicos en los corales. Por otro lado, en casos de estrés extremo, la combinación de antioxidantes como Vitamina C y NAC ha mostrado efectos sinérgicos en la mejora de la oxigenación y el balance redox en tejidos afectados, sugiriendo su potencial en la estabilización de los sistemas antioxidantes en organismos en estrés severo (Abdo et al., 2023).

### **Relevancia Ecológica y Aplicaciones Prácticas**

Los resultados de este estudio tienen implicaciones importantes para la conservación de los corales. La capacidad de la NAC para aumentar el contenido de clorofila *a*, sugiere que podría ser útil en estrategias de mitigación del estrés ambiental en los corales. Además, las interacciones observadas entre la Vitamina C y la NAC podrían ser exploradas para desarrollar tratamientos más efectivos que mejoren la resiliencia de los corales a las condiciones adversas, como el calentamiento global y la acidificación de los océanos.

Es fundamental considerar las limitaciones de este estudio, incluyendo el tamaño de la muestra y la variabilidad biológica de los simbioses del coral *P. verrucosa*. Futuros estudios deberían ampliar el número de réplicas y explorar un rango más amplio de concentraciones de antioxidantes. Además, sería valioso investigar los mecanismos moleculares subyacentes a las interacciones observadas entre la Vitamina C y la NAC, así como evaluar los efectos a largo plazo de estos tratamientos en diferentes especies de corales. También es importante considerar el papel del glutatión en la eliminación de peróxidos orgánicos y la señalización celular (Foyer & Noctor, 2011), y cómo esto puede influir en la respuesta de los corales al estrés ambiental.

## CONCLUSION

El estudio sobre el impacto del ácido ascórbico (Vitamina C) y la N-acetilcisteína (NAC) en *Pocillopora verrucosa* muestra que, a concentraciones adecuadas, estos antioxidantes tienen efectos distintos y específicos en la salud y fisiología del coral.

- La vitamina C y NAC no se mostraron tóxicos en concentraciones altas.
- No encontramos un efecto sobre la biomasa del hospedero en ninguno de los tratamientos probados.
- No se observaron cambios significativos en la concentración de clorofila *a*, ni en la eficiencia fotosintética ( $F_v/F_m$ ) en respuesta a diferentes concentraciones de vitamina C. Demostrando que no es tóxico para el metabolismo fotosintético del coral.
- NAC aumentó significativamente la concentración de clorofila *a*, el metabolismo fotosintético del simbionte se vio beneficiado. Aunque no se observó diferencia significativa en ninguna otra prueba para este tratamiento.
- La combinación de vitamina C en concentraciones más bajas (0.7 y 3.5 mg/L) con 7 mg/L de NAC demostró ser beneficiosa, ya que resultó en un aumento significativo tanto en la concentración de clorofila *a* como en la eficiencia fotosintética, superando los efectos observados con los tratamientos individuales.

## RECOMENDACIÓN

- Se recomienda realizar pruebas de conteo de zooxantelas para obtener datos más detallados y robustos sobre la respuesta fisiológica del coral. Este enfoque permitirá evaluar de manera más precisa el impacto de los antioxidantes en la simbiosis entre el coral y sus endosimbiontes, proporcionando una visión más completa de la efectividad de los tratamientos
- Realizar estudios adicionales para entender los mecanismos específicos mediante los cuales la Vitamina C y la NAC afectan la eficiencia fotosintética y la fisiología del coral, incluyendo la evaluación de otros parámetros bioquímicos y moleculares.
- Ampliar la evaluación de toxicidad aguda a un rango más amplio de concentraciones y tiempos de exposición para asegurar que las concentraciones utilizadas no causen efectos adversos en el coral.
- Considerar la realización de estudios en condiciones de campo para validar los resultados obtenidos en el laboratorio y evaluar la aplicabilidad de estos tratamientos en ambientes naturales.
- Explorar la combinación de la administración de antioxidantes con otras estrategias de conservación, como la restauración de hábitats y el manejo de la calidad del agua, para mejorar la resiliencia general de los arrecifes de coral.

## BIBLIOGRAFIA

- Abdelhafez, D., Aboelkomsan, E., El Sadik, A., Lasheen, N., Ashur, S., Elshimy, A., & Morcos, G. N. B. (2021). The Role of Mesenchymal Stem Cells with Ascorbic Acid and N-Acetylcysteine on TNF- $\alpha$ , IL 1 $\beta$ , and NF- $\kappa$  $\beta$  Expressions in Acute Pancreatitis in Albino Rats. *Journal of Diabetes Research*, 2021(1), 6229460. <https://doi.org/10.1155/2021/6229460>
- Abdo, M., Kohaf, N., Hammad, M. A., & Ping, C. C. (2023). The Role of Oral Ascorbic Acid Administration in Combination With IV N-acetylcysteine in Delaying Inflammatory Cascade in Sepsis: A Case Report. *Cureus*, 15(12), e49868. <https://doi.org/10.7759/cureus.49868>
- Akram, N. A., Shafiq, F., & Ashraf, M. (2017). Ascorbic Acid-A Potential Oxidant Scavenger and Its Role in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00613>
- Aldini, G., Altomare, A., Baron, G., Vistoli, G., Carini, M., Borsani, L., & Sergio, F. (2018). N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: The reasons why. *Free Radical Research*, 52(7), 751-762. <https://doi.org/10.1080/10715762.2018.1468564>
- Arakawa, M., & Ito, Y. (2007). N-acetylcysteine and neurodegenerative diseases: Basic and clinical pharmacology. *The Cerebellum*, 6(4), 308-314. <https://doi.org/10.1080/14734220601142878>
- Athar, H.-R., Khan, A., & Ashraf, M. (2009). Inducing Salt Tolerance in Wheat by Exogenously Applied Ascorbic Acid through Different Modes. *Journal of Plant Nutrition*, 32(11), 1799-1817. <https://doi.org/10.1080/01904160903242334>

- Baghizadeh, A., ghorbanli, A., Hajmohamadrezai, M., & Mozafari, M. (2009). Evaluation of interaction effect of drought stress with Ascorbate and salicylic acid on some of physiological and biochemical parameters in okra( *Hbiscus esculentus* L.). *Research Journal of Biological Sciences*.
- Barth, C., De Tullio, M., & Conklin, P. L. (2006). The role of ascorbic acid in the control of flowering time and the onset of senescence. *Journal of Experimental Botany*, 57(8), 1657-1665. <https://doi.org/10.1093/jxb/erj198>
- Bielmyer-Fraser, G. K., Patel, P., Capo, T., & Grosell, M. (2018). Physiological responses of corals to ocean acidification and copper exposure. *Marine Pollution Bulletin*, 133, 781-790. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2018.06.048>
- Buddemeier, R. W., Baker, A. C., Fautin, D. G., & Jacobs, J. R. (2004). The Adaptive Hypothesis of Bleaching. En E. Rosenberg & Y. Loya (Eds.), *Coral Health and Disease* (pp. 427-444). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6\\_24](https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6_24)
- Carballo, J. L., Bautista-Guerrero, E., & Leyte-Morales, G. E. (2008). Boring sponges and the modeling of coral reefs in the east Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 356, 113-122. <https://doi.org/10.3354/meps07276>
- Carpizo-Ituarte, E., Vizcaíno-Ochoa, V., Chi-Barragán, G., Tapia-Vázquez, O., Cupul-Magaña, A. L., & Medina-Rosas, P. (2011). Evidencia de reproducción sexual en los corales hermatípicos *Pocillopora damicornis*, *Porites panamensis* y *Pavona gigantea* en Bahía de Banderas, Pacífico mexicano. *Ciencias marinas*, 37(1), 97-112.
- Chávez-Romo, H. E., & Reyes-Bonilla, H. (2007). Sexual reproduction of the coral *Pocillopora damicornis* in the southern Gulf of California, Mexico. *Ciencias Marinas*, 33(4), 495-501.

- Coffroth, M. A., Lasker, H. R., & Oliver, J. K. (1990). Coral Mortality Outside of the Eastern Pacific During 1982-1983: Relationship to El Niño. En P. W. Glynn (Ed.), *Elsevier Oceanography Series* (Vol. 52, pp. 141-182). Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S0422-9894\(08\)70035-7](https://doi.org/10.1016/S0422-9894(08)70035-7)
- Cortés, J., Enochs, I. C., Sibaja-Cordero, J., Hernández, L., Alvarado, J. J., Breedy, O., Cruz-Barraza, J. A., Esquivel-Garrote, O., Fernández-García, C., Hermosillo, A., Kaiser, K. L., Medina-Rosas, P., Morales-Ramírez, Á., Pacheco, C., Pérez-Matus, A., Reyes-Bonilla, H., Riosmena-Rodríguez, R., Sánchez-Noguera, C., Wieters, E. A., & Zapata, F. A. (2017). Marine Biodiversity of Eastern Tropical Pacific Coral Reefs. En P. W. Glynn, D. P. Manzello, & I. C. Enochs (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific: Persistence and Loss in a Dynamic Environment* (pp. 203-250). Springer Netherlands. [https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4\\_7](https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_7)
- Costantini, D. (2014). *Oxidative Stress and Hormesis in Evolutionary Ecology and Physiology: A Marriage Between Mechanistic and Evolutionary Approaches*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-54663-1>
- D'Croze, L., & O'Dea, A. (2007). Variability in upwelling along the Pacific shelf of Panama and implications for the distribution of nutrients and chlorophyll. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 73(1), 325-340. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2007.01.013>
- Dimond, J. L., Orechovesky, S., Oppenheimer, J., Rodríguez-Ramos, J., & Bingham, B. L. (2017). Fotofisiología y generación de peróxido de hidrógeno de los simbioses dinoflagelados y clorofitos de la anémona de mar *Anthopleura elegantissima*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 489, 43-47. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2017.01.008>

- Dodd, S., Dean, O., Copolov, D. L., Malhi, G. S., & Berk, M. (2008). N-acetylcysteine for antioxidant therapy: Pharmacology and clinical utility. *Expert Opinion on Biological Therapy*, 8(12), 1955-1962. <https://doi.org/10.1517/14728220802517901>
- Eakin, C. M., Sweatman, H. P. A., & Brainard, R. E. (2019). The 2014–2017 global-scale coral bleaching event: Insights and impacts. *Coral Reefs*, 38(4), 539-545. <https://doi.org/10.1007/s00338-019-01844-2>
- Fernandes de Barros Marangoni, L., Ferrier-Pagès, C., Rottier, C., Bianchini, A., & Grover, R. (2020). Unravelling the different causes of nitrate and ammonium effects on coral bleaching. *Scientific Reports*, 10(1), 11975. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-68916-0>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2005). Redox Homeostasis and Antioxidant Signaling: A Metabolic Interface between Stress Perception and Physiological Responses. *The Plant Cell*, 17(7), 1866-1875. <https://doi.org/10.1105/tpc.105.033589>
- Foyer, C. H., & Noctor, G. (2011). Ascorbate and Glutathione: The Heart of the Redox Hub. *Plant Physiology*, 155(1), 2-18. <https://doi.org/10.1104/pp.110.167569>
- Glynn, P. W. (1976). Some Physical and Biological Determinants of Coral Community Structure in the Eastern Pacific. *Ecological Monographs*, 46(4), 431-456. <https://doi.org/10.2307/1942565>
- Hoegh-Guldberg, O. (2004). Coral Reefs and Projections of Future Change. En E. Rosenberg & Y. Loya (Eds.), *Coral Health and Disease* (pp. 463-484). Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6\\_26](https://doi.org/10.1007/978-3-662-06414-6_26)
- Hoegh-Guldberg, O., & Bruno, J. F. (2010). The Impact of Climate Change on the World's Marine Ecosystems. *Science*, 328(5985), 1523-1528. <https://doi.org/10.1126/science.1189930>

- Hoegh-Guldberg, O., Pendleton, L., & Kaup, A. (2019). People and the changing nature of coral reefs. *Regional Studies in Marine Science*, 30, 100699. <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2019.100699>
- Hoegh-Guldberg, O., Poloczanska, E. S., Skirving, W., & Dove, S. (2017). Coral Reef Ecosystems under Climate Change and Ocean Acidification. *Frontiers in Marine Science*, 4. <https://doi.org/10.3389/fmars.2017.00158>
- Hoogenboom, M., Rodolfo-Metalpa, R., & Ferrier-Pagès, C. (2010). Co-variation between autotrophy and heterotrophy in the Mediterranean coral *Cladocora caespitosa*. *Journal of Experimental Biology*, 213(14), 2399-2409. <https://doi.org/10.1242/jeb.040147>
- Hosseinjani, H., Moghaddas, A., & Khalili, H. (2013). N-acetylcysteine for the prevention of non-contrast media agent-induced kidney injury: From preclinical data to clinical evidence. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 69(7), 1375-1390. <https://doi.org/10.1007/s00228-013-1494-8>
- Hughes, T. P., Baird, A. H., Bellwood, D. R., Tarjeta, M., Connolly, S. R., Folke, C., Grosberg, R., Hoegh-Guldberg, O., Jackson, J. B. C., Kleypas, J., Lough, J. M., Marshall, P., Nyström, M., Palumbi, S. R., Pandolfi, J. M., Rosen, B., & Roughgarden, J. (2003). Climate Change, Human Impacts, and the Resilience of Coral Reefs. *Science*, 301(5635), 929-933. <https://doi.org/10.1126/science.1085046>
- Hughes, T. P., Kerry, J. T., & Simpson, T. (2018, febrero 1). *Large-scale bleaching of corals on the Great Barrier Reef*. | *Ecology* | EBSCOhost. <https://doi.org/10.1002/ecy.2092>
- Jeffrey, S. W., & Humphrey, G. F. (1975). Nuevas ecuaciones espectrofotométricas para la determinación de clorofilas a, b, c y c en plantas superiores, algas y fitoplancton

- natural12. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 167(2), 191-194.  
[https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
- Jones, H. G. (1999). Use of thermography for quantitative studies of spatial and temporal variation of stomatal conductance over leaf surfaces. *Plant, Cell & Environment*, 22(9), 1043-1055. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1999.00468.x>
- Khan, A., Ahmad, M. S. A., Athar, R., & Ashraf, M. (s. f.). *INTERACTIVE EFFECT OF FOLIARLY APPLIED ASCORBIC ACID AND SALT STRESS ON WHEAT (TRITICUM AESTIVUM L.) AT THE SEEDLING STAGE*.
- Kranner, I., & Birtić, S. (2005). A Modulating Role for Antioxidants in Desiccation Tolerance1. *Integrative and Comparative Biology*, 45(5), 734-740.  
<https://doi.org/10.1093/icb/45.5.734>
- Krueger, T., Becker, S., Pontasch, S., Dove, S., Hoegh-Guldberg, O., Leggat, W., Fisher, P. L., & Davy, S. K. (2014). Antioxidant plasticity and thermal sensitivity in four types of *Symbiodinium* sp. *Journal of Phycology*, 50(6), 1035-1047.  
<https://doi.org/10.1111/jpy.12232>
- LaJeunesse, T. C., Bonilla, H. R., Warner, M. E., Wills, M., Schmidt, G. W., & Fitt, W. K. (2008). Specificity and stability in high latitude eastern Pacific coral-algal symbioses. *Limnology and Oceanography*, 53(2), 719-727.  
<https://doi.org/10.4319/lo.2008.53.2.0719>
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voelstra, C. R., & Santos, S. R. (2018). Systematic Revision of Symbiodiniaceae Highlights the Antiquity and Diversity of Coral Endosymbionts. *Current Biology*, 28(16), 2570-2580.e6. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.008>

- Lapointe, B. E., Brewton, R. A., Herren, L. W., Porter, J. W., & Hu, C. (2019). Nitrogen enrichment, altered stoichiometry, and coral reef decline at Looe Key, Florida Keys, USA: A 3-decade study. *Marine Biology*, 166(8), 108. <https://doi.org/10.1007/s00227-019-3538-9>
- Lesser, M. P. (1996). Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*, 41(2), 271-283. <https://doi.org/10.4319/lo.1996.41.2.0271>
- Lesser, M. P. (2006). OXIDATIVE STRESS IN MARINE ENVIRONMENTS: Biochemistry and Physiological Ecology. *Annual Review of Physiology*, 68(1), 253-278. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.68.040104.110001>
- Marangoni, L. F. de B., Rottier, C., & Ferrier-Pagès, C. (2021). Symbiont regulation in *Stylophora pistillata* during cold stress: An acclimation mechanism against oxidative stress and severe bleaching. *Journal of Experimental Biology*, 224(3), jeb235275. <https://doi.org/10.1242/jeb.235275>
- Martignago, D. C., Godoy, L., Amaral, A. P., & Oliveira, G. T. (2024). Establishment of oxidative stress biomarkers in oocytes from healthy and bleached scleractinian corals. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 570, 151963. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151963>
- Marty-Rivera, M., Roberson, L. M., & Yudowski, G. A. (2018). *Mitigation of coral bleaching by antioxidants* (p. 281014). bioRxiv. <https://doi.org/10.1101/281014>
- Miażek, K., Beton, K., Śliwińska, A., & Brożek-Pluska, B. (2022). The Effect of  $\beta$ -Carotene, Tocopherols and Ascorbic Acid as Anti-Oxidant Molecules on Human and Animal In Vitro/In Vivo Studies: A Review of Research Design and Analytical Techniques Used. *Biomolecules*, 12(8), Article 8. <https://doi.org/10.3390/biom12081087>

- Osborne, K., Thompson, A. A., Cheal, A. J., Emslie, M. J., Johns, K. A., Jonker, M. J., Logan, M., Miller, I. R., & Sweatman, H. P. A. (2017). Delayed coral recovery in a warming ocean. *Global Change Biology*, 23(9), 3869-3881. <https://doi.org/10.1111/gcb.13707>
- Palacio-Castro, A. M., Herrero, T. B., Brandtneris, V., Snyder, G. A., van Hooidek, R., Maté, J. L., Manzello, D., Glynn, P. W., Fong, P., & Pastelero, A. C. (2023). Increased dominance of heat-tolerant symbionts creates resilient coral reefs in near-term ocean warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 120(8), e2202388120. <https://doi.org/10.1073/pnas.2202388120>
- Pearse, V. B., & Muscatine, L. (1971). Role of symbiotic algae (zooxanthellae) in coral calcification. *The Biological Bulletin*, 141(2), 350-363. <https://doi.org/10.2307/1540123>
- Pinzón, J. H., & LaJEUNESSE, T. C. (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. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04939.x>
- Pinzón, J. H., Sampayo, E., Cox, E., Chauka, L. J., Chen, C. A., Voolstra, C. R., & LaJeunesse, T. C. (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. <https://doi.org/10.1111/jbi.12110>
- Rädecker, N., Pogoreutz, C., Gegner, H. M., Cárdenas, A., Roth, F., Bougoure, J., Guagliardo, P., Wild, C., Pernice, M., Raina, J.-B., Meibom, A., & Voolstra, C. R. (2021). Heat stress destabilizes symbiotic nutrient cycling in corals. *Proceedings of the National*

*Academy of Sciences*, 118(5), e2022653118.  
<https://doi.org/10.1073/pnas.2022653118>

Rodríguez-Troncoso, A. P., Carpizo-Ituarte, E., & Cupul-Magaña, A. L. (2016). Physiological response to high temperature in the Tropical Eastern Pacific coral *Pocillopora verrucosa*. *Marine Ecology*, 37(5), 1168-1175.  
<https://doi.org/10.1111/maec.12392>

Rodríguez-Troncoso, A.-P., Tortolero-Langarica, J.-J.-A., Contreras-Medellín-López, P., Canizales-Flores, H.-M., Godínez-Domínguez, E., Cupul-Magaña, A.-L., Rodríguez-Troncoso, A.-P., Tortolero-Langarica, J.-J.-A., Contreras-Medellín-López, P., Canizales-Flores, H.-M., Godínez-Domínguez, E., & Cupul-Magaña, A.-L. (2023). Evaluación de los indicadores demográficos de *Pocillopora* (Scleractinia: Pocilloporidae) en sitios insulares vs. costeros: implicaciones para un programa de restauración regional. *Revista de Biología Tropical*, 71.  
<https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop..v71is1.54790>

Romero-Torres, M., Acosta, A., Palacio-Castro, A. M., Treml, E. A., Zapata, F. A., Paz-García, D. A., & Porter, J. W. (2020). Coral reef resilience to thermal stress in the Eastern Tropical Pacific. *Global Change Biology*, 26(7), 3880-3890.  
<https://doi.org/10.1111/gcb.15126>

Roth, M. S. (2014). The engine of the reef: Photobiology of the coral–algal symbiosis. *Frontiers in microbiology*, 5, 97199.

Samuni, Y., Goldstein, S., Dean, O. M., & Berk, M. (2013). The chemistry and biological activities of N-acetylcysteine. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(8), 4117-4129. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.04.016>

- Schmidt-Roach, S., Lundgren, P., Miller, K. J., Gerlach, G., Noreen, A. M. E., & Andreakis, N. (2013). Assessing hidden species diversity in the coral *Pocillopora damicornis* from Eastern Australia. *Coral Reefs*, 32(1), 161-172. <https://doi.org/10.1007/s00338-012-0959-z>
- Shao, H.-B., Chu, L.-Y., Lu, Z.-H., & Kang, C.-M. (2007). Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plant cells. *International Journal of Biological Sciences*, 4(1), 8-14.
- Sheppard, C., Davy, S., Pilling, G., & Graham, N. (2017). *The Biology of Coral Reefs*. Oxford University Press.
- Siddiqui, M. R., Wabaidur, S. M., Ola, M. S., AlOthman, Z. A., Rafiquee, M. Z. A., & Khan, M. A. (2016). High-Throughput UPLC–MS Method for the Determination of N-Acetyl-l-Cysteine: Application in Tissue Distribution Study in Wistar Rats. *Journal of Chromatographic Science*, 54(7), 1244-1252. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmw060>
- Smale, D. A., Wernberg, T., Oliver, E. C. J., Thomsen, M., Harvey, B. P., Straub, S. C., Burrows, M. T., Alexander, L. V., Benthuyzen, J. A., Donat, M. G., Feng, M., Hobday, A. J., Holbrook, N. J., Perkins-Kirkpatrick, S. E., Scannell, H. A., Sen Gupta, A., Payne, B. L., & Moore, P. J. (2019). Marine heatwaves threaten global biodiversity and the provision of ecosystem services. *Nature Climate Change*, 9(4), 306-312. <https://doi.org/10.1038/s41558-019-0412-1>
- Stimson, J., & Kinzie, R. A. (1991). Patrón temporal y tasa de liberación de zooxantelas del coral de arrecife *Pocillopora damicornis* (Linnaeus) en condiciones de enriquecimiento y control de nitrógeno. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 153(1), 63-74. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(05\)80006-1](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(05)80006-1)

- Stranges, S., Cuervo-Robayo, A. P., Martínez-Meyer, E., Morzaria-Luna, H. N., & Reyes-Bonilla, H. (2019). [Http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1870-34532019000100613&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1870-34532019000100613&lng=es&nrm=iso&tlng=es). *Revista mexicana de biodiversidad*, 90. <https://doi.org/10.22201/ib.20078706e.2019.90.2696>
- Tenório, M. C. dos S., Graciliano, N. G., Moura, F. A., Oliveira, A. C. M. de, & Goulart, M. O. F. (2021). N-Acetylcysteine (NAC): Impacts on Human Health. *Antioxidants*, 10(6), Article 6. <https://doi.org/10.3390/antiox10060967>
- Walther-Mendoza, M., Reyes-Bonilla, H., LaJeunesse, T. C., & López-Pérez, A. (2016). Distribución y diversidad de dinoflagelados simbióticos en corales pétreos de la costa de Oaxaca, Pacífico de México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87(2), 417-426. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.03.007>
- Wilkinson, C. C. (2004). *Status of the world's coral reefs: 2004*. Australian Institute of Marine Science (AIMS).
- Zechmann, B. (2011). Subcellular distribution of ascorbate in plants. *Plant Signaling & Behavior*, 6(3), 360-363. <https://doi.org/10.4161/psb.6.3.14342>