

**Caracterización *in silico* de sistemas Histidina cinasas de dos componentes en la familia Symbiodiniaceae**

**Diego Enrique Carrillo Ruíz**

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas

Universidad de Pamplona

Pamplona, Colombia

2021

**Caracterización *in silico* de sistemas Histidina cinasas de dos componentes en la familia Symbiodiniaceae**

**Diego Enrique Carrillo Ruíz**

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Biólogo

Directores:

**Dr. Luis Parmenio Suescún Bolívar**

Facultad de Ciencias Básicas – Universidad de Pamplona  
Instituto de Ciencias del Mar y Limnología – UNAM

**Dr. Daniel Iván Barrera Valderrama**

Facultad de Ciencias Básicas – Universidad de Pamplona

Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Básicas

Universidad de Pamplona

Pamplona, Colombia

2021

## **Agradecimientos**

Al programa de Biología, en especial a aquellos docentes que de algún modo influyeron y enaltecieron mi formación académica en las ciencias básicas. Igualmente, a Rosita por estar siempre dispuesta ante cualquier duda y problema con los estudiantes y el programa.

A mi grandiosa familia, padre, madre y hermanos, por su apoyo incondicional durante toda mi formación personal y profesional.

Al Dr. Luis Parmenio, por ser un excelente docente y un gran apoyo durante la elaboración de este trabajo.

A las personas que durante mi estancia universitaria compartieron su valioso tiempo y conocimiento conmigo.

## Abreviaturas

**BLAST:** *Basic Local Alignment Search Tool*. El software compara secuencias problema en busca de secuencias con valor estadístico similar en una base de datos.

**CA:** *Catalytic ATP-binding*. Dominio catalítico y de unión a ATP.

**CHASE:** *Cyclases/Histidine kinase Associated Sensory Extracellular*.

**DHp:** *Dimerization Histidine phosphotransfer*. Dominio de dimerización y fosfotransferencia de histidina.

**EBI:** *The European Bioinformatics Institute*. Centro europeo de investigación en informática.

**HK:** *Histidine Kinase*.

**MAPK:** Mitogen Activated Protein (MAP) Kinases.

**ML:** *Maximum Likelihood*. Árbol filogenético de máxima verosimilitud.

**NCBI:** *National Center for Biotechnology Information*. Centro nacional para la información biotecnológica.

**NJ:** *Neighbor-Joining*. Método de unión de vecinos para realizar análisis filogenéticos.

**REC:** *Receiver*. Dominio conservado del motivo D, de proteínas RR

**RR:** *Response Regulators*. Proteínas reguladoras de respuesta

**SAR:** clado de protistas conformado por los superfilos Stramenopiles, Alveolata y Rhizaria

**Sln1:** *Synthetic Lethal of N-end rule*. Proteína osmosensible histidina quinasa en levaduras.

**SDC:** Proteínas Sistemas de Dos Componentes.

## Glosario

**Cnidario:** filo de animales invertebrados caracterizados por presentar células urticantes (cnidocitos).

**Endolítico:** organismo que viven dentro de cavidades rocosas.

**Estrés:** alteraciones que se producen en determinado organismo como respuesta física ante determinados estímulos externos e internos.

**Holobionte:** unidad ecológica conformada por asociaciones entre diferentes organismos.

**Hospedero:** organismo que aloja a otro organismo de diferente especie, generalmente en su interior.

**Microalga:** microorganismo microscópico generalmente fotosintético.

**Simbiosoma:** organelo de membranas donde se alberga un simbiote dentro de otro organismo.

**Zooxantela:** término utilizado para referirse a microorganismos simbiotes, principalmente a los protistas de la familia Symbiodiniaceae.

## Tabla de contenido

1. Resumen.....	1
2. Abstract .....	2
3. Introducción .....	3
4. Antecedentes. ....	5
4.1. Características de la familia Symbiodiniaceae y sus hospederos Cnidarios .....	5
4.2. Sistemas Histidina Cinasas de Dos Componentes .....	6
4.3. Histidinas Cinasas en eucariotas.....	8
5. Objetivos .....	11
5.1. Objetivo general.....	11
5.2. Objetivos específicos .....	11
6. Materiales y métodos .....	12
6.1. Búsqueda de secuencias de proteínas Histidina Cinasas .....	12
6.2. Análisis filogenéticos y construcción de árboles filogenéticos .....	13
6.3. Predicción de dominios conservados y ubicación subcelular de cada HK de Symbiodiniaceae.....	13
7. Resultados.....	14
7.1. Proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae y dinoflagelados .....	14
7.2. Análisis filogenético.....	20
7.3. Predicción de dominios conservados y ubicación subcelular de cada HK de Symbiodiniaceae.....	24
8. Discusión.....	31
8.1. Proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae y Dinophyceae .....	31
8.2. Análisis filogenético de proteínas HK.....	33
8.3. Predicción de la ubicación subcelular, dominios y función de cada HK de Symbiodiniaceae.....	34
9. Conclusiones .....	37
10. Referencias bibliográficas .....	38
11. Datos suplementarios.....	46

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b> Filogenia de géneros representativos de la familia Symbiodiniaceae.....	6
<b>Figura 2.</b> Modelos generales de proteínas Histidina Cinasas de dos componentes .....	7
<b>Figura 3.</b> Alineación múltiple de motivos conservados de HK en Symbiodiniaceae.....	16
<b>Figura 4.</b> Alineación múltiple de motivos conservados de HK microalgas de la clase Dinophyceae a excepción de la familia Symbiodiniaceae.....	18
<b>Figura 5.</b> Árbol filogenético inferido por análisis de máxima verosimilitud (ML) de proteínas HK simples e híbridas de la familia Symbiodiniaceae y demás Dinoflagelados.....	23
<b>Figura 6.</b> Ubicación subcelular de proteínas Histidina Cinasas en dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae .....	24
<b>Figura 7.</b> Ubicación subcelular de proteínas HK simples e híbridas en la familia Symbiodiniaceae .....	28
<b>Figura 8.</b> Ubicación subcelular de proteínas HK de la clase Dinophyceae .....	29
<b>Figura 9.</b> Dominios conservados más frecuentes en proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae .....	30
<b>Figura 10.</b> Dominios conservados más frecuentes en proteínas Histidina Cinasas en Dinophyceae .....	30

## Índice de tablas suplementarias

<b>Figura suplementaria 1.</b> Comparación de árboles filogenéticos de proteínas HK simples en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae.....	55
<b>Figura suplementaria 2.</b> Comparación de árboles filogenéticos de proteínas HK híbridas en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae .....	55

## Índice de tablas

<b>Tabla 1.</b> Sistema Histidina cinasa de dos componentes en otros grupos taxonómicos. ...	9
<b>Tabla 2.</b> Grupos de proteínas Histidina Cinasas con la estructura de sus dominios, ocurrentes en clados eucariotas .....	10
<b>Tabla 3.</b> Cepas de las 13 microalgas dinoflageladas pertenecientes a la familia Symbiodiniaceae .....	14
<b>Tabla 4.</b> Características de proteínas Histidina Cinasas en las 6 órdenes de microalgas de la clase Dinophyceae, excepto las microalgas de la familia Symbiodiniaceae .....	19

## Índice de tablas suplementarias

<b>Tabla suplementaria 1.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 36 genotipos de <i>Symbiodinium</i> sp.....	46
<b>Tabla suplementaria 2.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 16 genotipos de <i>Symbiodinium microadriaticum</i> .....	48
<b>Tabla suplementaria 3.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 2 genotipos de <i>Symbiodinium natans</i> .....	48
<b>Tabla suplementaria 4.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 6 genotipos de <i>Symbiodinium necroappetens</i> .....	49
<b>Tabla suplementaria 5.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 6 genotipos de <i>Symbiodinium pilosum</i> .....	49
<b>Tabla suplementaria 6.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 27 genotipos de <i>Symbiodinium tridacnidorum</i> .....	49
<b>Tabla suplementaria 7.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 6 genotipos de <i>Breviolum minutum</i> .....	50
<b>Tabla suplementaria 8.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 25 genotipos de <i>Cladocopium</i> sp. ....	51
<b>Tabla suplementaria 9.</b> Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en los 2 genotipos de <i>Fugacium kawagutii</i> .....	52
<b>Tabla suplementaria 10.</b> Ubicación subcelular de proteínas histidina cinasas en 50 genotipos Dinoflagelados. ....	52
<b>Tabla suplementaria 11.</b> Subconjunto de secuencias histidina cinasas simples e híbridas en otros grupos taxonómicos. ....	54

## 1. Resumen

Las vías de transducción de señales son fundamentales para el funcionamiento celular, así como, para el establecimiento, desarrollo y sostenimiento de la relación simbiótica mutualista Cnidaria-Symbiodiniaceae. Algunas de las proteínas de la familia Histidina Cinasas (HK) de dos componentes, podrían ser parte de la vía de transducción de señales encargada de la producción de glicerol, uno de los principales fotosintetatos transferidos por Symbiodiniaceae hacia sus hospederos cnidarios. Estas proteínas presentan dominios de sensibilización (DHp y CA) y un dominio de respuesta (RR), y pueden actuar como receptores mecánicos, foto- y quimio-receptores tanto en procariotas como en eucariotas (excepto animales y parásitos). Esta característica de recepción se debe a los diferentes eventos evolutivos que han convergido en la formación de proteínas HKs, ya que han ganado diversos dominios de proteínas a través de transferencia horizontal, duplicación y fusión de genes. Debido a lo anterior, las proteínas histidina cinasas pueden encontrarse como proteínas híbridas (con la adición de un dominio receptor REC) o simples conformadas únicamente por los dominios de sensibilización. Sin embargo, se desconoce la diversidad total y las características estructurales de las proteínas HK en la familia de microalgas dinoflageladas Symbiodiniaceae. Por tal motivo, se realizó una caracterización de proteínas Histidina Cinasas simples e híbridas en la familia Symbiodiniaceae y en la clase Dinophyceae con estilos de vida libre y simbiontes. Se construyeron filogenias de estas proteínas y se analizó la relación filogenética entre todas las proteínas respecto a la presencia de los dominios conservados. Además, por medio de análisis *in silico*, se caracterizó la ubicación subcelular de estas proteínas.

En este trabajo se identificaron y caracterizaron filogenéticamente secuencias de proteínas Histidinas cinasas obtenidas de transcriptomas y genomas de protistas dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae, encontrándose una prevalencia de las HKs en microalgas que tienen una relación simbiótica con cnidarios escleractinios.

**Palabras clave:** Transducción de señales, histidina cinasas, simbiosis, Symbiodiniaceae, *in silico*.

## 2. Abstract

The signal transduction pathways are essential for cell function, as well as for the establishment, development, and maintenance of the mutualistic symbiotic relationship Cnidaria-Symbiodiniaceae. Some of the proteins of the two-component Histidine Kinase (HK) family could be part of the signal transduction pathway responsible for the production of glycerol, one of the main photosynthates transferred by Symbiodiniaceae to its cnidarian hosts. These proteins have sensitization domains (DHP and CA) and a response domain (RR) and can act as mechanical receptors, photo- and chemo-receptors in both prokaryotes and eukaryotes (except animals and parasites). This reception characteristic is due to the different evolutionary events that have converged in the formation of HKs proteins since they have gained various protein domains through horizontal transfer, duplication, and gene fusion. Due to the above, histidine kinases, proteins can be found as hybrid proteins (with the addition of a REC receptor domain) or simple proteins made up solely of the sensitization domains. However, the full diversity and structural characteristics of HK proteins in the dinoflagellate microalgae family Symbiodiniaceae are unknown. For this reason, a characterization of simple and hybrid Histidine Kinases proteins was carried out in the Symbiodiniaceae family and the Dinophyceae class with free lifestyles and symbionts. Phylogenies of these proteins were constructed and the phylogenetic relationship between all proteins was analyzed for the presence of conserved domains. Furthermore, using *in silico* analysis, the subcellular location of these proteins was characterized.

In this work, histidine kinase protein sequences obtained from transcriptomes and genomes of dinoflagellate protists of the Symbiodiniaceae family and Dinophyceae class were identified and phylogenetically characterized, finding a prevalence of HKs in microalgae that have a symbiotic relationship with scleractinian cnidarians.

**Keywords:** Signal transduction, histidine kinases, symbiosis, Symbiodiniaceae, *in silico*.

### 3. Introducción

La relación simbiótica Cnidario-Symbiodiniaceae es la base fundamental para el desarrollo y mantenimiento de los arrecifes de coral. En esta simbiosis, los corales hospederos obtienen el 95% de los productos resultantes de la fotosíntesis de los simbiontes, principalmente en forma de glicerol, glucosa, péptidos y aminoácidos, así como una gran cantidad de carbono orgánico que favorece el proceso de calcificación, permitiendo a los pólipos de las colonias de coral construir los arrecifes coralinos (Muscatine, 1967; Trench, 1971). Por su parte, las microalgas absorben y reciclan nutrientes inorgánicos como nitrógeno y fósforo provenientes del metabolismo del hospedero (Muller-Parker et al., 1996; Yellowlees et al., 2008), necesarios para la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas y, por ende, en el proceso de fotosíntesis.

El incremento en la fijación de carbono, producción y translocación de fotosintetatos, se puede inducir en Symbiodiniaceae, tanto en vida libre como en simbiosis, bajo diferentes tipos de estrés (Hillyer et al., 2018; Ochsenkühn et al., 2017; Suescún-Bolívar et al., 2016). Este hecho llevó a Suescún-Bolívar y Thomé a proponer la existencia de la participación de diferentes vías de transducción de señales involucradas en el “sensado” de estos cambios medioambientales (Suescún-Bolívar 2018), que desencadenan una respuesta fisiológica con el fin de proteger el aparato fotosintético de un desbalance redox (Suescún-Bolívar, 2018; Suescún-Bolívar y Thomé, 2015).

Dentro de las posibles vías de transducción de señales, se ha reportado que una vía MAPK tipo p38 homóloga a la ruta HOG (High Osmolarity Glycerol), podría estar involucrada en la síntesis de glicerol en microalgas simbiontes de corales escleractinios, bajo estrés osmótico o de nutrientes (Suescún-Bolívar, 2018). En levaduras, la activación de la ruta HOG es controlada principalmente por un osmosensor llamado Sln1 (Brewster y Gustin, 2014). El osmosensor Sln1, es una proteína de dos componentes transmembranal tipo histidina cinasa (HK), que actúa como un receptor capaz de modular varias señales medioambientales, debido a su característica evolutiva de formar proteínas híbridas con diversos motivos proteicos que confieren la especialidad en la recepción de la señal (Saito, 2001).

La razón por la cual las proteínas Histidina cinasas han sido objeto de estudio en todo tipo de vida, se debe a la gran cantidad de funciones que desempeñan en procesos indispensables en las vías metabólicas (reducción de nitrógeno y síntesis de glicerol), procesos de acción frente a cambios ambientales ya sean por luz, oxígeno, osmolaridad y temperatura, así como receptores de fitohormonas (etileno y citocininas) en plantas (Kabbara et al., 2019; Hérivaux et al., 2016). Sin embargo, no existen estudios referentes a proteínas HK en la familia Symbiodiniaceae, y se desconoce si la diversidad y complejidad de estas proteínas, se relacionan con el estilo de vida de las microalgas.

En este trabajo, se caracterizaron las proteínas Histidina Cinasas en dinoflagelados simbioses y de vida libre de la familia Symbiodiniaceae, encontradas en genomas y transcriptomas publicados. Se realizaron análisis filogenéticos encontrando que existen dos posibles grupos de HK, y se describen los posibles sitios subcelulares en dónde se ubican, así como, su función en el contexto de la relación simbiótica Symbiodiniaceae-Cnidaria.

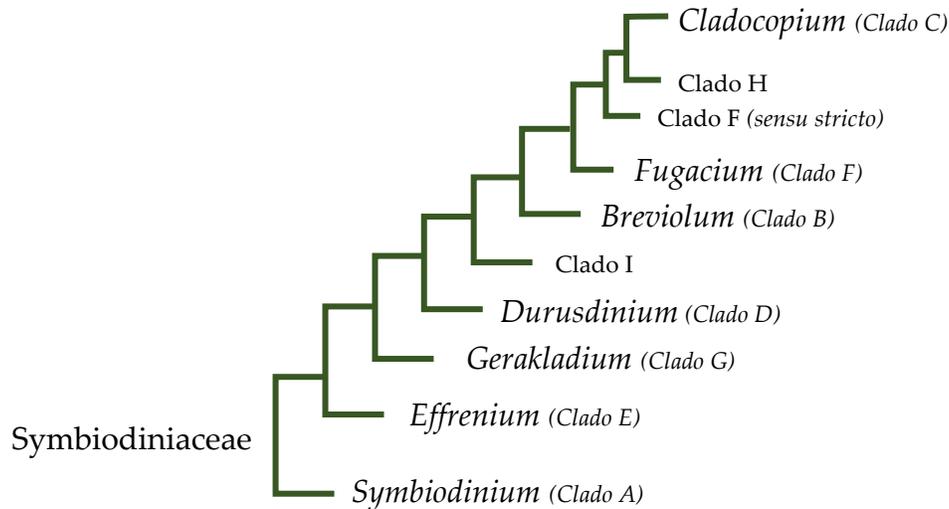
## 4. Antecedentes.

### 4.1. Características de la familia Symbiodiniaceae y sus hospederos Cnidarios

El phylum Cnidaria, se caracteriza porque sus organismos presentan cnidocitos (células urticantes) y simetría radial. Se compone de cuatro clases, Anthozoa (anémonas y corales), Hydrozoa (hidras), Scyphozoa y Cubozoa (medusas). Son organismos diblásticos y anatómicamente se componen por dos capas celulares, el ectodermo (epidermis) y endodermo (gastrodermis); separadas por una capa acelular de consistencia gelatinosa que sirve de sostén e intercambio de sustancias (Fautin, 2009). Comúnmente, las especies de cnidarios albergan algas dinoflageladas de la familia Symbiodiniaceae en vacuolas (simbiosomas) (Hu et al., 2020).

Los dinoflagelados (clase Dinophyceae) son organismos protistas flagelados con un movimiento rotatorio libre y cubiertos con placas de celulosa, (Hoek et al., 1995; LaJeunesse et al., 2018). Conocidos por ser los protagonistas de las mareas rojas alrededor del mundo (Kang et al., 2021) y por ser comúnmente las microalgas en relación simbiótica con corales escleractinios; presentan nutrición autótrofa, heterótrofa o mixta (Nybakken, 1993). Las algas dinoflageladas de esta familia pueden vivir libres en la columna de agua y establecer simbiosis mutualista con otros phyla de invertebrados marinos, entre estos, Porifera, Mollusca y Platyhelminthes, y con protistas como Foraminifera y ciliados (LaJeunesse et al., 2018; Pawlowski et al., 2001; Trench, 1979).

Anteriormente, la familia Symbiodiniaceae estaba conformada únicamente por el género *Symbiodinium* y todas las especies se determinaban dentro del mismo. Ahora, la familia alberga siete géneros, descritos de acuerdo a su genética y ecología; *Symbiodinium*, (Gert Hansen y Daugbjerg, 2009); *Breviolum*, (J.E. Parkinson y LaJeunesse, 2018); *Cladocopium*, (LaJeunesse y H.J. Jeon, 2018); *Durusdinium*, (LaJeunesse, 2018); *Effrenium*, (LaJeunesse y H.J. Jeong, 2018); *Fugacium*, (LaJeunesse, 2018); *Gerakladium*, (LaJeunesse, 2018) (LaJeunesse et al., 2018) (Fig. 1).



**Figura 1.** Filogenia de géneros representativos de la familia Symbiodiniaceae, basado en ADNr de la subunidad nuclear grande (LSU), propuesto por LaJeunesse y colaboradores (2018).

La historia evolutiva de Symbiodiniaceae coincide con la diversificación adaptativa y crecimiento de los arrecifes de coral a mediados del periodo Jurásico medio. Durante este tiempo, la simbiosis coral-algas presentó una radiación adaptativa cuando los invertebrados empezaron la construcción de estructuras arrecifales; dando lugar a los géneros y clados actuales de Symbiodiniaceae (Fig. 1), junto a los arrecifes de coral modernos (LaJeunesse et al., 2018; Simpson et al., 2011).

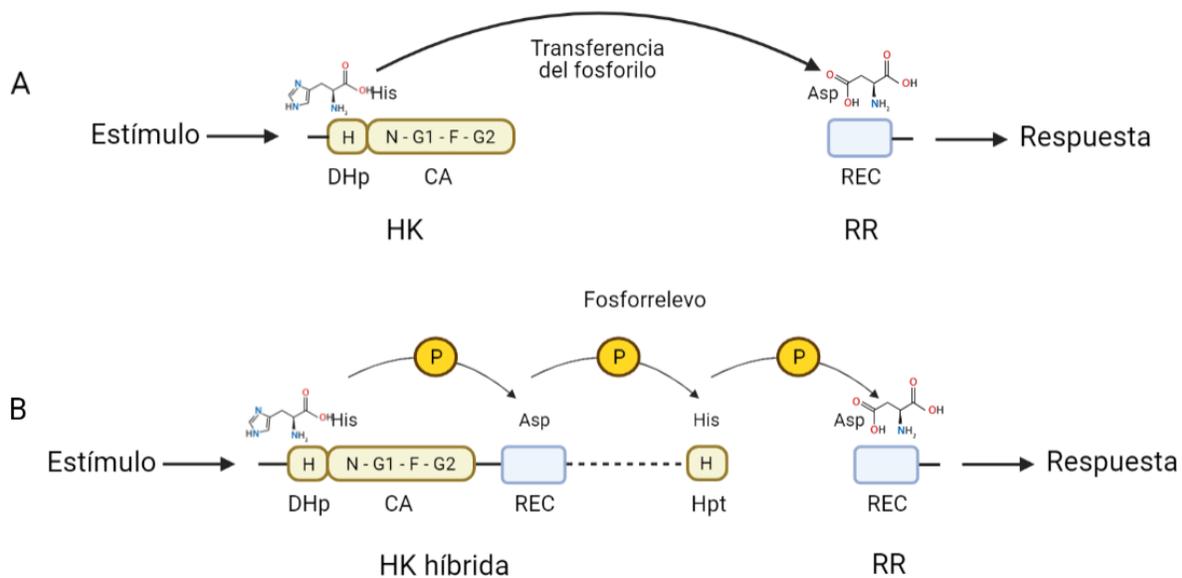
Los transcriptomas de especies de la familia Symbiodiniaceae, sugieren que en especies del mismo género y en cepas de una misma especie, con tiempos de divergencia cortos, existe una alta cantidad de genes ortólogos, producto de la duplicación de genes; mientras que las especies pertenecientes a diferentes géneros con un tiempo de divergencia mayor, comparten menos genes ortólogos (LaJeunesse et al., 2018).

#### 4.2. Sistemas Histidina Cinasas de Dos Componentes

Desde el momento en que se descubrió que los Sistemas de Dos Componentes (SDC) cumplían un rol dentro de una vía de transducción de señales, estas proteínas se han estudiado en diferentes campos de la biología en hongos, arqueas, plantas y bacterias, siendo en estas últimas, una de las principales proteínas sensoras de estímulos extracelulares (Stock et al., 2000). Los SDC se clasifican en cinco grupos según el aminoácido aceptor de fosfato específico: histidina cinasa (HK), serina-

treonina cinasa (STK), cisteína cinasa (CK), tirosina cinasa (TK) y aspartil o glutamil cinasas (AK) (Sharan et al., 2017).

Las HK de dos componentes actúan como un acoplamiento básico estímulo-respuesta, permitiendo a los organismos detectar los cambios del medio externo y así obtener una respuesta rápida frente al estímulo (Stock et al., 2000). Estas proteínas (Fig. 2A), presentan un núcleo de cinasa (HK) conservado, encargado de detectar las señales extracelulares que activan el sistema, un dominio transmisor conformado por un motivo de unión a ATP (CA) y un motivo de dimerización y fosfotransferencia de histidina (DHp), que se fosforila en un residuo de histidina (H) (Hérivaux et al., 2016; Kabbara et al., 2019). Por su parte, las proteínas Histidinas cinasas híbridas adicionalmente, presentan una proteína reguladora de respuesta (RR) (Kabbara et al., 2019), que actúan como un mecanismo de fosforrelevo, de un grupo fosfato que se transfiere desde la histidina presente en el dominio HK, hacia un residuo de aspartato; ubicado en un motivo receptor de la proteína reguladora de respuesta.



**Figura 2.** Modelos generales de proteínas Histidina Cinasas de dos componentes. (a) mecanismo estímulo-respuesta de una proteína HK simple; (b) mecanismo de fosforrelevo proteína HK híbrida. CA, dominio catalítico y de unión a ATP; DHp, dimerización y fosfotransferencia de histidina; Hpt, fosfotransferencia de histidina a distancia; REC, dominio receptor; Motivos: H (histidina), N (asparagina), G1 y G2 (glicina), F (Fenilalanina). RR, regulador de respuesta. Modificado de (Kabbara *et al.*, 2019). Creado con BioRender.com

En las HK híbridas antes de finalizar el fosforrelevo, en algunos casos, un dominio de fosfotransferencia de histidina (hpt2) media el paso del grupo fosfato desde la región estimulada hacia la proteína reguladora de respuesta.

La mayor parte del grupo de proteínas HK son homodiméricas y se unen a la membrana con un dominio de cinasa citoplasmática C-terminal, unido a un dominio de detección periplasmático N-terminal. Este dominio de detección es de secuencia variable debido a los diferentes estímulos específicos para cada señal ambiental a las que responden las HK. Mientras que el dominio citoplasmático se encuentra altamente conservado, en el cual es posible la identificación de un grupo de motivos designados como H (histidina), N (asparagina), G1 y G2 (glicina), F (Fenilalanina) nombrados así por la característica de sus residuos (Hérivaux et al., 2016; Kabbara et al., 2019). El motivo H actúa como sitio de autofosforilación presente entre el N-terminal. Los otros cuatro motivos se encuentran en medio del C-terminal, mientras que en la región reguladora se encuentra un motivo adicional, el motivo D (ácido aspártico) (Fig. 2A y 2B).

### **4.3. Histidinas Cinasas en eucariotas**

Cuando se describió por primera vez la existencia de una proteína histidina cinasa en *Escherichia coli* (Mizuno et al., 1982), se pensó que estas proteínas se encontraban únicamente en organismos procariotas; hasta que, Chang y colaboradores (1993), Ota y Varshavsky (1993), describieron homólogos de esas proteínas en plantas y hongos, respectivamente. Desde entonces, estas proteínas se han encontrado en todos los reinos de la vida, a excepción de animales y aparentemente en parásitos apicomplejos (Kabbara et al., 2018) y hasta hace poco en microalgas dinofíceas (Tabla 1) (Suescún-Bolívar y Thomé, 2015; Suescún-Bolívar, 2018).

**Tabla 1.** Sistema Histidina cinasa de dos componentes en otros grupos taxonómicos.

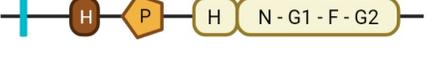
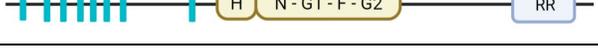
<b>Organismo</b>	<b>Características</b>	<b>Referencias</b>
Hongos y levaduras	Relacionadas con la osmorregulación, en algunos casos en el desarrollo de hifas.	(Mideros Mora, 2021; Wuichet et al., 2010)
Plantas	En plantas las histidinas cinasas son muy diversas, divididas en 3 grupos de acuerdo a su función como osmosensores, receptores de etileno y receptores de hormonas como citocininas.	(Álvarez y Georgellis, 2016; Kabbara et al., 2018).
Protistas	Se conocen en amebas sociales, implicadas en la embriogénesis.	(Papon y Stock, 2019; Terán-Melo et al., 2019)
Bacterias	Se han encontrado SDC en la mayoría de las bacterias y son unas de las principales proteínas sensoras de estímulos extracelulares.	(Barba-Ostria, 2014, Stock et al., 2000)
Dinoflagelados	Se encontraron histidinas cinasas en <i>Breviolum minutum</i> involucradas en la síntesis de glicerol, al igual que <i>Symbiodinium microadriaticum</i> y <i>Fugacium kawagutii</i> .	(Suescún-Bolívar y Thomé, 2018)

En todos los organismos nombrados en esta tabla es posible encontrar proteínas HK simples e híbridas en sus respectivos genomas.

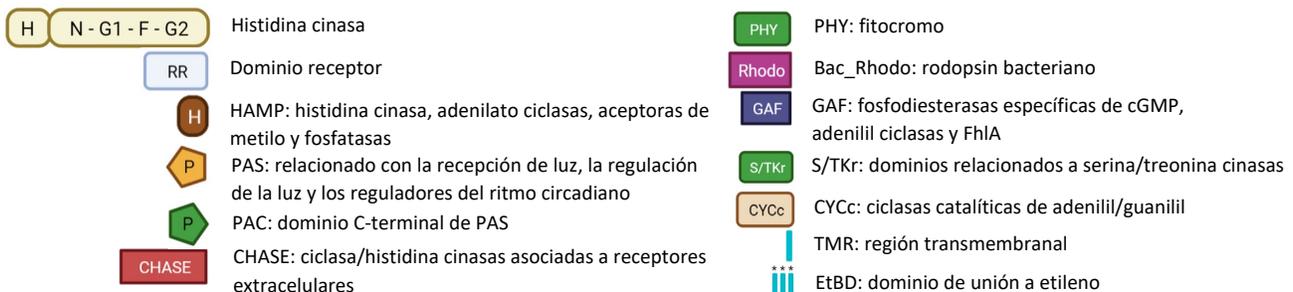
En procariotas, se conoce que las proteínas HK actúan en las vías metabólicas del nitrógeno y glucosa, y en procesos de adaptación a cambios en el medio ambiente como luz, temperatura, oxígeno y osmolaridad, entre otros (Mascher et al., 2006). En eucariotas, las histidinas cinasas se relacionan con la osmorregulación, desarrollo de gametofitos, percepción de luz y de fitohormonas como el etileno y citocininas (Tabla 2) (Kabbara et al., 2019; Hérivaux et al., 2016).

El origen de las histidinas cinasas simples e híbridas en plantas, se relaciona con la transferencia horizontal de genes, provenientes de bacterias, probablemente a través de la integración de genes de cloroplasto en su genoma nuclear; y se diversificaron en cada organismo por medio de la duplicación y fusión de estos genes. De este modo, cada organismo adaptó una arquitectura específica de dominios de las HK, de acuerdo a las necesidades que iban surgiendo en su entorno (Tabla 2) (Capra y Laub, 2012; Ren et al., 2009). La función que cumplen las HKs en los organismos depende directamente de los dominios transmembranales y citoplasmáticos adicionales que presenten.

**Tabla 2.** Grupos de proteínas Histidina Cinasas con la estructura de sus dominios, ocurrentes en clados eucariotas. Adaptado de (Kabbara et al., 2019; Papon y Stock, 2019).

Grupos de HK	Estructura	Función
Receptores de citocininas (Plantas, hongos, amebas, algas)		Detección de hormonas
Receptores de etileno (Plantas, hongos, amebas, algas)		
Grupo VI de hongos (AHK1) (Plantas, hongos, algas)		
Grupo III de hongos (Hongos, amebas)		Adaptación al estrés y detección de nutrientes
Grupo X de hongos (Hongos, amebas, algas)		
Hik33 (Algas)		
NarX (Plantas, amebas, algas)		
Fitocromos (Plantas, hongos, amebas, algas)		
Rodopsinas (Algas)		Detección de luz
LOV (Algas)		
MASE1 (Algas)		
Dual (Hongos, amebas, algas)		Función desconocida
Multi-PAS (Pseudohongos)		
Otros grupos - CKI2/AHK5 (Plantas, hongos, amebas, algas)		

Claves de las figuras:



## 5. Objetivos

### 5.1. Objetivo general

- Caracterizar las proteínas histidina cinasas en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae, mediante análisis bioinformático.

### 5.2. Objetivos específicos

- Crear una base de datos local de todas las proteínas HK simples e híbridas en todos los genomas y transcriptomas ensamblados y publicados de cada especie de Symbiodiniaceae, y de dinoflagelados fotosintéticos de vida libre.
- Caracterizar filogenéticamente las HK identificadas en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae.
- Predecir la ubicación celular de cada grupo de HK identificadas en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae.

## 6. Materiales y métodos

Para alcanzar los objetivos propuestos en este trabajo, los métodos se desarrollaron en tres fases, en una LAPTOP-GKA6K7NV marca ASUS ZenBook, con procesador AMD Ryzen 5 4500U con Radeon Graphics 2.38 GHz y una RAM de 8,00 GB. En la primera fase se llevó a cabo la búsqueda exhaustiva de proteínas histidina cinasas putativas en todos los genomas y transcriptomas disponibles de las especies pertenecientes a la familia Symbiodiniaceae y a la clase Dinophyceae; la segunda fase consistió en realizar análisis filogenéticos de las proteínas HK simples e híbridas encontradas en las microalgas; y en la tercera fase se predijo la ubicación subcelular y la estructura de dominios de estas proteínas en los dinoflagelados con estilos de vida libre y simbióticos. A continuación, se describe en detalle cada una de estas secciones.

### 6.1. Búsqueda de secuencias de proteínas Histidina Cinasas

Teniendo en cuenta que el osmosensor Sln1 de levaduras actúa como Histidina cinasa de dos componentes, se tomó como referencia la secuencia de aminoácidos NP\_012119.1 [histidine kinase, *Saccharomyces cerevisiae* S288C] del NCBI, para realizar la búsqueda de proteínas Histidina Cinasas en la familia Symbiodiniaceae y demás dinoflagelados, con la herramienta BLAST en bases de datos en línea como OIST Marine Genomics Unit (<https://marinegenomics.oist.jp/gallery>), Protein Data Bank (<https://rcsb.org>), Protein BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>), EMBL-EBI ([www.ebi.ac.uk](http://www.ebi.ac.uk)), SAGER (Symbiodiniaceae and Algal Genomic Resource) (<http://sampgr.org.cn/>), Herramienta SYM-BLAST de The Santos Lab (<http://webhome.auburn.edu/~santosr/symbblast.htm>) y el Repositorio de Datos de Genómica Marina (<http://reefgenomics.org/blast/>). La búsqueda se realizó directamente en bases de datos de proteínas, evitando así, secuencias genómicas con regiones no codificantes.

La selección de las secuencias apropiadas se realizó por medio de una alineación de secuencias en busca de dominios conservados. Estos dominios se compararon con la secuencia homóloga Sln1 de levaduras en T-Coffee, herramienta del EBI ([www.ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/](http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/tcoffee/)). Para no discriminar datos, se seleccionaron secuencias en las que los motivos conservados tenían al menos un solo cambio en su cadena de aminoácidos, teniendo en cuenta que los aminoácidos mutados

presentaran propiedades físico-químicas de su cadena lateral, similares a los aminoácidos originales.

## **6.2. Análisis filogenéticos y construcción de árboles filogenéticos**

Se creó un archivo en formato FASTA, para realizar una alineación múltiple con la herramienta MUSCLE en el programa MEGA X (Kumar S et al., 2018); seguido, se buscó el mejor modelo de evolución de acuerdo con el Criterio de Información de Akaike y el Criterio de Información Bayesiano, como modelo óptimo en SMS: Smart Model Selection in PhyML (Lefort et al., 2017) portal web ATGC – Montpellier Bioinformatics Platform ([www.atgc-montpellier.fr/](http://www.atgc-montpellier.fr/)).

Se generó un dendrograma de Neighbor Joining (NJ), con 1000 réplicas de arranque para obtener una representación gráfica inicial del patrón de agrupación, basado en la distancia génica dentro y entre las secuencias evaluadas de las diferentes HK, con un GAMMA de 1,394 y 1,206 para los árboles filogenéticos de proteínas HK simples e híbridas, respectivamente; y los parámetros preestablecidos por defecto en MEGA X. Para los análisis de relaciones filogenéticas entre las diferentes HK de Symbiodiniaceae y otros dinoflagelados, se construyeron árboles filogenéticos por métodos de Máxima Verosimilitud (ML) en RAxML v.8.2.10 a través del portal 2 de CIPRES - CyberInfrastructure for Phylogenetic REsearch (Miller et al., 2010) ([www.phylo.org/portal2](http://www.phylo.org/portal2)) con el modelo de Tiempo Variable (VT) y una estimación de sitios invariables GTRGAMMA + I.

La visualización de los árboles se hizo en MEGA X y en FigTree v1.4.4.

## **6.3. Predicción de dominios conservados y ubicación subcelular de cada HK de Symbiodiniaceae**

La ubicación de los dominios celulares de las proteínas HK se predijeron en el programa Prosite (<https://prosite.expasy.org/>) (Sigrist et al., 2012) y, para predecir la ubicación subcelular de las proteínas HK se utilizó YLoc – Interpretable Subcellular Localization Prediction (Briesemeister, 2010) (<https://abi-services.informatik.uni-tuebingen.de/yloc/webloc.cgi>), con el modelo YLoc-HighRes, que predice la posición de la proteína en 10 ubicaciones dentro de la célula vegetal, utilizando características de término GO, a partir de las secuencias de aminoácidos. Los gráficos se elaboraron en Biorender (<https://biorender.com/>).

## 7. Resultados

### 7.1. Proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae y dinoflagelados

Se encontró un total de 126 secuencias que codifican para proteínas HKs de dos componentes simples e híbridas en cuatro géneros de la familia Symbiodiniaceae (Tabla 3), de la siguiente manera:

**Tabla 3.** Cepas de las 13 microalgas dinoflageladas pertenecientes a la familia Symbiodiniaceae

Organismo	Abreviatura	Cepa NCBI	Estilo de vida	Número de HKs	Tamaño del genoma (Mb)
<i>Symbiodinium</i> sp.	Ssp	CCMP2456	-	9	694,9 (González-Pech et al., 2021)
		CCMP2592	-	7	1,103 (González-Pech et al., 2021)
		CCMP2430	-	4	Indeterminado
		Mp	-	3	Indeterminado
		KB8	-	13	813,7 (González-Pech et al., 2021)
<i>S. microadriaticum</i>	Smic	CCMP2476* ASM193914v1*	Simbionte (Gómez, 2012)	16	808,2 (Aranda et al., 2016)
<i>S. natans</i>	Snat	CCMP2548	Vida libre (Hiroshi Yamashita y Koike, 2013)	2	761,6 (González-Pech et al., 2021)
<i>S. necroappetens</i>	Snec	CCMP2469	Oportunista no simbionte (LaJeunesse et al., 2015)	6	768 (González-Pech et al., 2021)
<i>S. pilosum</i>	Spil	CCMP2461	Vida libre (Hiroshi Yamashita y Koike, 2013)	6	1,089 (González-Pech et al., 2021)
<i>S. tridacnidorum</i>	SymbA	SymA ver 1.0	Simbionte (Gómez, 2012)	27	766,7 (Shoguchi et al., 2018)
<i>Breviolum minutum</i>	SymbB	CCMP2461	Simbionte (Gómez, 2012)	6	609,47 (Shoguchi et al., 2013)
<i>Cladocopium</i> sp.	SymbC	SymC ver 1.0	Simbionte (Gómez, 2012)	25	1030 (Shoguchi et al., 2018)
<i>Fugacium kawagutii</i>	Skav	ASM976759v1	Vida libre (Yuyama I, 2016)	2	935.1 (Aranda et al., 2016)
<b>Total</b>				<b>126</b>	

\*Cuando se busca el transcriptoma de *S. microadriaticum* aparecen 2 cepas, ASM193914v1 y CCMP2476, pero al realizar BLAST, ambas cepas se redirigen a un mismo ensamblaje.

	HK				RR	
	N-terminal	H	N - G1 - F - G2		REC	C-terminal
Sln1	NISHELK	MNLVSNA	TGPGI	VFHPFV	GGTGLGL	FMDVQ
A1075_t1	NMSHELK	LNLLSNA	EGIGI	LTEAFY	EGSGLGL	----
A1110_t1	NASHELK	QNLVDNA	FGPGI	LTERFY	GGTGLGL	-LAKE
A1162_t1	VVSHELK	YNLVTNA	TGCGI	IFKPFV	QGMGLGL	LLDIQ
A1162_t2	VVSHELK	YNLVTNA	TGCGI	IFKPFV	QGMGLGL	LLDIQ
A1302_t1	NMSHELK	LNLLSNA	NGVGI	LLKPFV	EGSGLGL	----
A1498_t1	SMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	IFEPFV	SGTGKGP	----
A151_t1	TVSHELK	FNLLSNA	TGIGI	LFERFS	GGTGLGL	LMDIQ
A1550_t1	NMSHELK	LNLLSNA	QGIGM	ALEPFR	EGTGLGL	----
A1563_t1	NMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	LGKPFV	KGTGLGL	----
A1583_t1	NMSHELK	LNLLTNA	EGPGI	VLETFG	SGTGLGL	----
A1630_t1	SMSHELK	VNLLTNA	NGIGI	VFRPFV	GGTGLGL	----
A1631_t1	IMSHELK	INLLSNA	TGIGV	IFEPFV	QGTGLGL	----
A1821_t1	HLSHELK	VNLLTNA	DGVGM	ASSPFW	EGSGLGL	----
A2270_t1	NMSHEIR	INLLSNA	DGIGV	IFERFT	GGTGLGL	LMDVQ
A2550_t1	GVSHDLK	TNLLTNA	NGDGI	VFRPFH	AGTGLGL	----
A2715_t1	IISHELK	HNLLSNA	TGIGI	IFEPFD	EGMGMGL	LLEVW
A2715_t2	IISHELK	HNLLSNA	TGIGI	IFEPFD	EGMGMGL	LLEVW
A272_t1	TMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	TLEPFV	HGTGLGL	----
A488_t1	NMSHEAR	INLLSNA	SGEGM	IFDRFE	EGVGLGL	LMDIH
A489_t1	NMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	ALEPFR	EGTGLGL	----
A5446_t1	MVSHELK	YNLLTNA	TGIGI	IFEPFD	SGLGLGL	MLDVM
A5446_t2	MVSHELK	YNLLTNA	TGIGI	IFEPFD	SGLGLGL	MLDVM
A660_t1	NMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	LGKPFV	KGTGLGL	----
A701_t1	TMSHELK	LNLLSNA	TGAGI	VCQPFV	TGTGLGL	PLQVC
A702_t1	SMSHELK	VNLLSNA	SGIGI	VRDPFF	EGTGLGL	----
A715_t1	TMSHEIR	INLLSNA	TGIGI	IFAEFA	EGTGLGL	FMDLH
A982_t1	NMSHEIR	VNLLSNA	TGIGI	LFERFT	GGTGLGL	LMDVQ
B003119	TVTHELR	YNLLTNA	TGIGI	IFLPFV	EGLGLGL	ILEP-
B004093	LVSHELK	YHLVSNS	TGIGI	IFDPFV	EGIGLGL	GM---
B010336	MLSHELK	YNLLTNA	TGIGI	IFQPFV	GGLGLGL	LLDVM
B025772	VVSHELK	YNLLSNA	TGIGI	IFQPFV	EGLGLGL	LLEVW
B026927	VVSHELK	YNLLTNA	TGCGI	IFKPFV	QGMGLGL	LLDIQ
DF241522	VVSHELK	YNLLSNA	TGIGI	IFQPFV	GSPDLV	----
C1180_t1	NASHELK	QNLVDNA	FGPGI	LTERFY	GGTGLGL	----
C1189_t1	NMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	MTQPFT	EGTGLGL	----
C1217_t1	NMSHELK	LNLLSNA	EGIGI	LTEAFY	EGSGLGL	----
C1320_t1	NMSHEIR	VNLLSNA	TGIGI	LFERFT	GGTGLGL	LMDVQ
C1617_t1	TMSHEIR	INLLSNA	TGIGI	IFAEFA	EGTGLGL	FMDLH
C1629_t1	SMSHELK	VNLLSNA	SGIGI	VRDPFF	EGTGLGL	----
C1630_t1	SMSHELK	VNLLTNA	NGIGI	VFRPFV	GGTGLGL	----
C1865_t1	NMSHEAR	INLLSNA	SGEGM	IFDRFE	EGVGLGL	LMDIH
C2103_t1	TMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	TLEPFV	HGTGLGL	----
C2234_t1	TVSHELK	FNLLSNA	TGIGI	LFERFS	GGTGLGL	LMDIQ
C2418_t1	ATSHDLK	RNLLSNA	TGCGI	VFDEYV	KGLGLGL	LIDRR
C2476_t1	GVSHDLK	TNLLTNA	NGDGI	VFRPFH	AGTGLGL	----
C2789_t1	NMSHEIR	INLLSNA	DGIGV	IFERFT	GGTGLGL	LMDVQ
C3117_t2	VVSHELK	YNLLTNA	TGCGI	IFKPFV	QGLGLGL	LLDIQ
C3117_t3	VVSHELK	YNLLTNA	TGCGI	IFKPFV	QGLGLGL	LLDIQ
C3117_t4	VVSHELK	YNLLTNA	TGCGI	IFKPFV	QGLGLGL	LLDIQ
C311_t1	MLSHELK	YNLLTNA	TGIGI	IFQPFV	GGLGLGL	LLDVM
C3761_t1	MVSHELK	FNLLSNA	TGIGI	IFQPFV	EGLGLGL	LMEVW
C387_t1	HLSHELK	VNLLTNA	DGVGM	ASSPFW	EGSGLGL	----E
C591_t1	IMSHELK	INLLSNA	TGIGV	IFEPFV	QGTGLGL	----
C640_t1	NMSHELK	LNLLTNA	EGPGI	VLETFG	SGTGLGL	----
C660_t1	NMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	LGKPFV	KGTGLGL	----
C675_t1	NMSHELK	LNLLSNA	QGIGM	ALEPFR	EGTGLGL	----
C730_t1	SMSHELK	LNLLSNA	TGIGI	IFEPFV	SGTGLGL	----
C951_t1	NMSHELK	LNLLSNA	NGVGI	LLKPFV	EGSGLGL	----
Skav20772	MLSHELK	YNLLTNA	TGASA	----	GGLGLGL	----
Skav21980	MISHELK	-----	RGCGS	----	-----	----
Snat30554	MMSHELK	YSLVSNA	TGPGI	IFEPFD	EGLGMGL	LLEVW
Snat61781	AVTHELR	YNLLTNA	TGIGI	IFLPFV	EGLGLGL	IVDVI
Snec02287	NMSHEIR	INLLSNA	TGIGI	LFEAFR	GGTGLGL	VTDVQ
Snec26346	NVSHELK	MNLVSNA	TGIGI	VFERFY	GGTGLGL	TVDDL
Snec49031	NMSHEIR	VNLLSNA	RGPGI	LFEPFT	GGTGLGL	FMDVQ
Snec53037	LVNHELK	FHLVANA	SGIGI	IFDPFV	EGIGLGL	----
Snec53609	AMSHELK	FNLLSNA	TGIGM	VFKPFH	GGTGLGL	----
Snec67680	NMSHEIR	VNLLSNA	EGIGI	LFRPFV	GGTGLGL	VLDVQ

\*,\*:

\*\*

Continuación figura 3



Los resultados del alineamiento múltiple hecho con las 126 secuencias de proteínas HK simples e híbridas de la familia Symbiodiniaceae (Fig. 3), confirman la presencia de los motivos conservados H (histidina), N (asparagina), G1 y G2 (glicina) y F (fenilalanina) de los dominios DHp y CA de las proteínas HKs en todas las secuencias de la familia Symbiodiniaceae (Tabla 3), a excepción de la microalga *Fugacium kawagutii* (secuencias Skav) (Fig. 3).

De las dos secuencias de *F. kawagutii* encontradas, el genotipo Skav207722 presenta todos los motivos de la región HK a excepción del motivo F; mientras que el genotipo Skav219800 conserva únicamente el motivo H; de igual modo, la secuencia SmiG44004 presentó todos los motivos de la región HK, menos el motivo F; Smic94823 y Ssp58853 no conservan el motivo G2 (Fig. 3).

Se obtuvo un total de 54 secuencias de proteínas HK simples y 72 secuencias corresponden a proteínas HK híbridas. En la búsqueda de proteínas HK de dos componentes simples e híbridas en dinoflagelados no pertenecientes a la familia Symbiodiniaceae, se encontró 50 secuencias pertenecientes a 6 órdenes de la clase Dinophyceae (Tabla 4).



Todas las proteínas histidina cinasa putativas en los dinoflagelados no pertenecientes a la familia Symbiodiniaceae también conservan los motivos (H, N, G1, F, G2) de la región HK (Fig. 4). De las 50 secuencias de proteínas histidina cinasa encontradas en dinoflagelados de la clase Dinophyceae (Tabla 4 y S10), el 44% pertenecen a proteínas HK simples y el 56% restante son proteínas HK híbridas (HK-REC).

**Tabla 4.** Características de proteínas Histidina Cinasas en las 6 órdenes de microalgas de la clase Dinophyceae, excepto las microalgas de la familia Symbiodiniaceae. Los códigos de acceso que inician por la letra A y J pertenecen al EBI y códigos que inician con C son del NCBI.

Orden	Especie	Tipo de HK	Código de acceso
Desconocido	<i>Azadinium spinosum</i>	Híbrida	A0A6T3ZVD2
Gonyaulacales	<i>Alexandrium andersonii</i>	Simple	CAD9537443.1
		Simple	A0A6U8V1F4
	<i>A. margalefii</i>	Simple	CAE4667458.1
	<i>A. monilatum</i>	Simple	CAE4667461.1
		Simple	CAE4582135.1
		Simple	CAE4582133.1
		Simple	CAE4582131.1
		Simple	CAE4582129.1
		Simple	CAE4582127.1
		Simple	CAE4582125.1
		Híbrida	CAE4667477.1
		Híbrida	CAE4667463.1
		Híbrida	CAE4667471.1
		Híbrida	CAE4669288.1
		Híbrida	CAE4669287.1
		<i>A. tamarense</i>	Simple
	<i>Gambierdiscus australes</i>	Simple	A0A6U6Z623
	<i>Gonyaulax spinifera</i>	Híbrida	CAE4184617.1
	<i>Lingulodinium polyedra</i>	Simple	CAF5591323.1
		Simple	CAF5591322.1
Simple		CAF5591318.1	
Simple		CAF5591326.1	
Híbrida		CAF5605064.1	
Híbrida		CAF5605063.1	
Híbrida		CAF5605069.1	
Noctilucales	<i>Noctiluca scintillans</i>	Híbrida	CAD8851255.1
Peridinales	<i>Crypthecodinium cohnii</i>	Simple	A0A6V3LF56

	<i>Durinskia baltica</i>	Híbrida	A0A6T3DXR2
	<i>Heterocapsa</i> sp.	Híbrida	A0A6V6AVB5
	<i>H. rotundata</i>	Híbrida	CAE3048521.1
	<i>H. rotundata</i>	Simple	CAE3081792.1
	<i>H. arctica</i>	Simple	CAE4319876.1
Prorocentrales	<i>Prorocentrum</i>	Simple	JXLM01000436.1
	<i>minimum</i>	Híbrida	CAE1339103.1
Suessiales	<i>Pelagodinium beii</i>	Simple	A0A6U9LP54
	<i>Polarella glacialis</i>	Híbrida	A0A6T9RVG3
		Híbrida	CAE8639538.1
		Híbrida	CAE8605420.1
Thoracosphaerales	<i>Apocalathium</i>	Híbrida	CAE8809897.1
	<i>aciculiferum</i>		
	<i>Brandtodinium</i>	Híbrida	A0A6U9KS64
	<i>nutricula</i>	Híbrida	CAD9609199.1
	<i>Scrippsiella hangoei</i>	Híbrida	A0A6V5MJV1
		Híbrida	CAE8463461.1
		Híbrida	CAE8462366.1
		Híbrida	CAE8454701.1
		Híbrida	CAE8454700.1
		Híbrida	CAE8454697.1
		Híbrida	CAE8454702.1
	<i>S. trochoidea</i>	Simple	A0A6T2VXU8

## 7.2. Análisis filogenético.

Un total de 211 secuencias de proteínas Histidina cinasas putativas simples e híbridas encontradas en dinoflagelados (Tablas 2, 3) y proteínas HKs adicionales caracterizadas en protistas, hongos, plantas, algas y bacterias (Tabla S11), se analizaron para hallar una relación filogenética entre las proteínas de los grupos taxonómicos.

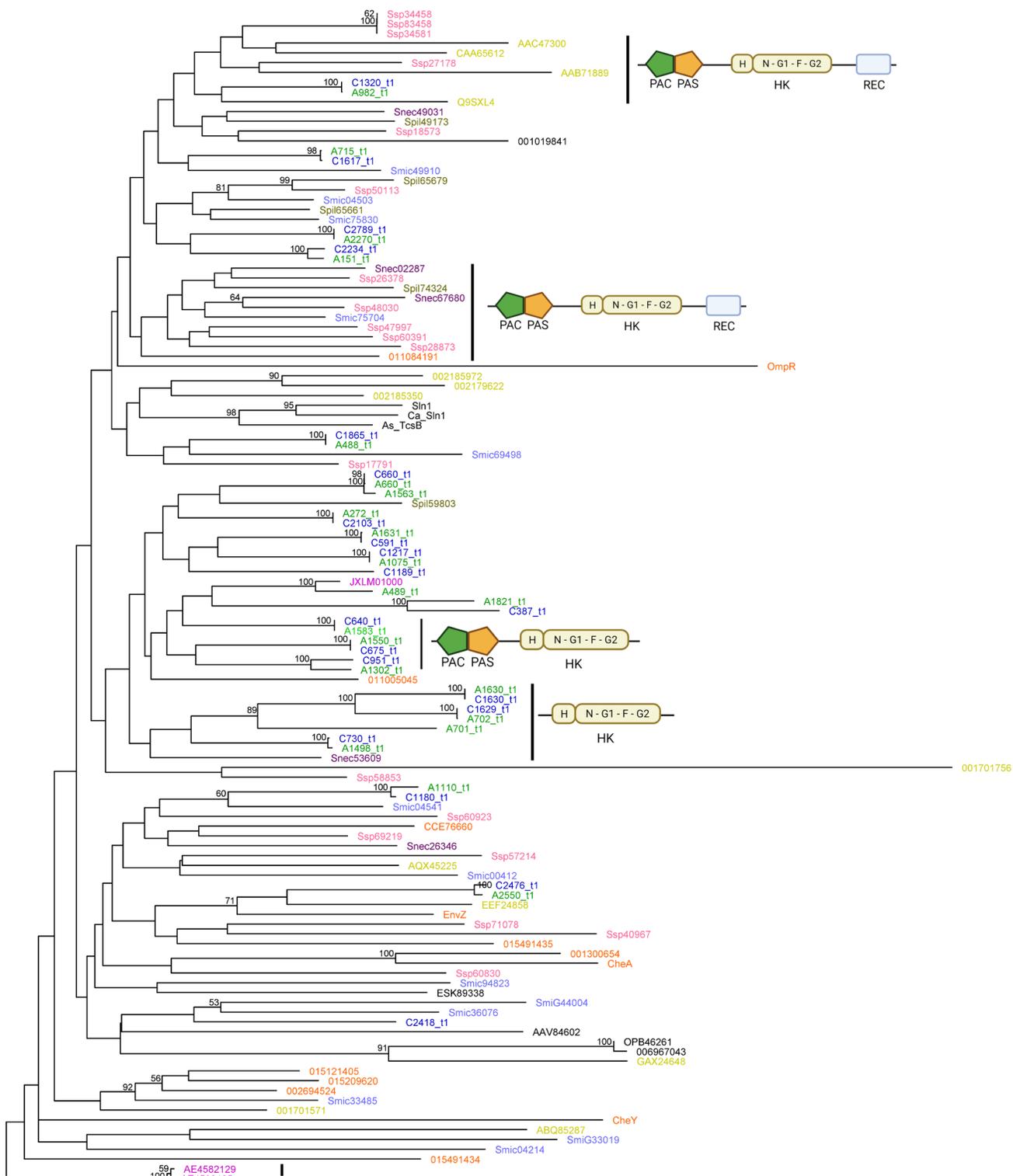
Los análisis filogenéticos Neighbor-Joining (NJ) y Máxima Verosimilitud (ML) del conjunto de proteínas histidina cinasa en la familia Symbiodiniaceae y otros dinoflagelados, arrojaron nodos similares con variaciones en la ubicación de las agrupaciones de las secuencias de las proteínas putativas. Estas presentan un soporte de remuestreo  $\geq 50$  ideal en la mayoría de los nodos internos, lo que demuestra un fuerte soporte en la similitud de las proteínas HK dentro de una misma especie y en las especies de Symbiodiniaceae (Fig. S1 y S2).

Todas las proteínas HK simples e híbridas de Symbiodiniaceae están estrechamente relacionadas en las especies encontradas, de tal modo que no se denota un nodo principal conformado únicamente por genotipos de una sola especie, pero si es posible determinar nodos terminales conformados por una misma especie (Fig. 5); por lo que se deduce que las proteínas HK tienen un origen monofilético en la familia Symbiodiniaceae. Sin embargo, si es posible agrupar las secuencias de acuerdo a los dominios conservados que presenta cada una, sin importar a qué especie pertenezcan (Fig. 5). Las proteínas restantes agrupadas en nodos indeterminados, presentaron una estructura de dominios variada.

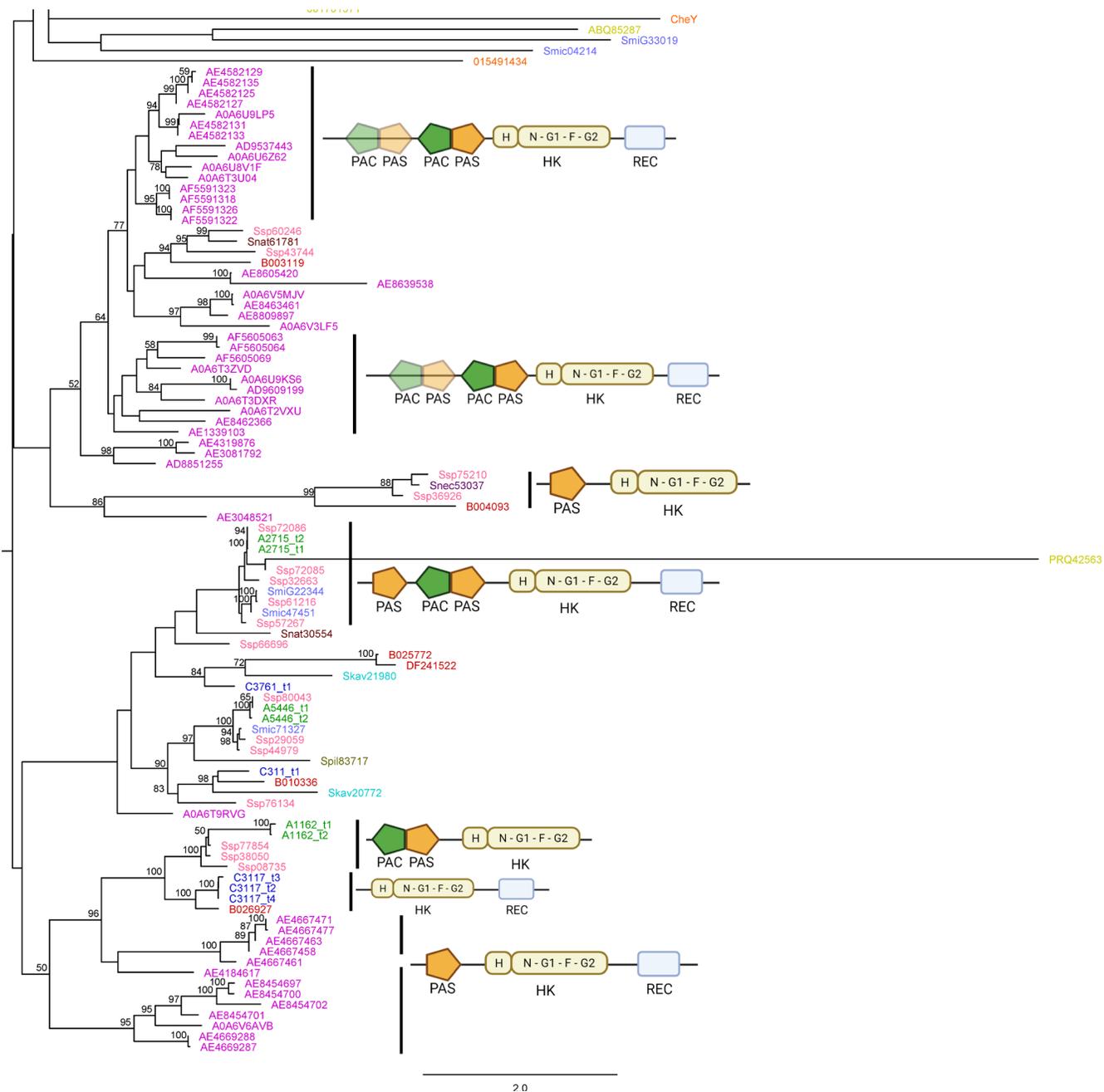
En los árboles NJ y ML, las secuencias de proteínas putativas HKs de la clase Dinophyceae, se agruparon en nodos independientes a las secuencias de la familia Symbiodiniaceae (Fig. 5, S1 y S2). Este resultado demuestra una notable diferencia entre las proteínas de los 6 órdenes encontrados en esa clase, frente a las proteínas putativas de Symbiodiniaceae.

Las secuencias agregadas (Tabla S11) de grupos taxonómicos externos a la clase Dinophyceae, se ubicaron dentro de los árboles en nodos indeterminados.

■ *Symbiodinium* sp.  
 ■ *S. microadriaticum*  
 ■ *S. natans*  
 ■ *S. necroappetens*  
 ■ *S. pilosum*  
 ■ *S. tridacnidorum*  
 ■ *B. minutum*  
■ *Cladocarpium* sp.  
 ■ *F. kawaugitii*  
■ Dinoflagelados  
■ Hongos  
■ Plantas-Protistas  
■ Bacterias



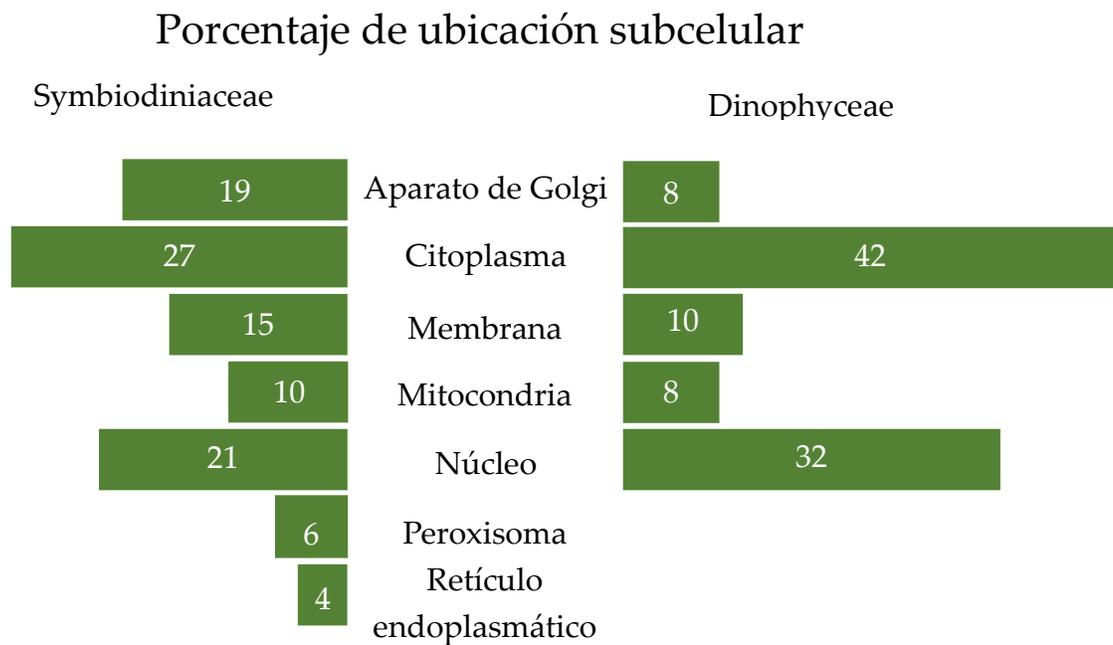
Continuación figura 5



**Figura 5.** Árbol filogenético inferido por análisis de máxima verosimilitud (ML) de proteínas HK simples e híbridas de la familia Symbiodiniaceae y demás Dinoflagelados. El análisis incluye 211 secuencias únicas de proteínas HK-REC. La representación gráfica de los dominios conservados indica la estructura conformacional de las proteínas agrupadas en los nodos. Los valores de los nodos representan el porcentaje del soporte de *bootstrap*. La longitud de las ramas es proporcional al número de sustituciones por sitio (ver barra de escala). Las secuencias se alinearon en MEGA X (Kumar et al., 2018), el modelo VT + G de sustitución de aminoácidos se determinó de acuerdo con el Criterio de Información de Akaike y el Criterio de Información Bayesiano como modelo óptimo en SMS: Smart Model Selection in PhyML (Lefort; Longueville y Gascuel, 2017). Los análisis de máxima verosimilitud se realizaron con RAxML 8.2.12 en el portal 2 de CIPRES (Stamatakis, 2014).

### 7.3. Predicción de dominios conservados y ubicación subcelular de cada HK de Symbiodiniaceae

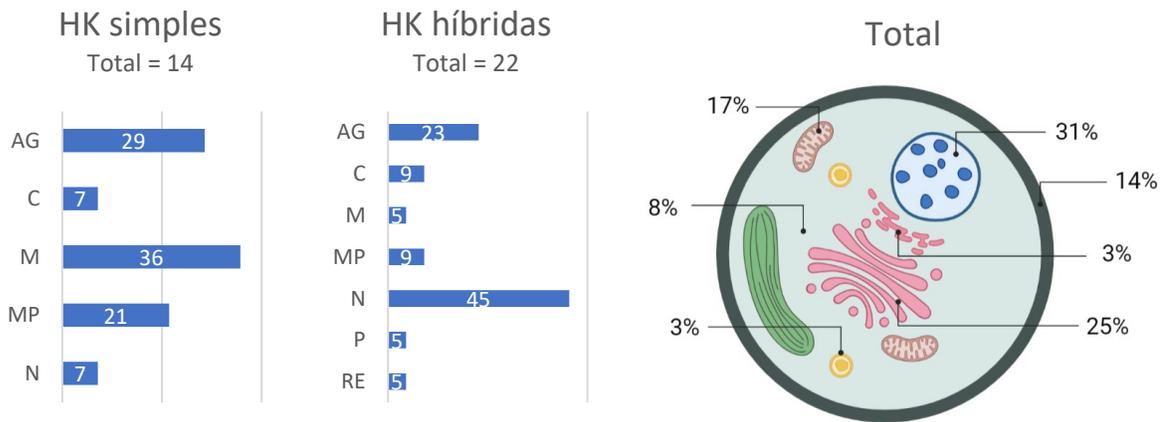
El programa de predicción subcelular YLoc, reconoce las características relevantes que contribuyen a la localización subcelular de cada secuencia de proteína (Briesemeister, 2010). La predicción subcelular también se realizó teniendo en cuenta el término GO de proteínas conocidas que comparten dominios con cada proteína consultada. De este modo, se predijo la ubicación subcelular de cada proteína putativa Histidina cinasa encontrada para las microalgas *Symbiodinium* sp, *S. natans*, *S. necroappetens*, *S. pilosum*, *S. microadriaticum*, *S. tridacnidorum*, *Breviolum minutum* y *Cladocopium* sp. de la familia Symbiodiniaceae (Tablas S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S8 respectivamente) y para los dinoflagelados de la clase Dinophyceae (Tablas S10). A excepción de *F. kawagutii* (Tabla S9) que la ubicación subcelular de las secuencias no pudo ser predicha por el programa YLoc.



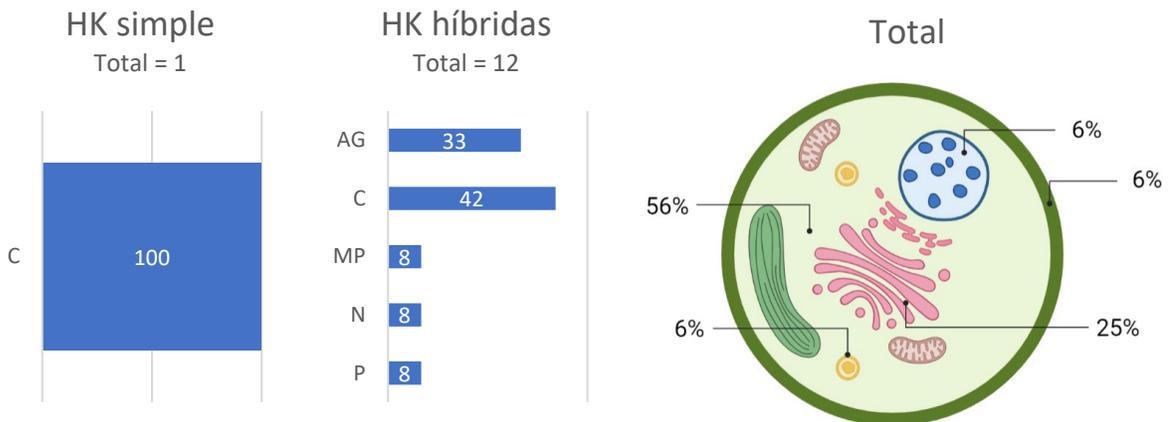
**Figura 6.** Ubicación subcelular de proteínas Histidina Cinasas en dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae. Gráfica de barras aplicadas del porcentaje de las proteínas putativas encontradas en cada especie de microalga. Predicción subcelular realizada en YLoc (Briesemeister, 2010) <https://abi-services.informatik.uni-tuebingen.de/yloc/webloc.cgi>.

Se predice que las proteínas histidina cinasas se encuentran mayormente en el citoplasma de las microalgas de la familia Symbiodiniaceae y la clase Dinophyceae (Fig. 6). Dentro del citosol de las microalgas de Symbiodiniaceae, las proteínas se encuentran distribuidas en diferentes organelos como la mitocondria, peroxisoma, aparato de Golgi y retículo endoplasmático; mientras que en Dinophyceae, las proteínas no se predicen en el peroxisoma y retículo endoplasmático (Fig. 6 y 8).

*Symbiodinium* sp.

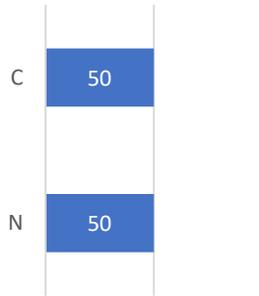


*S. microadriaticum*

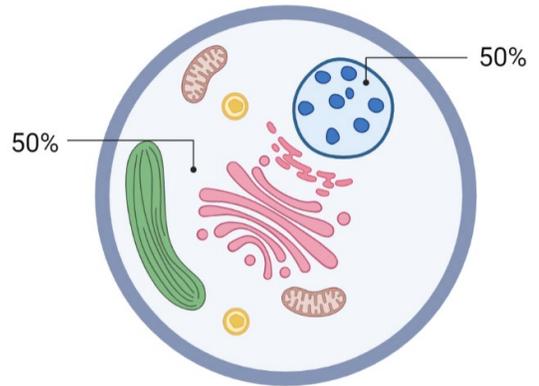


*S. natans*

HK híbridas  
Total = 2

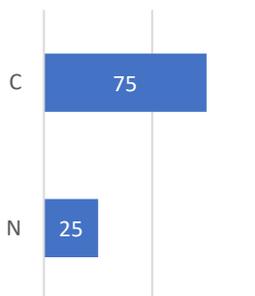


Total

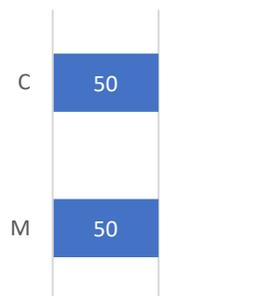


*S. necroappetens*

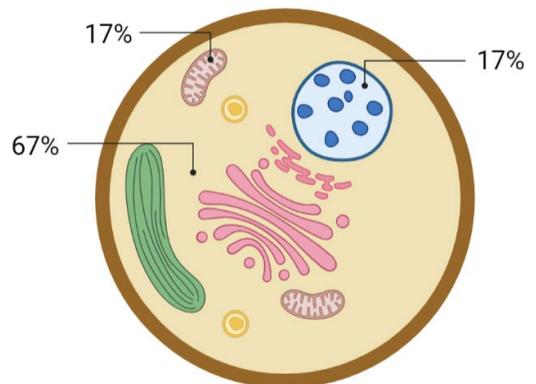
HK simples  
Total = 4



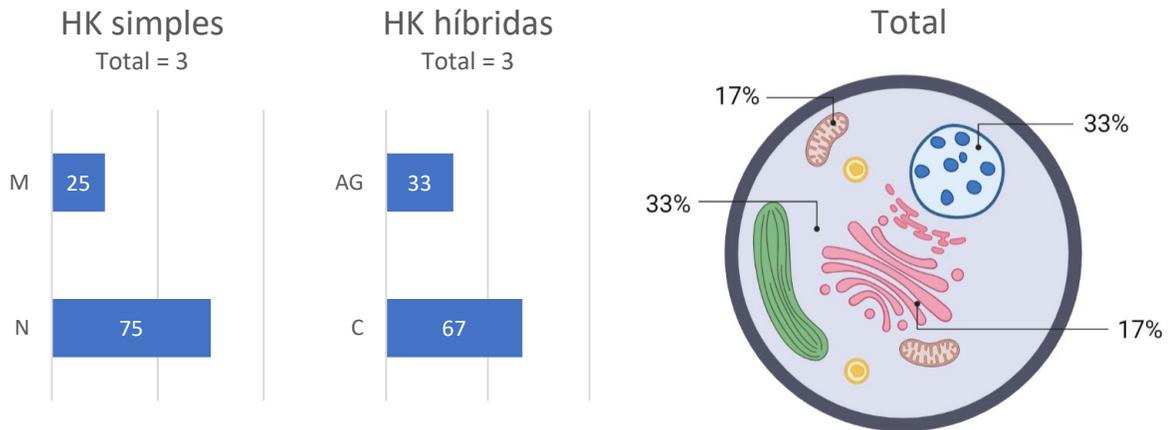
HK híbridas  
Total = 2



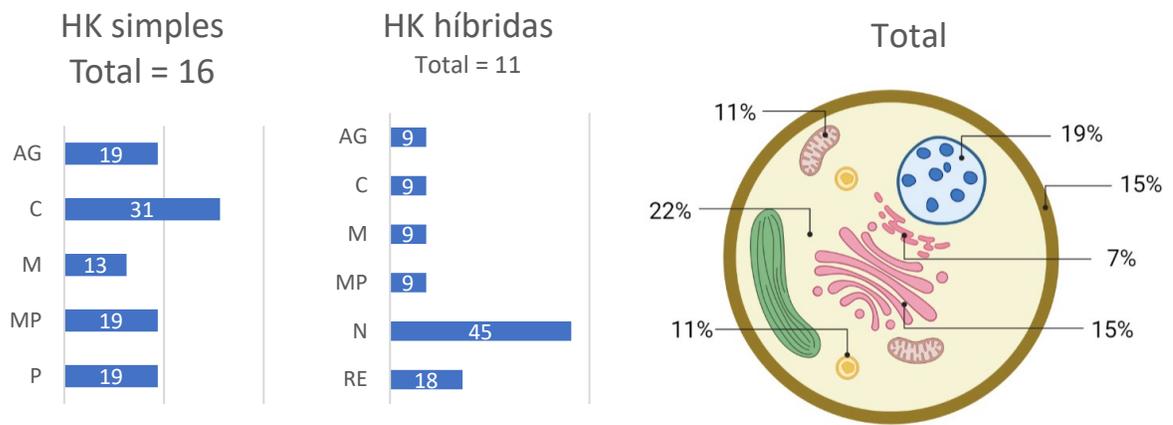
Total



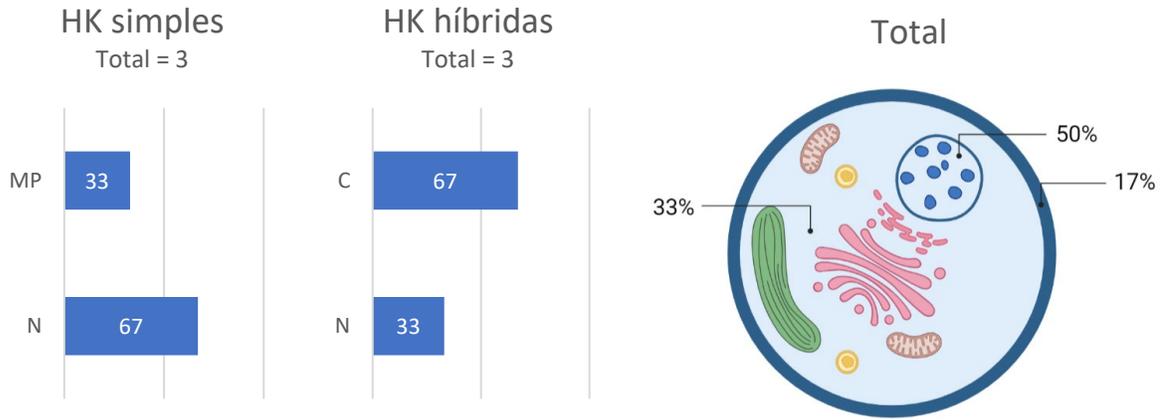
*S. pilosum*



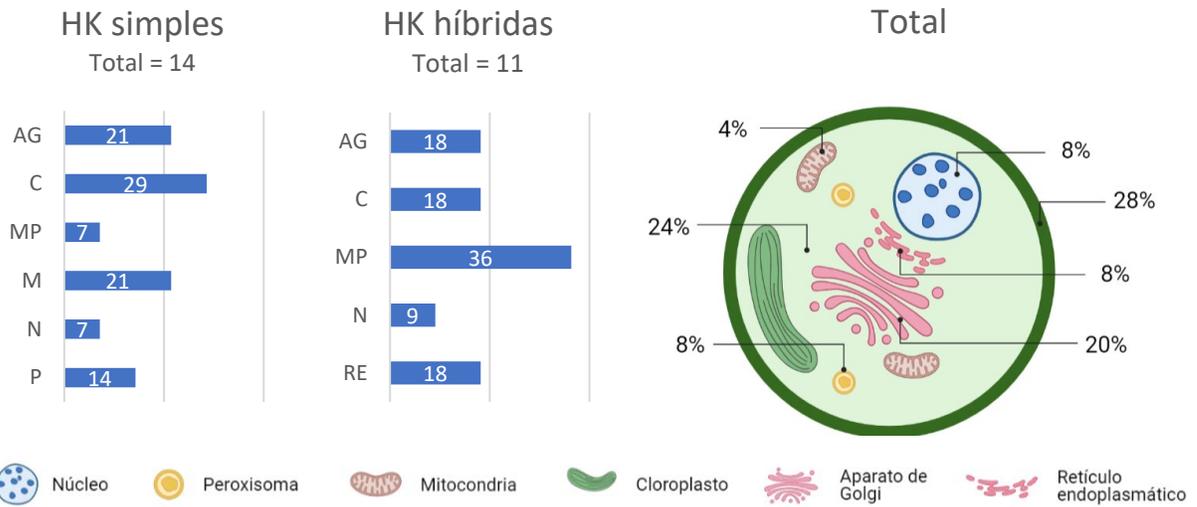
*S. tridacnidorum*



*Breviolum minutum*



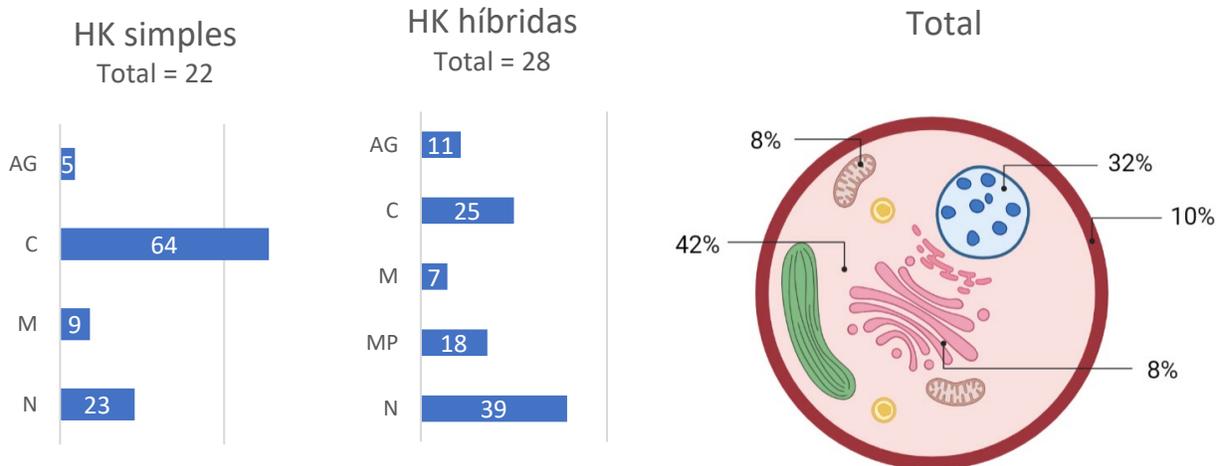
*Cladocopium sp.*



 Núcleo  
  Peroxisoma  
  Mitocondria  
  Cloroplasto  
  Aparato de Golgi  
  Reticulo endoplasmático

**Figura 7.** Ubicación subcelular de proteínas HK simples e híbridas en la familia Symbiodiniaceae. AG, aparato de Golgi; C, citoplasma; M, mitocondria; MP, membrana plasmática; N, núcleo; P, peroxisoma; RE, retículo endoplasmático. Predicción subcelular se realizó en YLoc (Briesemeister, 2010) <https://abi-services.informatik.uni-tuebingen.de/yloc/webloc.cgi>; diagramas creados en Biorender.com

## Clase Dinophyceae

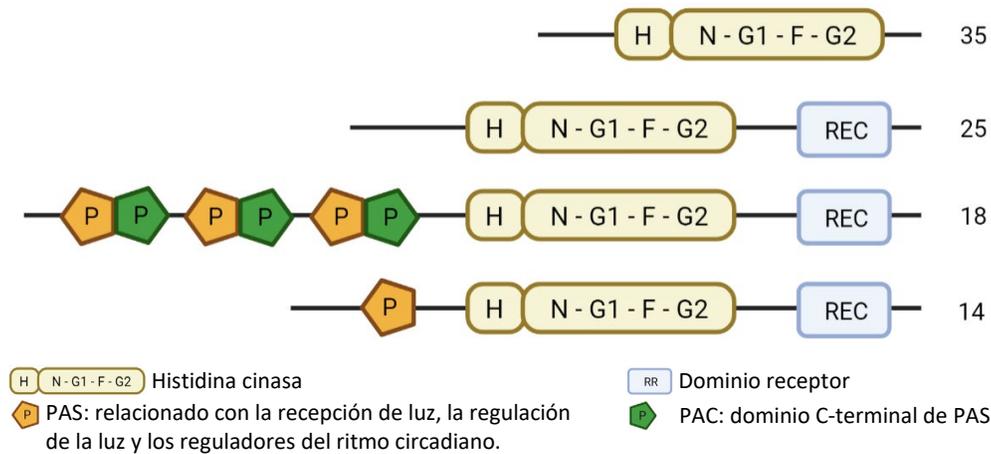


**Figura 8.** Ubicación subcelular de proteínas HK de la clase Dinophyceae. Se muestra el porcentaje de la ubicación subcelular predicha en las 50 de proteínas putativas HK simples e híbridas de dinoflagelados de la clase Dinophyceae. AG, aparato de Golgi; C, citoplasma; M, mitocondria; MP, membrana plasmática; N, núcleo; P, peroxisoma; RE, retículo endoplasmático. Predicción subcelular se realizó en YLoc (Briesemeister, 2010) <https://abi-services.informatik.uni-tuebingen.de/yloc/webloc.cgi>.

Se determinaron las secuencias con dominios conservados más frecuentes en Symbiodiniaceae (Fig. 9), un total de 35 secuencias de histidina cinasas simples presentaron solamente la región HK; es decir, el dominio DHp (dimerización y fosfotransferencia de Histidina) y el dominio catalítico de unión a ATP (N, G1, F, G2). De las proteínas híbridas, 25 secuencias tienen solamente las regiones HK y REC; 18 proteínas se caracterizaron por presentar dominios multi-PAS, con una frecuencia de entre un par de dominio PAS-PAC, hasta 9 PAS-5 PAC, (este dominio participa como un factor de transcripción y actúa como regulador de ritmo circadiano, recepción y regulación de la luz, en hongos) (Linden, 1997). También se encontraron secuencias que presentan las regiones HK y REC, y adicional a esto tienen un único dominio de proteína PAS. El resto de las secuencias HK de Symbiodiniaceae (ver tablas suplementarias) presentaron topologías diferentes.

Los dominios transmembranales y citoplasmáticos con una frecuencia baja en las secuencias de histidina cinasas fueron: HAMP, que regula la fosforilación/metilación de receptores homodiméricos en respuesta a señales ambientales (Ryzhykau et al., 2021); dominios HPT, actúan como fosforeceptor y fosfodador de grupos fosforilos en dominios reguladores de respuesta (RR) (Hérivaux et al., 2016); y dominios homólogos de OmpR bacteriano, subfamilia de proteínas RR que incluyen

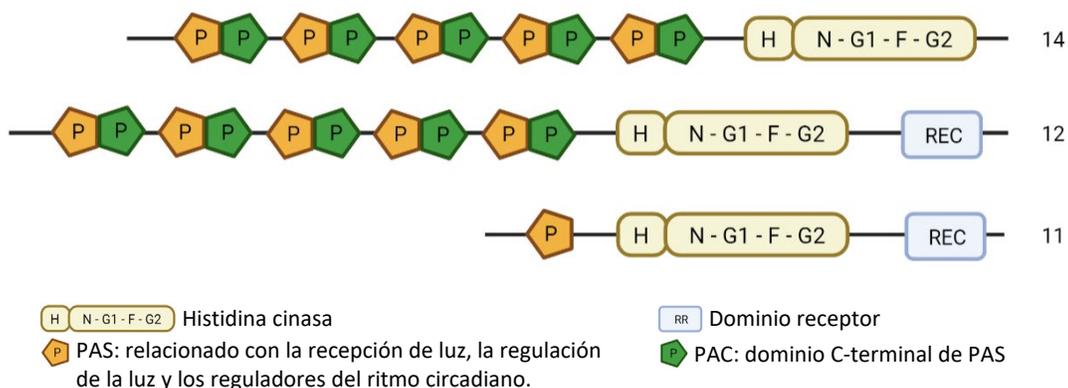
reguladores transcripcionales que se unen al ADN, en respuesta a cambios en la osmolaridad extracelular (Kenney y Anand, 2020).



**Figura 9.** Dominios conservados más frecuentes en proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae. El número total de secuencias predichas se indica a la derecha. La predicción de los dominios se realizó en PROSITE (Sigrist et al., 2012). Gráfico creado en Biorender.com

El programa de predicción de dominios proteicos (PROSITE), no predijo dominios transmembranales en el extremo N-terminal, como se predijo para las secuencias B026927, B010336 y B025772 en Suescún-Bolívar y Thomé (2018), las cuales, presentaron dominios transmembranales y dominios homólogos de Bacteriorodopsina (la cual actúa como bomba de protones utilizando la energía proveniente de la luz; Kabbara et al., 2019).

Las proteínas de Dinophyceae se caracterizan por la cantidad de dominios PAS, acompañados de un dominio PAC en su extremo C-terminal (Fig. 5 y 10) (Tabla S10); también se encontraron secuencias híbridas que tienen solamente un dominio PAS en su N-terminal.



**Figura 10.** Dominios conservados más frecuentes en proteínas Histidina Cinasas en Dinophyceae. El número total de secuencias predichas se indica a la derecha. La predicción de los dominios se realizó en PROSITE (Sigrist et al., 2012). Gráfico creado en Biorender.com

## 8. Discusión

### 8.1. Proteínas Histidina Cinasas en Symbiodiniaceae y Dinophyceae

Por medio de análisis *in silico* se comprobó la presencia de proteínas histidina cinasas simples e híbridas en dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae y de la clase Dinophyceae (Tabla 3 y 4) (Fig. 3 y 4).

Se encontraron las mismas proteínas HK en *Symbiodinium microadriaticum*, *Breviolum minutum* y *Fugacium kawagutii* descritas por Suescún-Bolívar y Thomé (2018).

Aunque Kabbara y colaboradores en el 2019, no encontraron proteínas HK en la cepa CCMP2467 de *S. microadriaticum*, en este trabajo se encontró 16 secuencias correspondientes a proteínas HK simples e híbridas, de las cuales, 2 provienen de un análisis computacional automatizado, secuencias SmiG (Tabla S2).

Los dinoflagelados de la familia Symbiodiniaceae son conocidos y se caracterizan principalmente por estar presente en asociación simbiótica mutualista con cnidarios del orden Scleractinia (Tabla 3) (Gómez, 2012; LaJeunesse et al., 2018). Aunque *Fugacium kawagutii* (antiguo clado F) se documentaba como simbiote de corales escleractinios (Lin et al., 2015), experimentos *in vitro* de Yuyama y colaboradores (2016) encontraron que las microalgas de *F. kawagutii* no se incorporaron como simbioses intracelulares en los corales, por lo que se cree que esta microalga no forma una relación simbiótica mutualista con corales escleractinios.

No se encontró una relación general de la cantidad de proteínas histidina cinasas encontradas en microalgas de la familia Symbiodiniaceae (Tabla 3), respecto al tamaño de su genoma, mientras que, en bacterias las proteínas histidina cinasa, aumentan en número y complejidad de manera exponencial con el tamaño del genoma (Galperin, 2005). Aunque la duplicación de genes en Symbiodiniaceae está implicada en la expansión de los linajes en estilos de vida simbióticos, como mecanismo evolutivo (Shoguchi et al., 2018), el número de HKs puede estar correlacionado con el nicho ecológico y ambiental que habitan los organismos (Galperin et al., 2010; Jacob et al., 2014).

Lo anterior significa que entre más cambiante sea el entorno, más proteínas HK se presentan en el organismo, por lo que se esperaría que simbioses, parásitos y todos los organismos que habiten predominantemente en ambientes constantes,

codifiquen menos proteínas histidina cinasas (Capra y Laub 2012). Por lo tanto, no sería correcto asumir que la cantidad de proteínas HKs en el genoma de las microalgas de Symbiodiniaceae dependa directamente de la relación simbiótica con cnidarios. Sin embargo, existe una discrepancia en la familia Symbiodiniaceae teniendo en cuenta el contexto anterior, pues, en microalgas como *Fugacium kawagutii* y *Symbiodinium natans*, que sus estilos de vida no se relacionan con la simbiosis alga-coral, solo se encontraron dos proteínas HKs; algo contrario en las microalgas que si presentan una relación simbiótica mutualista con corales, que pueden contener hasta 27 proteínas HKs (Tabla 3).

La simbiosis de *Cladocopium* sp. no se limita estrictamente a los invertebrados formadores de coral, también puede encontrarse como simbiote en foraminíferos (protistas ameboides) (Fay et al., 2009) y en bivalvos *Tridacna crocea* y *Fragum* sp., respectivamente.

Las microalgas no simbiotes dentro del género *Symbiodinium*, *S. natans*, *S. necroappetens* y *S. pilosum* (Tabla 3), habitan generalmente en la columna de agua. Aunque, *S. natans* puede introducirse artificialmente en larvas del cnidario *Acropora tenuis* en condición de alta densidad celular, es expulsada los simbiosomas al poco tiempo de ser introducidos (Yamashita et al., 2018), suceso con una probabilidad casi nula a que suceda en la naturaleza. Por otro lado, *S. necroappetens*, actúa como oportunista en tejidos de coral blanqueado o en estado necrótico (LaJeunesse et al., 2015).

La clase Dinophyceae agrupa protistas, generalmente autótrofos, con diferentes estilos de vida. Las microalgas pertenecientes a los órdenes encontrados en este trabajo que presentan proteínas HK simples e híbridas (Tabla 4), tienen un estilo de vida libre en su mayoría. Estas, son conocidas por producir toxinas que afectan a la vida marina y a las personas que consumen los animales que se alimentan de ellas (género *Alexandrium*, *Azadinium*, *Prorocentrum*). Otra especie con HKs fue *Noctiluca scintillans*, conocida por producir eventos de luminiscencia en las costas de mares y océanos de todo el mundo, y que, además, carece de cloroplastos (Sato et al., 2010). Algunas microalgas como, *Brandtodinium nutricula* puede vivir en simbiosis con protistas del orden Spumellaria, Collodaria y Nassellaria (Probert et al., 2014) y *Pelagodinium beii* puede asociarse con Foraminíferos (Decelle J et al., 2015). El resto de estos dinoflagelados, se pueden encontrar en vida libre y planctónico (Gómez,

2012), por lo que no se observa una relación en la cantidad de proteínas HK simples e híbridas, respecto al estilo de vida del dinoflagelado (Tabla 4).

## 8.2. Análisis filogenético de proteínas HK

Los análisis filogenéticos de histidina cinasas en Symbiodiniaceae (Fig. 5) indican que estas proteínas se han duplicado específicamente en las especies, y muchas de esas copias comparten una alta similitud de aminoácidos con linajes de la misma familia. Contrastado con los análisis de Kabbara y colaboradores (2019), donde presentaron la primera descripción de histidinas cinasas en el supergrupo SAR, y atribuyeron características heterogéneas a las proteínas HK, debido a que este grupo de protistas se caracteriza por contener una gran cantidad de especies genéticamente distantes con características genómicas divergentes (Grant y Katz, 2014).

Se obtuvo un patrón en la agrupación de proteínas HK respecto a los dominios conservados que presentaron las proteínas en los diferentes organismos de estudio, pero no surgió un patrón filogenético en la agrupación de las especies de la familia Symbiodiniaceae, por lo que se sugiere que el origen de las proteínas histidina cinasas en esta familia, están estrechamente relacionadas (Fig. 5).

La diversificación de linajes en Symbiodiniaceae se dio a partir del clado ancestral A, hace aproximadamente 160 m.a. Aunque la filogenia de esta familia de dinoflagelados refleja una divergencia notable en los clados de los géneros *Symbiodinium* y *Cladocopium* (Fig. 1; LaJeunesse et al., 2018), las proteínas HK de *Cladocopium* sp. se agrupan en un 80% con las proteínas putativas de *S. tridacnidorum* (Fig. 5) a pesar de presentar un tiempo de divergencia mayor a 140 m.a., contrario con lo estipulado por LaJeunesse y colaboradores (2018), que sugiere que especies de géneros con un tiempo de divergencia alto, presentan menos genes ortólogos. Por lo que posiblemente, estas proteínas en *Cladocopium* sp., son de origen monofilético, adquiridas a partir de un ancestro común lejano. Mientras que, las dos proteínas HK de *F. kawagutii*, coinciden con las proteínas de *Breviolum minutum*, que se consideran linajes con un tiempo de divergencia corto (aprox. 70 m.a.) (Fig. 5), reafirmando el hecho de que las histidinas cinasas en estos géneros son de origen monofilético.

De igual modo, en el análisis filogenético (Fig. 5), las proteínas HK simples e híbridas de los dinoflagelados de la clase Dinophyceae formaron clados basales, lo que confirma que el origen de las proteínas HK sucedió hace miles de años en un ancestro común de microalgas dinoflageladas y que, al pasar del tiempo, la familia Symbiodiniaceae fue conservando copias del mismo gen en su genoma, a medida que se volvía necesario para la transducción de señales en la relación Symbiodiniaceae-Cnidario.

### **8.3. Predicción de la ubicación subcelular, dominios y función de cada HK de Symbiodiniaceae**

Se encontró una relación en la ubicación de las proteínas histidina cinasas dentro de la célula respecto a los dominios conservados que presentaron. Las proteínas simples e híbridas, se posicionaron mayoritariamente en el citoplasma de las células (Fig. 6 y 7). Esto se debe posiblemente a que las proteínas HK podrían actuar como receptores citoplasmáticos de ligandos solubles, llevando a cabo la transducción de señales entre el medio externo e interno de las células (Kabbara et al. 2018).

Los programas de predicción de la localización subcelular tienden a usar características típicas en proteínas homólogas para predecir la ubicación de una proteína; no obstante, debe complementarse con una explicación biológica en el mayor de los casos para no caer en un error, como en el caso de la ubicación en el núcleo por causa de la región reguladora de respuesta (REC). Las proteínas REC pueden actuar como factores de transcripción al interactuar con el ADN, también pueden interactuar con ARN y otras proteínas (Mideros-Mora, 2021), por lo tanto, cuando se predice la ubicación subcelular de las proteínas HKs, no es debidamente recomendado acatar tal predicción al 100%; ya que, la naturaleza de los dominios proteicos puede actuar de manera contraproducente ante la ubicación exacta de la proteína dentro de la microalga. En estos casos, es necesario realizar experimentos *in vitro* y corroborar la ubicación de dichas proteínas. Este podría ser el caso para las HKs de *Breviolum minutum*, donde el 75% de las proteínas predichas en el núcleo, son histidinas cinasas híbridas (Fig. 7, Tabla S7).

Por otro lado, la gran mayoría de las HK en hongos y plantas son de naturaleza soluble, por lo que se cree que estas proteínas pueden tener la capacidad de entrar al núcleo e interactuar con factores de transcripción, proteínas modificadoras de histonas y otras proteínas que regulan la expresión génica (Foureau et al., 2014;

Hedtke et al., 2015). Aunque en plantas, algunas proteínas REC que se encuentran en el núcleo se activan con el grupo fosforilo que viaja desde una fosfotransferasa proveniente de una HK en el citoplasma (Mideros-Mora, 2021).

La estructura de las proteínas histidina cinasas de este trabajo (Fig. 9 y 10) son similares a proteínas multi-PAS y AHK5 (Tabla 1), de las cuales se desconoce sus posibles funciones dentro de los eucariotas; aunque en plantas, se cree que AHK5 actúa en el cierre estomático inducido por estrés, sensibilidad a la sal, resistencia a infecciones bacterianas (Kabbara et al., 2019; Papon y Stock, 2019). Una posible función de estas proteínas podría ser el sensado del estrés osmótico (Suescún-Bolívar, 2018), al igual que la proteína SLN1 en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, capaz de modular una respuesta frente a la turgencia celular (Reiser et al., 2003).

En las proteínas HKs encontradas de Symbiodiniaceae y Dinophyceae, no se presentó el dominio extracelular y periplasmático CHASE (sensor extracelular asociado a histidinas cinasas), presente en el extremo N-terminal de los receptores de citoquininas en bacterias, cianobacterias, amebas, hongos y plantas (Fig. 9 y 10) (Kabbara et al., 2018).

Los dominios PAS-PAC pueden influenciar la predicción de la ubicación subcelular de las proteínas HK; aunque esto corrobora que realmente las proteínas si se encuentran mayormente en el citoplasma de las células, ya que, este dominio participa como un factor de transcripción y actúa como regulador de ritmo circadiano, recepción y regulación de la luz, en hongos (Linden, 1997). En bacterias se sabe que estos dominios están asociados con dominios de entrada y proteínas sensoras de oxígeno y redox que regula histidinas cinasas (Zhulin, 1997). Pero sería erróneo atribuir que la ubicación de estas proteínas en el citoplasma se deba ciertamente a la presencia del dominio PAS-PAC; ya que, estos dominios se encuentran únicamente en el 25% de las proteínas HK presentes en el citoplasma de las microalgas Symbiodiniaceae, y en el 86% de las ubicaciones citoplasmáticas predichas para Dinophyceae. Sin embargo, aunque no se predijeron proteínas HK simples e híbridas en el cloroplasto de las microalgas (Fig. 6, 7 y 8), no se puede descartar la posibilidad de que estos dominios receptores y reguladores de luz (PAS-PAC) actúen de cierto modo en este organelo.

A diferencia de las HK procariotas que poseen un dominio de detección extracelular; en la mayoría de los eucariotas, las señales ambientales son detectadas directamente

o indirectamente por el externo N-terminal de la HK, que puede o no estar unido a dominios PAS-PAC, presentes generalmente en el citosol. Las histidinas cinasas ausentes de dominios transmembranales transducen señales internas como potenciales redox en el citosol (Catlett et al., 2003; Jacob et al., 2014). Un ejemplo de esto es la HK-Desk de *Bacillus subtilis*, que, al no presentar dominios sensoriales, es capaz de detectar el estrés por temperatura a través de cinco cruces transmembranales del extremo N-terminal (Aguilar, 2001; Álvarez y Georgellis, 2016).

En la predicción de la ubicación subcelular de las proteínas putativas de histidina cinasa tanto simples como híbridas, se presentó una afinidad hacia la membrana plasmática, en las microalgas con estilo de vida simbiote de la familia Symbiodiniaceae. Esto posiblemente se debe a que las proteínas encontradas en estos simbioses, contienen pliegues transmembranales que actúan como sensores de cambios en el medio extracelular de las microalgas (Kabbara et al., 2019; Papón et al., 2019), simbioses de corales del orden Scleractinia.

La localización subcelular de proteínas puede predecirse y determinarse de diferentes maneras. En este trabajo se predijo la ubicación subcelular de proteínas HK, por medio de un programa online que compara las secuencias de aminoácidos en estudio, con términos de ontología génica (GO) en proteínas presentes en un conjunto de bases de datos (Briesemeister, 2010). También existen otros métodos bioinformáticos en los cuales, se estudian las regiones UTR 3' 5' que regulan la ubicación de proteínas sintetizadas mediante la formación de complejos UTR en los RNAm de los transcriptomas (Ribeiro et al., 2020). Adicional a esto, los análisis experimentales siempre serán la mejor opción para corroborar el sitio exacto de ubicación y función de las proteínas dentro de las células; por medio de estudios bioquímicos como, análisis de co-precipitación (pull-down), solubilización específica con buffers de diferente fuerza iónica y separación de microsomas, para observar cada fracción resultante mediante análisis de western-blot (Louche et al., 2017) y por análisis celulares como inmunohistoquímica con anticuerpos específicos para estas HKs y microscopía confocal (Qin et al., 2020).

## 9. Conclusiones

Por primera vez se realizó una caracterización *in silico* de proteínas Histidina cinasas en dinoflagelados con estilo de vida libre, simbiótico y oportunista de la familia Symbiodiniaceae.

- Las proteínas HK predominan en el espacio citoplasmático dentro de las microalgas de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae. Los programas desarrollados para predecir la ubicación subcelular, pueden ser una opción rápida cuando no se es posible realizar experimentos *in vitro* e *in vivo*, aunque en algunos casos estos programas pueden no ser exactos en su predicción; y, por ende, es necesario acudir a protocolos de laboratorio para determinar el sitio o lugares de acción real de las proteínas.
- La abundancia de proteínas HK en Symbiodiniaceae está relacionada directamente con microalgas que presentan un estilo de vida simbiótico, a diferencia de lo que se pensaría típicamente, respecto a que la abundancia de HKs es menor en organismos que viven en entornos poco cambiantes. Estas histidinas cinasas podrían estar implicadas en el balance redox, detección de oxígeno y cierto tipo de estrés, como la luz, otorgado por los dominios adicionales que presentan las secuencias en su N-terminal. Aunque es necesario complementar los resultados obtenidos aquí, por medio de análisis *in vitro*, para verificar las posibles funciones y sitios de acción de las HKs en la familia Symbiodiniaceae, en el contexto de la simbiosis mutualista con algacnidario.

## 10. Referencias bibliográficas

- Aguilar, P. S. (2001). Molecular basis of thermosensing: a two-component signal transduction thermometer in *Bacillus subtilis*. *The EMBO Journal*, 20(7). <https://doi.org/10.1093/emboj/20.7.1681>
- Álvarez, A. F., y Georgellis, D. (2016). Características y funcionamiento de los sistemas de dos componentes de organismos procariotas y eucariotas. *Química Viva*, 15(3), 11–27.
- Aranda, M., Li, Y., Liew, Y. J., Baumgarten, S., Simakov, O., Wilson, M. C., Piel, J., Ashoor, H., Bougouffa, S., Bajic, V. B., Ryu, T., Ravasi, T., Bayer, T., Micklem, G., Kim, H., Bhak, J., LaJeunesse, T. C., y Voolstra, C. R. (2016). Genomes of coral dinoflagellate symbionts highlight evolutionary adaptations conducive to a symbiotic lifestyle. *Scientific Reports*, 6(1). <https://doi.org/10.1038/srep39734>
- Barba-Ostria, C. A. (2014). Los sistemas de dos componentes: circuitos moleculares versátiles. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 17(1), 62–76.
- Brewster J. L., Gustin M. C. (2014). Hog1: 20 years of discovery and impact. *Sci. Signal*. 7:re7. [10.1126/scisignal.2005458](https://doi.org/10.1126/scisignal.2005458)
- Briesemeister, S., R. J., K. O. (2010). Going from where to why - interpretable prediction of protein subcellular localization. *Bioinformatics*, 26(9), 1232–1238.
- Capra, E. J., y Laub, M. T. (2012). Evolution of two-component signal transduction systems. *Annual Review of Microbiology*, 66(1). <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-092611-150039>
- Catlett, N. L., Yoder, O. C., y Turgeon, B. G. (2003). Whole-Genome analysis of two-component signal transduction genes in fungal pathogens. *Eukaryotic Cell*, 2(6). <https://doi.org/10.1128/EC.2.6.1151-1161.2003>
- Chang, C., Kwok, S., Bleecker, A., y Meyerowitz, E. (1993). *Arabidopsis* ethylene-response gene *ETR1*: similarity of product to two-component regulators. *Science*, 262(5133). <https://doi.org/10.1126/science.8211181>
- Decelle J, Colin S, y Foster RA. (2015). *Marine Protists: Diversity and Dynamics* (S. Ohtsuka, T. Suzaki, T. Horiguchi, N. Suzuki, y F. Not, Eds.). Springer Japan. <https://doi.org/10.1007/978-4-431-55130-0>

- Fautin, D. G. (2009). Structural diversity, systematics, and evolution of cnidae. *Toxicon*, 54(8). <https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2009.02.024>
- Fay, S. A., Weber, M. X., y Lipps, J. H. (2009). The distribution of *Symbiodinium* diversity within individual host foraminifera. *Coral Reefs*, 28(3). <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0511-y>
- Foureau, E., Clastre, M., Obando Montoya, E. J., Besseau, S., Oudin, A., Glévarec, G., Simkin, A. J., Crèche, J., Atehortúa, L., Giglioli-Guivarc'h, N., Courdavault, V., y Papon, N. (2014). Subcellular localization of the histidine kinase receptors Sln1p, Nik1p and Chk1p in the yeast CTG clade species *Candida guilliermondii*. *Fungal Genetics and Biology*, 65. <https://doi.org/10.1016/j.fgb.2014.01.007>
- Galperin, M. Y. (2005). A census of membrane-bound and intracellular signal transduction proteins in bacteria: Bacterial IQ, extroverts and introverts. *BMC Microbiology*, 5(35). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-5-35>
- Galperin, M. Y., Higdon, R., y Kolker, E. (2010). Interplay of heritage and habitat in the distribution of bacterial signal transduction systems. *Molecular BioSystems*, 6(4). <https://doi.org/10.1039/b908047c>
- Gómez, F. (2012). A quantitative review of the lifestyle, habitat and trophic diversity of dinoflagellates (Dinoflagellata, Alveolata). *Systematics and Biodiversity*, 10(3). <https://doi.org/10.1080/14772000.2012.721021>
- González-Pech, R. A., Stephens, T. G., Chen, Y., Mohamed, A. R., Cheng, Y., Shah, S., Dougan, K. E., Fortuin, M. D. A., Lagorce, R., Burt, D. W., Bhattacharya, D., Ragan, M. A., y Chan, C. X. (2021). Comparison of 15 dinoflagellate genomes reveals extensive sequence and structural divergence in family Symbiodiniaceae and genus *Symbiodinium*. *BMC Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12915-021-00994-6>
- Grant, J. R., y Katz, L. A. (2014). Building a phylogenomic pipeline for the eukaryotic tree of life - addressing deep phylogenies with genome-scale data. *PLoS Currents*. <https://doi.org/10.1371/currents.tol.c24b6054aebf3602748ac042ccc8f2e9>
- Hedtke, M., Rauscher, S., Röhrig, J., Rodríguez-Romero, J., Yu, Z., y Fischer, R. (2015). Light-dependent gene activation in *Aspergillus nidulans* is strictly dependent on phytochrome and involves the interplay of phytochrome and white collar-regulated histone H3 acetylation. *Molecular Microbiology*, 97(4). <https://doi.org/10.1111/mmi.13062>

- Hérivaux, A., So, Y.-S., Gastebois, A., Latgé, J.-P., Bouchara, J.-P., Bahn, Y.-S., y Papon, N. (2016). Major Sensing proteins in pathogenic fungi: The hybrid histidine kinase family. *PLOS Pathogens*, 12(7). <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005683>
- Hillyer, K. E., Dias, D., Lutz, A., Roessner, U., y Davy, S. K. (2018). <sup>13</sup>C metabolomics reveals widespread change in carbon fate during coral bleaching. *Metabolomics*, 14(1). <https://doi.org/10.1007/s11306-017-1306-8>
- Hoek, C., Mann, D., Jahns, H. M., y Jahns, M. (1995). Algae: an introduction to phycology. *Cambridge University Press*.
- Hu, M., Zheng, X., Fan, C.-M., y Zheng, Y. (2020). Lineage dynamics of the endosymbiotic cell type in the soft coral *Xenia*. *Nature*, 582(7813). <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2385-7>
- Jacob, S., Foster, A. J., Yemelin, A., y Thines, E. (2014). Histidine kinases mediate differentiation, stress response, and pathogenicity in *Magnaporthe oryzae*. *MicrobiologyOpen*, 3(5). <https://doi.org/10.1002/mbo3.197>
- Kabbara, S., Hérivaux, A., Dugé de Bernonville, T., Courdavault, V., Clastre, M., Gastebois, A., Osman, M., Hamze, M., Cock, J. M., Schaap, P., y Papon, N. (2019). Diversity and evolution of sensor histidine kinases in eukaryotes. *Genome Biology and Evolution*, 11(1). <https://doi.org/10.1093/gbe/evy213>
- Kabbara, S., Schmölling, T., y Papon, N. (2018). CHASEing cytokinin receptors in plants, bacteria, fungi, and beyond. *Trends in Plant Science*, 23(3). <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2018.01.001>
- Kang, J., Park, J. S., Jung, S. W., Kim, H., Joo, H. M., Kang, D., Seo, H., Kim, S., Jang, M., Lee, K., Jin Oh, S., Lee, S., y Lee, T. (2021). Zooming on dynamics of marine microbial communities in the phycosphere of *Akashiwo sanguinea* (Dinophyta) blooms. *Molecular Ecology*, 30(1). <https://doi.org/10.1111/mec.15714>
- Kenney, L. J., y Anand, G. S. (2020). EnvZ/OmpR two-component signaling: an archetype system that can function noncanonically. *EcoSal Plus*, 9(1). <https://doi.org/10.1128/ecosalplus.ESP-0001-2019>
- Kumar S, Stecher G, Li M, Knyaz C, y Tamura K. (2018). MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35, 1547–1549.

- LaJeunesse, T. C., Lee, S. Y., Gil-Agudelo, D. L., Knowlton, N., y Jeong, H. J. (2015). *Symbiodinium necroappetens* sp. nov. (Dinophyceae): an opportunist 'zooxanthella' found in bleached and diseased tissues of Caribbean reef corals. *European Journal of Phycology*, 50(2). <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1025857>
- LaJeunesse, T. C., Parkinson, J. E., Gabrielson, P. W., Jeong, H. J., Reimer, J. D., Voolstra, C. R., y Santos, S. R. (2018). Systematic revision of Symbiodiniaceae highlights the antiquity and diversity of coral endosymbionts. *Current Biology*, 28(16). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.07.008>
- Lefort, V., Longueville, J. E., y Gascuel, O. (2017). "SMS: Smart Model Selection in PhyML." *Molecular Biology and Evolution*, 34(9), 2422–2424.
- Lin, S., Cheng, S., Song, B., Zhong, X., Lin, X., Li, W., Li, L., Zhang, Y., Zhang, H., Ji, Z., Cai, M., Zhuang, Y., Shi, X., Lin, L., Wang, L., Wang, Z., Liu, X., Yu, S., Zeng, P., ... Morse, D. (2015). The *Symbiodinium kawagutii* genome illuminates dinoflagellate gene expression and coral symbiosis. *Science*, 350(6261). <https://doi.org/10.1126/science.aad0408>
- Linden, H. (1997). White collar 2, a partner in blue-light signal transduction, controlling expression of light-regulated genes in *Neurospora crassa*. *The EMBO Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.1093/emboj/16.1.98>
- Louche, A., Salcedo, S. P., y Bigot, S. (2017). Protein–Protein Interactions: Pull-Down Assays. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7033-9\\_20](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7033-9_20)
- Mascher, T., Helmann, J. D., & Uden, G. (2006). Stimulus perception in bacterial signal-transducing histidine kinases. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 70(4). <https://doi.org/10.1128/MMBR.00020-06>
- Miller, M. A., Pfeiffer, W., & Schwartz, T. (2010). Creating the CIPRES Science Gateway for inference of large phylogenetic trees. *Proceedings of the Gateway Computing Environments Workshop (GCE)*, 1–8.
- Mideros Mora, C. (2021). *Bases moleculares de la especificidad en el mecanismo de transducción de señal en los sistemas de dos componentes bacterianos*. <https://doi.org/10.4995/Thesis/10251/161920>
- Mizuno, T., Wurtzel, E. T., y Inouye, M. (1982). Osmoregulation of gene expression. II. DNA sequence of the envZ gene of the ompB operon of *Escherichia coli* and characterization of its gene product. *The Journal of Biological Chemistry*, 257(22), 13692–13698.

- Muller-Parker, G., Lee, K. W., y Cook, C. B. (1996). Changes in the ultrastructure of symbiotic zooxanthellae (*Symbiodinium* Sp., Dinophyceae) in fed and starved sea anemones maintained under high and low light. *Journal of Phycology*, 32(6).  
<https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1996.00987.x>
- Muscantine, L. (1967). Glycerol excretion by symbiotic algae from corals and *Tridacna* and its control by the host. *Science*, 156(3774).  
<https://doi.org/10.1126/science.156.3774.516>
- Nybakken, J. W. (1993). Marine Biology. An ecological approach. *Harper Collins*, 2, 38–41.
- Ochsenkühn, M. A., Röthig, T., D'Angelo, C., Wiedenmann, J., y Voolstra, C. R. (2017). The role of floridoside in osmoadaptation of coral-associated algal endosymbionts to high-salinity conditions. *Science Advances*, 3(8).  
<https://doi.org/10.1126/sciadv.1602047>
- Ota, I., y Varshavsky, A. (1993). A yeast protein similar to bacterial two-component regulators. *Science*, 262(5133). <https://doi.org/10.1126/science.8211183>
- Papon, N., y Stock, A. M. (2019). What do archaeal and eukaryotic histidine kinases sense? *F1000Research*, 8. <https://doi.org/10.12688/f1000research.20094.1>
- Pawlowski, J., Holzmann, M., Fahrni, J. F., Pochon, X., y Lee, J. J. (2001). Molecular identification of algal endosymbionts in large miliolid Foraminifera: 2. Dinoflagellates. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, 48(3).  
<https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2001.tb00326.x>
- Probert, I., Siano, R., Poirier, C., Decelle, J., Biard, T., Tuji, A., Suzuki, N., y Not, F. (2014). *Brandtodinium* gen. nov. and *B. nutricula* comb. Nov. (Dinophyceae), a dinoflagellate commonly found in symbiosis with polycystine radiolarians. *Journal of Phycology*, 50(2). <https://doi.org/10.1111/jpy.12174>
- Qin, H., Zheng, Y., Wang, M., Zhang, Z., Niu, Z., Ma, L., Sun, Q., Huang, H., y Wang, X. (2020). Subcellular localization of GTPase of immunity-associated protein 2. *Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 52(2), 221–226.
- Reiser, V., Raitt, D. C., y Saito, H. (2003). Yeast osmosensor Sln1 and plant cytokinin receptor Cre1 respond to changes in turgor pressure. *Journal of Cell Biology*, 161(6).  
<https://doi.org/10.1083/jcb.200301099>

- Ren, B., Liang, Y., Deng, Y., Chen, Q., Zhang, J., Yang, X., y Zuo, J. (2009). Genome-wide comparative analysis of type-A Arabidopsis response regulator genes by overexpression studies reveals their diverse roles and regulatory mechanisms in cytokinin signaling. *Cell Research*, 19(10). <https://doi.org/10.1038/cr.2009.88>
- Ribeiro, D. M., Prod'homme, A., Teixeira, A., Zanzoni, A., y Brun, C. (2020). The role of 3'UTR-protein complexes in the regulation of protein multifunctionality and subcellular localization. *Nucleic Acids Research*, 48(12). <https://doi.org/10.1093/nar/gkaa462>
- Ryzhykau, Y. L., Orekhov, P. S., Rulev, M. I., Vlasov, A. v., Melnikov, I. A., Volkov, D. A., Nikolaev, M. Yu., Zabelskii, D. v., Murugova, T. N., Chupin, V. v., Rogachev, A. v., Gruzinov, A. Yu., Svergun, D. I., Brennich, M. E., Gushchin, I. Yu., Soler-Lopez, M., Bothe, A., Büldt, G., Leonard, G., ... Gordeliy, V. I. (2021). Molecular model of a sensor of two-component signaling system. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89613-6>
- Sato, N. E., Hernández, D., y Viñas, M. D. (2010). Hábitos alimentarios de *Noctiluca scintillans* en aguas costeras de la Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Latin American Journal of Aquatic Research*, 38(3), 403–412.
- Sharan, A., Soni, P., Nongpiur, R. C., Singla-Pareek, S. L., y Pareek, A. (2017). Mapping the 'Two-component system' network in rice. *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-08076-w>
- Shoguchi, E., Beedessee, G., Tada, I., Hisata, K., Kawashima, T., Takeuchi, T., Arakaki, N., Fujie, M., Koyanagi, R., Roy, M. C., Kawachi, M., Hidaka, M., Satoh, N., y Shinzato, C. (2018). Two divergent *Symbiodinium* genomes reveal conservation of a gene cluster for sunscreen biosynthesis and recently lost genes. *BMC Genomics*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12864-018-4857-9>
- Shoguchi, E., Shinzato, C., Kawashima, T., Gyoja, F., Mungpakdee, S., Koyanagi, R., Takeuchi, T., Hisata, K., Tanaka, M., Fujiwara, M., Hamada, M., Seidi, A., Fujie, M., Usami, T., Goto, H., Yamasaki, S., Arakaki, N., Suzuki, Y., Sugano, S., ... Satoh, N. (2013). Draft assembly of the *Symbiodinium minutum* nuclear genome reveals dinoflagellate gene structure. *Current Biology*, 23(15). <https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.05.062>

- Sigrist, C. J. A., de Castro, E., Cerutti, L., Cuche, B. A., Hulo, N., Bridge, A., Bougueleret, L., & Xenarios, I. (2012). New and continuing developments at PROSITE. *Nucleic Acids Research*, 41(D1). <https://doi.org/10.1093/nar/gks1067>
- Simpson, C., Kiessling, W., Mewis, H., Baron-Szabo, R. C., y Müller, J. (2011). Evolutionary diversification of reef corals: a comparison of the molecular and fossil records. *Evolution*, 65(11). <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2011.01365.x>
- Stock, A. M., Robinson, V. L., y Goudreau, P. N. (2000). Two-Component Signal Transduction. *Annual Review of Biochemistry*, 69(1). <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.69.1.183>
- Suescún-Bolívar, L. P. (2018). *Identificación de una vía MAPK involucrada en la síntesis de glicerol en Symbiodinium minutum, genotipo B1.*
- Suescún-Bolívar, L. P., y Thomé, P. E. (2015). Osmosensing and osmoregulation in unicellular eukaryotes. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 31(3). <https://doi.org/10.1007/s11274-015-1811-8>
- Suescún-Bolívar, L. P., Traverse, G. M. I., y Thomé, P. E. (2016). Glycerol outflow in *Symbiodinium* under osmotic and nitrogen stress. *Marine Biology*, 163(5). <https://doi.org/10.1007/s00227-016-2899-6>
- Terán-Melo, J. L., Rodríguez-Rangel, C., Georgellis, D., y Álvarez, A. F. (2019). Mecanismos de autofosforilación y transfosforilación en sistemas de dos componentes bacterianos. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 22. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2019.0.162>
- Trench, R. K. (1971). The physiology and biochemistry of zooxanthellae symbiotic with marine coelenterates. II. Liberation of fixed  $^{14}\text{C}$  by zooxanthellae *in vitro*. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*, 177(1047). <https://doi.org/10.1098/rspb.1971.0025>
- Trench, R. K. (1979). The cell biology of plant-animal symbiosis. *Annual Review of Plant Physiology*, 30(1). <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.30.060179.002413>
- Yamashita, H, Suzuki, G., Shinzato, C., Jimbo, M., y Koike, K. (2018). Symbiosis process between Acropora larvae and *Symbiodinium* differs even among closely related *Symbiodinium* types. *Marine Ecology Progress Series*, 592. <https://doi.org/10.3354/meps12474>

- Yamashita, Hiroshi, y Koike, K. (2013). Genetic identity of free-living *Symbiodinium* obtained over a broad latitudinal range in the Japanese coast. *Phycological Research*, 61(1). <https://doi.org/10.1111/pre.12004>
- Yellowlees, D., Rees, T. A. v., y Leggat, W. (2008). Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts. *Plant, Cell & Environment*, 31(5). <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x>
- Yuyama I, H. T. M. T. (2016). *Symbiodinium kawagutii* (clade F) coats the surface of *Acropora solitaryensis*, resulting in the formation of a sheet-like crust. *Proceedings of the 13th International Coral Reef Symposium*, 49–56.
- Zhulin, I. (1997). PAS domain S-boxes in archaea, bacteria and sensors for oxygen and redox. *Trends in Biochemical Sciences*, 22(9). [https://doi.org/10.1016/S0968-0004\(97\)01110-9](https://doi.org/10.1016/S0968-0004(97)01110-9)

## 11. Datos suplementarios

### Tablas suplementarias

Las siguientes tablas suplementarias son el resultado de las predicciones de dominios conservados y ubicación subcelular de las proteínas simples e híbridas de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae. La predicción de la ubicación subcelular se realizó en YLoc (Briesemeister, 2010) (<https://abi-services.informatik.uni-tuebingen.de/yloc/webloc.cgi>) y la predicción de dominios conservados se llevó a cabo en el programa PROSITE (Sigrist et al., 2012) (<https://prosite.expasy.org/>).

Estos datos hacen referencia a todas las proteínas encontradas en nueve especies de microalgas de la familia Symbiodiniaceae (Tablas S1, S2, S3, ... S9) y a 21 especies de dinoflagelados pertenecientes a la clase Dinophyceae (Tabla S10). También se incluyen 35 secuencias de proteínas HK simples e híbridas encontradas en bacterias, hongos, plantas y protistas (Tabla S11).

Al predecir la ubicación subcelular, el programa YLoc arroja las posibles ubicaciones con un porcentaje de probabilidad, el cual sustenta que la proteína posiblemente si se encuentren en el sitio predicho. Para realizar los análisis correspondientes a la predicción de la ubicación subcelular (Fig. 6, 7 y 8), se utilizó únicamente la ubicación prevista representada con la probabilidad más alta.

**Tabla suplementaria 1.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 36 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium* sp.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
Ssp83458	Mitocondria	97,1%	Citoplasma	2,9%	HK	-
Ssp77854	Citoplasma	39,9%	Núcleo	35%	HK - REC	PAS
Ssp38050	Núcleo	31%	Citoplasma	24,4%	HK - REC	PAS
Ssp69219	Citoplasma	84,6%	Núcleo	7,2%	HK	-
Ssp26378	Aparato de Golgi	67%	Mitocondria	24,5%	HK - REC	PAS
Ssp75210	Mitocondria	99,6%	Citoplasma	0,2%	HK	-
Ssp08735	Membrana plasmática	85,6%	Aparato de Golgi	13,5%	HK - REC	PAS
Ssp28873	Citoplasma	61,3%	Núcleo	37,5%	HK - REC	PAS - PAC, CHER, CHEB
Ssp29059	Membrana plasmática	70,5%	Vacuola	25,9%	HK	-

Ssp36926	Aparato de Golgi	46%	Membrana plasmática	32,7%	HK	-
Ssp43744	Mitocondria	75,5%	Citoplasma	21,3%	HK	-
Ssp61216	Aparato de Golgi	46%	Membrana plasmática	32,7%	HK - REC	2 PAS
Ssp60391	Mitocondria	99,2%	Aparato de Golgi	0,8%	HK - REC	-
Ssp48030	Aparato de Golgi	86,1%	Membrana plasmática	13,4%	HK - REC	-
Ssp34458	Mitocondria	97,1%	Citoplasma	2,9%	HK	-
Ssp47997	Peroxisoma	82,2%	Membrana plasmática	15,5%	HK - REC	-
Ssp27178	Núcleo	93,1%	Citoplasma	6,9%	HK - 2 REC	1 PAS - 2 PAC
Ssp18573	Retículo endoplasmático	84,2%	Aparato de Golgi	14%	HK - 2 REC	-
Ssp50113	Núcleo	59,9%	Citoplasma	39,8%	HK - 2 REC	PAS - PAC, HPT
Ssp72086	Membrana plasmática	47,8%	Aparato de Golgi	45,6%	HK - REC	2 PAS - PAC
Ssp72085	Núcleo	93,6%	Citoplasma	5,1%	HK - REC	2 PAS - PAC
Ssp66696	Núcleo	75,1%	Citoplasma	12,1%	HK - REC	2 PAS
Ssp32663	Núcleo	99%	Citoplasma	1%	HK - REC	2 PAS - 2 PAC
Ssp44979	Núcleo	50,4%	Vacuola	26,4%	HK - REC	2 PAS, SAC
Ssp76134	Núcleo	94%	Citoplasma	3%	HK - REC	2 PAS
Ssp80043	Núcleo	92,5%	Citoplasma	7,3%	HK - REC	2 PAS
Ssp17791	Aparato de Golgi	76,1%	Membrana plasmática	9%	HK - REC	-
Ssp34581	Mitocondria	97,1%	Citoplasma	2,9%	HK	-
Ssp58853	Aparato de Golgi	65,3%	Membrana plasmática	26%	HK	HAMP
Ssp57214	Membrana plasmática	76,1%	Aparato de Golgi	19,4%	HK	OMPA_2
Ssp60923	Núcleo	98,1%	Peroxisoma	1,4%	HK	PAS
Ssp40967	Membrana plasmática	95,9%	Mitocondria	1,8%	HK	HAMP
Ssp60830	Aparato de Golgi	93,9%	Vacuola	3,8%	HK	PAS
Ssp71078	Aparato de Golgi	97,35%	Mitocondria	1,7%	HK	-
Ssp60246	Núcleo	85,5%	Citoplasma	14,3%	HK - REC	9 PAS - 5 PAC
Ssp57267	Aparato de Golgi	63,4%	Membrana plasmática	35,6%	HK - REC	2 PAS - PAC

**Tabla suplementaria 2.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 16 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium microadriaticum*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
Smic75704	Aparato de Golgi	71,8%	Retículo endoplasmático	13,9%	HK - REC	PAS - PAC
Smic71327	Aparato de Golgi	55,7%	Membrana plasmática	24,4%	HK - REC	2 PAS
Smic47451	Membrana plasmática	53%	Aparato de Golgi	24,6%	HK - REC	2 PAS
Smic49910	Aparato de Golgi	84,1%	Membrana plasmática	8%	HK - REC	HPT
Smic04503	Núcleo	91,4%	Citoplasma	7,8%	HK - REC	2 PAS - 2 PAC, HPT
Smic04541	Citoplasma	69%	Núcleo	26,4%	HK - REC	OMPR
Smic33485	Citoplasma	69%	Núcleo	26,4%	HK - REC	-
Smic69498	Peroxisoma	77,4%	Citoplasma	18,6%	HK - REC	-
Smic04214	Citoplasma	99%	Peroxisoma	1%	HK	-
Smic94823	Citoplasma	85%	Peroxisoma	12,3%	HK	-
Smic75830	Citoplasma	98,2%	Núcleo	0,9%	HK - REC	-
Smic00412	Aparato de Golgi	93,8%	Membrana plasmática	4,1%	HK - REC	STAS
Smic36076	Citoplasma	69,8%	Peroxisoma	26,6%	HK	-
SmiG22344	Citoplasma	87,4%	Núcleo	9,3%	HK - REC	2 PAS
SmiG33019	Citoplasma	65,9%	Mitocondria	33,7%	HK	2 CCA-PPIASE
SmiG44004	Citoplasma	87,4%	Núcleo	9,3%	HK - REC	-

**Tabla suplementaria 3.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 2 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium natans*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
Snat61781	Núcleo	79,5%	Citoplasma	20,3%	HK - REC	6 PAS - 4 PAS, Guanilato
Snat30554	Citoplasma	88,9%	Peroxisoma	9,9%	HK - REC	-

**Tabla suplementaria 4.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 6 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium necroappetens*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
Snec53037	Mitocondria	95,5%	Citoplasma	3,7%	HK	-
Snec67680	Citoplasma	90,5%	Peroxisoma	9,2%	HK - REC	-
Snec02287	Citoplasma	100%	-	-	HK - REC	-
Snec53609	Citoplasma	83,2%	Mitocondria	11,5%	HK	-
Snec26346	Núcleo	99,9%	Peroxisoma	0,1%	HK - REC	PAS, OMPR, HAMP
Snec49031	Citoplasma	95,3%	Peroxisoma	4,5%	HK - 2 REC	-

**Tabla suplementaria 5.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 6 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium pilosum*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
Spil59803	Mitocondria	59,8%	Aparato de Golgi	18,7%	HK - REC	PAS
Spil74324	Núcleo	93,62%	Mitocondria	5,3%	HK - REC	2 PAS - SAC
Spil83717	Citoplasma	88,2%	Peroxisoma	6%	HK	-
Spil65661	Núcleo	95,9%	Citoplasma	3,7%	HK - REC	-
Spil49173	Citoplasma	85,5%	Mitocondria	10,3%	HK	-
Spil65679	Aparato de Golgi	97,3%	Vacuola	1,4%	HK	-

**Tabla suplementaria 6.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 27 proteínas putativas HKs de *Symbiodinium tridacnidorum*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad		Probabilidad			
A151_t1	Aparato de Golgi	92,9%	Reticulo endoplasmático	6,5%	HK - REC	PAS - PAC
A701_t1	Mitocondria	68,4%	Citoplasma	25,1%	2 HK	-
A272_t1	Mitocondria	84,1%	Aparato de Golgi	14,2%	HK	PAC
A1498_t1	Citoplasma	84,8%	Peroxisoma	12,4%	HK	-
A1302_t1	Citoplasma	50,3%	Núcleo	48,7%	HK	2 PAS - 3 PAC
A1563_t1	Citoplasma	85,3%	Peroxisoma	12,5%	HK	PAC
A1631_t1	Membrana plasmática	39,9%	Vacuola	23,7%	HK	-

A489_t1	Membrana plasmática	83,3%	Vacuola	8,9%	HK	-
A1075_t1	Aparato de Golgi	62%	Retículo endoplasmático	28%	HK	-
A5446_t1	Núcleo	97,6%	Citoplasma	2,3%	HK - REC	PAS
A982_t1	Citoplasma	93,5%	Peroxisoma	4,4%	HK - 2 REC	-
A488_t1	Núcleo	49,7%	Citoplasma	40,2%	HK - REC	PAS - PAC
A715_t1	Retículo endoplasmático	86,4%	Aparato de Golgi	12,4%	HK - REC	PAC
A2270_t1	Retículo endoplasmático	68,6%	Aparato de Golgi	11,3%	HK - REC	-
A5446_t2	Núcleo	97,1%	Citoplasma	2,8%	HK - REC	PAS
A1550_t1	Citoplasma	76,4%	Peroxisoma	20,8%	HK	PAC
A1110_t1	Aparato de Golgi	55,1%	Núcleo	30,8%	HK	PAS
A1162_t2	Mitocondria	99,2%	Núcleo	0,3%	HK - REC	PAS
A1162_t1	Núcleo	44,1%	Mitocondria	32,1%	HK - REC	PAS
A702_t1	Aparato de Golgi	39,8%	Membrana plasmática	32,9%	HK	-
A1583_t1	Peroxisoma	81,4%	Citoplasma	12,4%	HK	-
A1821_t1	Peroxisoma	71,3%	Citoplasma	26,1%	HK	-
A2715_t2	Núcleo	97,9%	Citoplasma	1,7%	HK - REC	2 PAS - PAC
A2715_t1	Membrana plasmática	47,8%	Aparato de Golgi	45,6%	HK - REC	2 PAS - PAC
A2550_t1	Peroxisoma	71,3%	Citoplasma	26,1%	HK	HAMP
A1630_t1	Membrana plasmática	56,2%	Aparato de Golgi	34,7%	HK	-
A660_t1	Citoplasma	81,6%	Peroxisoma	15,2%	HK	PAC

**Tabla suplementaria 7.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 6 proteínas putativas HKs de *Breviolum minutum*.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
		Probabilidad		Probabilidad		
B025772	Núcleo	95,3%	Citoplasma	4,6%	HK - REC	PAS
B010336	Núcleo	42,2%	Mitocondria	31,6%	HK - REC	2 PAS - SAC
B003119	Citoplasma	93,5%	Núcleo	6,4%	HK	-
B026927	Membrana plasmática	99,1%	Aparato de Golgi	0,5%	HK - REC	-
B004093	Núcleo	94%	Citoplasma	6%	HK	-
DF241522.1	Citoplasma	60,9%	Núcleo	31,5%	HK	-

**Tabla suplementaria 8.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 25 proteínas putativas HKs de *Cladocopium* sp.

Secuencias	Ubicación prevista				Dominios HK y REC	Otros dominios
		Probabilidad		Probabilidad		
C2234_t1	Aparato de Golgi	92,9%	Retículo endoplasmático	6,5%	HK - REC	PAS - PAC
C1865_t1	Núcleo	54,5%	Citoplasma	39,1%	HK - REC	PAS - PAC
C3761_t1	Aparato de Golgi	75,1%	Citoplasma	6%	HK - REC	PAS - PAC
C675_t1	Citoplasma	76,4%	Peroxisoma	20,4%	HK	PAC
C1629_t1	Aparato de Golgi	39,8%	Membrana plasmática	32,9%	HK	-
C640_t1	Peroxisoma	81,4%	Citoplasma	12,4%	HK	-
C3117_t2	Membrana plasmática	98%	Aparato de Golgi	1,3%	HK - REC	-
C3117_t3	Membrana plasmática	98%	Aparato de Golgi	1,3%	HK - REC	-
C3117_t4	Citoplasma	84,5%	Núcleo	8,2%	HK - REC	-
C2476_t1	Peroxisoma	77,1%	Mitocondria	16,6%	HK	HAMP
C387_t1	Citoplasma	92%	Peroxisoma	4,5%	HK	-
C2418_t1	Membrana plasmática	96,2%	Vacuola	1,4%	HK - REC	-
C1180_t1	Aparato de Golgi	60,9%	Núcleo	25,1%	HK	PAS
C1630_t1	Membrana plasmática	56,2%	Aparato de Golgi	34,7%	HK	-
C2103_t1	Mitocondria	84,1%	Aparato de Golgi	14,2%	HK	PAC
C1189_t1	Membrana plasmática	74,5%	Aparato de Golgi	8,3%	HK	2 PAS - PAC
C730_t1	Citoplasma	74,4%	Peroxisoma	20,9%	HK	-
C951_t1	Núcleo	99%	Citoplasma	1%	HK	2 PAS - 3 PAC
C660_t1	Citoplasma	81,6%	Peroxisoma	15,2%	HK	PAC
C591_t1	Membrana plasmática	35,6%	Peroxisoma	24,4%	HK	-
C1217_t1	Aparato de Golgi	62%	Retículo endoplasmático	28%	HK	-
C1320_t1	Citoplasma	93,5%	Peroxisoma	4,4%	HK - 2 REC	-
C1617_t1	Retículo endoplasmático	86,4%	Aparato de Golgi	12,4%	HK - REC	PAC
C2789_t1	Retículo endoplasmático	68,6%	Aparato de Golgi	11,3%	HK - REC	-
C311_t1	Membrana plasmática	61,6%	Aparato de Golgi	33,7%	HK - REC	2 PAS - PAC

**Tabla suplementaria 9.** Ubicación subcelular y presencia de dominios conservados en las 2 proteínas putativas HKs de *Fugacium kawagutii*.

Secuencias	Ubicación prevista		Dominios HK y REC	Otros dominios
	Probabilidad	Probabilidad		
Skav20772	Indeterminado	- Indeterminado	- HK	-
Skav21980	Indeterminado	- Indeterminado	- HK – solo motivo H	-

**Tabla suplementaria 10.** Ubicación subcelular de proteínas histidina cinasas en 50 proteínas putativas HKs de dinoflagelados de la clase Dinophyceae, a excepción de la familia Symbiodiniaceae.

Especie	Presenta HK - REC	Otros dominios	Ubicación predicha		Código de acceso
<i>Azadinium spinosum</i>	HK y REC	4 PAS - 5 PAC	Núcleo	98,7%	A0A6T3ZVD2
<i>Alexandrium andersonii</i>	HK	2 PAS - 3 PAC	Núcleo	67,6%	CAD9537443.1
<i>A. margalefii</i>	HK	4 PAS - 3 PAC	Citoplasma	95,8%	A0A6U8V1F4
<i>A. monilatum</i>	HK y REC	1 PAS	Membrana plasmática	98,6%	CAE4669288.1
	HK y REC	1 PAS	Membrana plasmática	62,9%	CAE4669287.1
	HK	5 PAS - 4 PAC	Citoplasma	92,6%	CAE4582135.1
	HK	12 PAS - 11 PAC	Citoplasma	96,1%	CAE4582133.1
	HK	12 PAS - 11 PAC	Citoplasma	96,1%	CAE4582131.1
	HK	5 PAS - 4 PAC	Citoplasma	92,6%	CAE4582129.1
	HK	5 PAS - 4 PAC	Citoplasma	99,4%	CAE4582127.1
	HK	5 PAS - 5 PAC	Citoplasma	99,4	CAE4582125.1
	HK y REC	1 PAS	Aparato de Golgi	83%	CAE4667477.1
	HK y REC	1 PAS	Aparato de Golgi	97%	CAE4667463.1

	HK y REC	1 PAS	Aparato de Golgi	83%	CAE4667471.1
	HK	1 PAS	Aparato de Golgi	99,79%	CAE4667458.1
	HK	-	Mitocondria	99,47%	CAE4667461.1
<i>A. tamarensis</i>	HK	5 PAS - 4 PAC	Citoplasma	97,5%	A0A6T3U047
<i>Gambierdiscus australes</i>	HK	3 PAS y 4 PAC	Núcleo	83,6%	A0A6U6Z623
<i>Gonyaulax spinifera</i>	HK y REC	1 PAS	Membrana plasmática	42,65%	CAE4184617.1
<i>Lingulodinium polyedra</i>	HK y REC	1 PAS - 1 PAC	Núcleo	98,2%	CAF5605064.1
	HK y REC	1 PAS - 1 PAC	Núcleo	99,14%	CAF5605063.1
	HK y REC	3 PAS - 4 PAC	Citoplasma	95,08%	CAF5605069.1
	HK	4 PAS - 4 PAC	Citoplasma	88,95%	CAF5591326.1
	HK	7 PAS - 7 PAC	Citoplasma	94,57%	CAF5591323.1
	HK	4 PAS - 4 PAC	Citoplasma	88,95%	CAF5591322.1
	HK	7 PAS - 6 PAC	Citoplasma	94,57%	CAF5591318.1
	<i>Noctiluca scintillans</i>	HK y REC	4 PAS - 3 PAC	Citoplasma	94,57
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	HK	1 PAS	Núcleo	47,93	A0A6V3LF56
<i>Durinskia baltica</i>	HK y REC	5 PAS y 4 PAC	Núcleo	78,5%	A0A6T3DXR2
<i>Heterocapsa</i> sp.	HK y REC	1 PAS	Mitocondria	69%	A0A6V6AVB5
<i>H. rotundata</i>	HK y REC	Guanilato	Citoplasma	46,47%	CAE3048521.1
<i>H. rotundata</i>	HK	-	Núcleo	82,43%	CAE3081792.1
<i>H. arctica</i>	HK	2 PAS - 2 PAC	Mitocondria	93,79%	CAE4319876.1
<i>Prorocentrum minimum</i>	HK	-	Citoplasma	99,7%	JXLM01000436.1
	HK y REC	16 PAS - 15 PAC	Núcleo	91,21%	CAE1339103.1
<i>Pelagodinium beii</i>	HK	13 PAS y 13 PAC	Citoplasma	97,6%	A0A6U9LP54
<i>Polarella glacialis</i>	HK y REC	2 PAS - PAC	Núcleo	76,6%	A0A6T9RVG3
	HK y REC	Guanilato	Citoplasma	53,18%	CAE8639538.1
	HK y REC	3 PAS - 3 PAC, Guanilato	Núcleo	92,95%	CAE8605420.1

<i>Apocalathium aciculiferum</i>	HK y REC	2 PAS - 2 PAC	Mitocondria	96,65%	CAE8809897.1
<i>Brandtodinium nutricula</i>	HK y REC	2 PAS - PAC	Núcleo	93,87%	A0A6U9KS64
<i>Scrippsiella hangoei</i>	HK y REC	1 PAC	Citoplasma	65,01%	CAD9609199.1
	HK y REC	10 PAS - 6 PAC	Citoplasma	98,87%	A0A6V5MJV1
	HK y REC	7 PAS Y 6 PAC	Citoplasma	98,03%	CAE8463461.1
	HK y REC	5 PAS - 4 PAC	Núcleo	56,91%	CAE8462366.1
	HK y REC	1 PAS	Núcleo	90,94	CAE8454701.1
	HK y REC	1 PAS	Membrana plasmática	99,08%	CAE8454700.1
	HK y REC	1 PAS	Membrana plasmática	99,08%	CAE8454697.1
	HK y REC	1 PAS	Núcleo	88,74%	CAE8454702.1
	<i>S. trochoidea</i>	HK	12 PAS y 9 PAC	Núcleo	90,64%

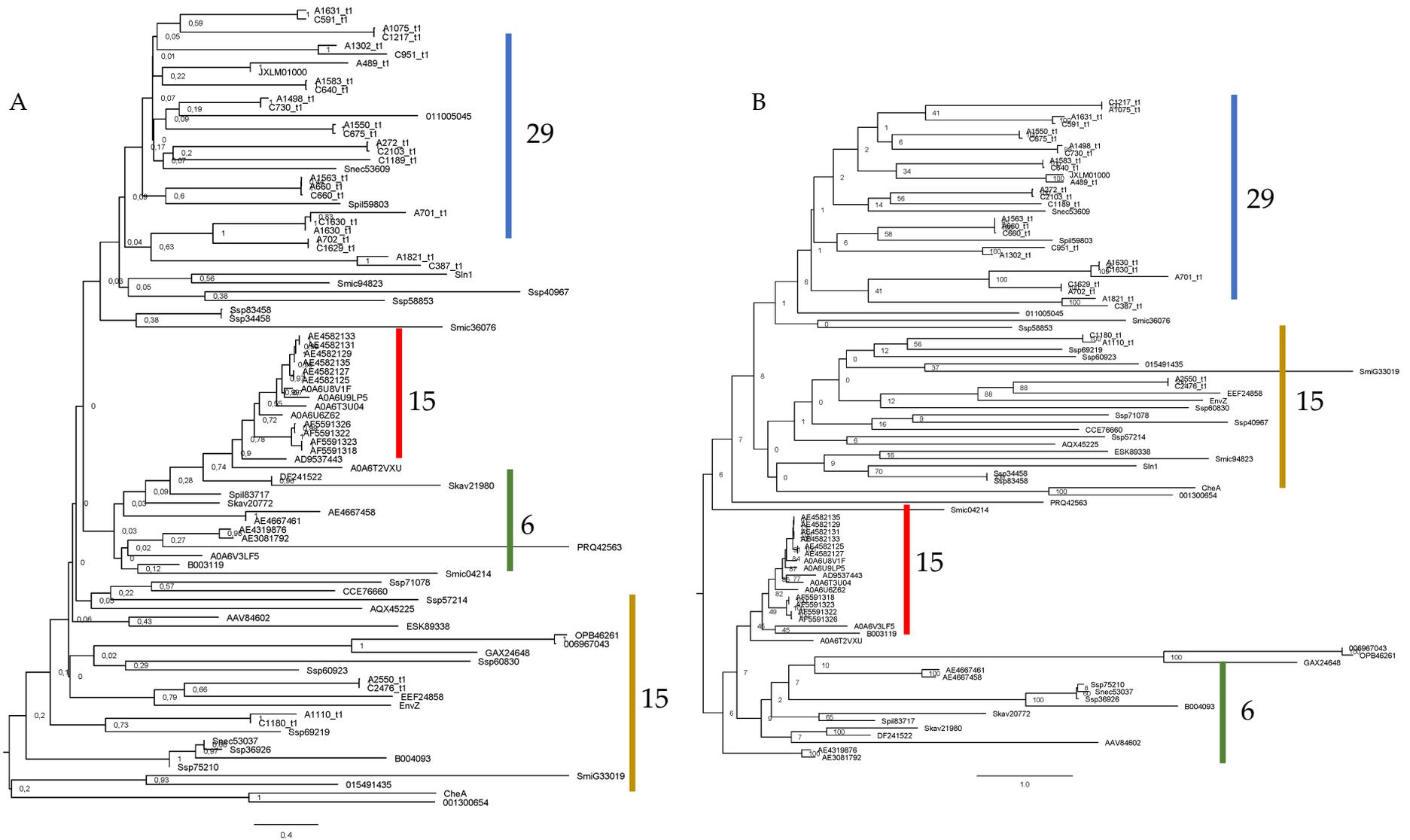
**Tabla suplementaria 11.** Subconjunto de secuencias histidina cinasas simples e híbridas en otros grupos taxonómicos.

Grupo taxonómico	Organismo		Presencia de HK y REC	Código de acceso en el NCBI
Hongo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Sln1	HK y REC	NP_012119.1
	<i>Candida albicans</i>	Ca_Sln1	HK y REC	BAA24951.1
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	MAK2	HK y REC	NM_001019841.2
	<i>Aspergillus fumigatus</i>	As_TcsB/Sln1	HK y REC	XP_001481640
	<i>Exserohilum turcicum</i>	HK parcial	HK	AAV84602.1
	<i>Trichoderma guizhouense</i>	Histidina Cinasa	HK	OPB46261.1
	<i>Trichoderma reesei</i>	Histidina Cinasa	HK	XP_006967043.1
	<i>Moniliophthora roreri</i>	Histidina Cinasa	HK	ESK89338.1
	Planta	<i>Ricinus communis</i>	Sensor HK	HK
<i>Rosa chinensis</i>		Fitocromo	HK	PRQ42563.1
<i>Arabidopsis thaliana</i>		AHK1	HK y REC	Q9SXL4.2
<i>Arabidopsis thaliana</i>		CRE1	REC	ABQ85287.1
Alga	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	COP5	HK y REC	XM_001701571.1
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	APRR9 Regulador de pseudo-respuesta 9	REC	XM_001701756.1

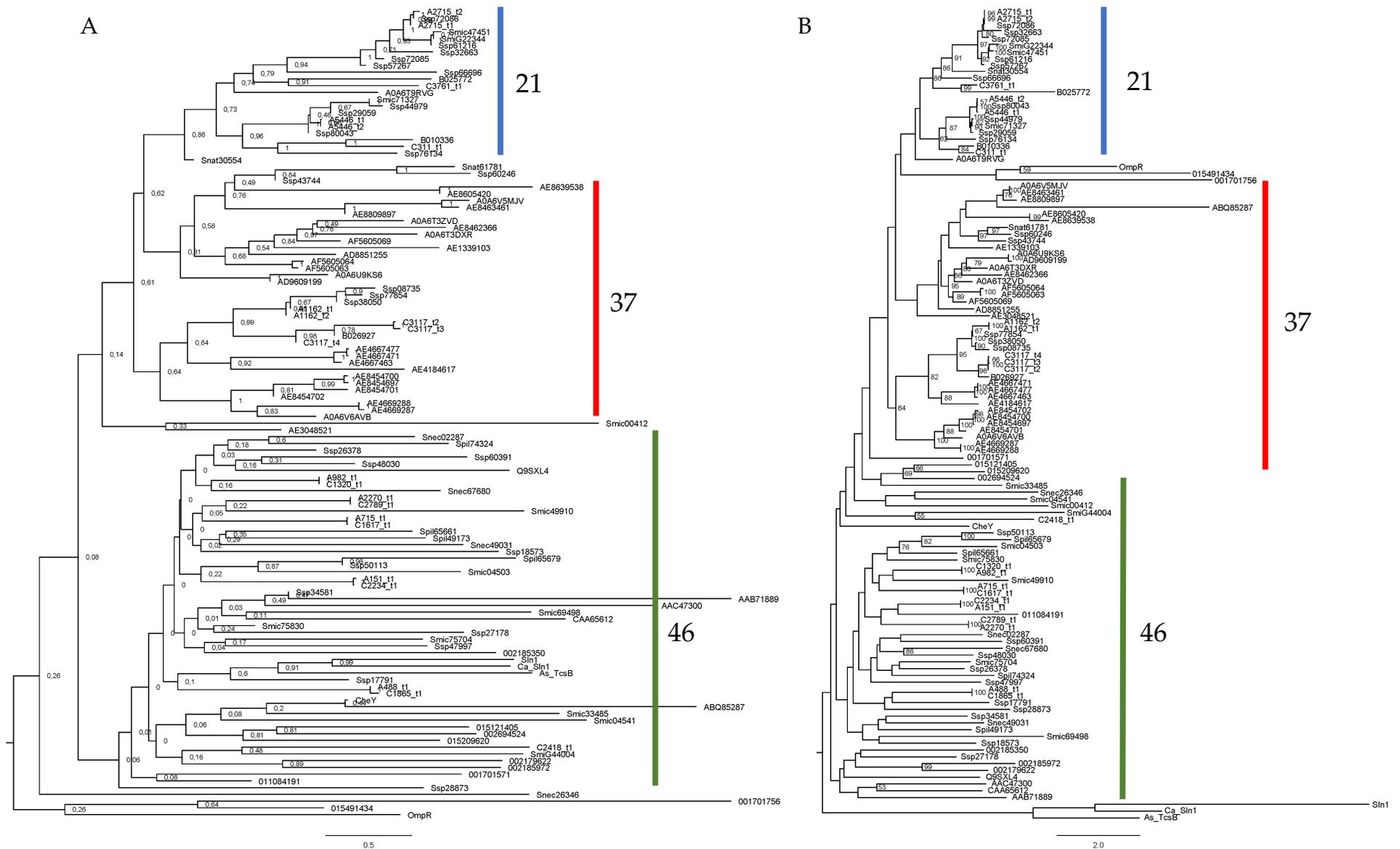
	<i>Fistulifera solaris</i>	Piruvato deshidrogenasa	HK	GAX24648.1
	<i>Paulinella micropora</i>	Señal multi-sensor	HK	AQX45225.1
Protista	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Diato_HK1	HK y REC	XP_002185350.1
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Receptor de Etileno	HK y REC	XP_002179622.1
	<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Diato_HK2	HK y REC	XP_002185972.1
	<i>Dictyostelium discoideum</i>	HKA	HK y REC	AAC47300.1
	<i>D. discoideum</i>	HK híbrida	HK y REC	AAB71889.1
	<i>D. discoideum</i>	HK híbrida 2	HK y REC	CAA65612.1
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CheA	HK y CHEW	BAA33549.1
	<i>Escherichia coli</i>	CheY	REC	AAA23577
Bacteria	<i>Pantoea</i>	EnvZ	HK	WP_013027520.1
	<i>Xenorhabdus nematophila</i>	OmpR	REC y OMPR	AAB36611.1
	<i>Cylindrospermum stagnale</i>	Regulador de Respuesta	HK, REC y HK	WP_015209620.1
	<i>Rivularia sp.</i>	Regulador de respuesta	HK y REC	WP_015121405.1
	<i>Microscilla marina</i>	Regulador de respuesta	HK y REC	WP_002694524.1
	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Sensor de control de respiración aeróbica	HK y REC	WP_011084191.1
	<i>Clavibacter nebraskensis</i>	Fosfoceptor conservado	HK	CCE76660.1
	<i>Clavibacter michiganensis</i>	ATP unión	HK	WP_015491435.1
	<i>Clavibacter michiganensis</i>	Receptor RR	REC	WP_015491434.1
	<i>Brucella melitensis</i>	Dominio PAS – proteína caja S	HK	WP_011005045.1
	Enterobacteria	Proteína quimotaxis	HK	WP_001300654.1

### Figuras suplementarias

Los árboles filogenéticos presentados a continuación, son producto de análisis elaborados por los métodos Neighbor-Joining (NJ) y Máxima Verosimilitud (ML) en los programas MEGA X (Kumar S et al., 2018) y RAxML v.8.2.10 (Miller et al., 2010), respectivamente, para 91 proteínas histidina cinasas simples (Fig. S1) y 120 proteínas histidina cinasas híbridas (Fig. S2), de microalgas de la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae, más el conjunto de proteínas encontradas en los grupos de bacterias, hongos, plantas y protistas. Lo que se quiere mostrar en cada figura, es la agrupación general de las secuencias de HK dentro de los árboles filogenéticos. Las barras de color muestran la ubicación de ciertos subconjuntos de proteínas HK dentro de los árboles, en comparación de cada método filogenético.



**Figura suplementaria 1.** Comparación de árboles filogenéticos de proteínas HK simples en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae. (a) Filogenia inferida usando el método Neighbor-Joining (NJ); (b) Filogenia inferida por el método de Máxima Verosimilitud (ML). El análisis incluye 91 secuencias únicas de proteínas HK simples encontradas en la familia Symbiodiniaceae, Dinophyceae y otros grupos taxonómicos. Las barras de color muestran la ubicación de ciertos subconjuntos de proteínas HK dentro de los árboles, en comparación de cada método filogenético. Los números presentes en cada barra de color, corresponden a la cantidad de secuencias agrupadas similares para cada método filogenético. Los valores de los nodos representan el porcentaje del soporte de *bootstrap*. La longitud de las ramas es proporcional al número de sustituciones por sitio (ver barra de escala).



**Figura suplementaria 2.** Comparación de árboles filogenéticos de proteínas HK híbridas en la familia Symbiodiniaceae y clase Dinophyceae. (a) Filogenia inferida usando el método Neighbor-Joining (NJ); (b) Filogenia inferida por el método de Máxima Verosimilitud (ML). El análisis incluye 120 secuencias únicas de proteínas HK híbridas encontradas en la familia Symbiodiniaceae, Dinophyceae y otros grupos taxonómicos. Las barras de color muestran la ubicación de ciertos subconjuntos de proteínas HK dentro de los árboles, en comparación de cada método filogenético. Los números presentes en cada barra de color, corresponden a la cantidad de secuencias agrupadas similares para cada método filogenético. Los valores de los nodos representan el porcentaje del soporte de *bootstrap*. La longitud de las ramas es proporcional al número de sustituciones por sitio (ver barra de escala).