

ISABELA ALVES DE GODOY

**ESTUDOS TRANSCRIPTÔMICOS EM ANTHOZOA E A
ANOTAÇÃO DO TRANSCRIPTOMA DE *CERIANTHEOMORPHE
BRASILIENSIS* (CNIDARIA, CERIANTHARIA)**

Botucatu – SP

2021

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
INSTITUTO DE BIOCIÊNCIAS DE BOTUCATU
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ZOOLOGIA**

ISABELA ALVES DE GODOY

**ESTUDOS TRANSCRIPTÔMICOS EM ANTHOZOA E A
ANOTAÇÃO DO TRANSCRIPTOMA DE *CERIANTHEOMORPHE
BRASILIENSIS* (CNIDARIA, CERIANTHARIA)**

Dissertação apresentada a Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, para obtenção do título de mestre em Ciências Biológicas (Área de conhecimento: Zoologia).

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Nascimento Stampar

Bolsista: Fapesp processo número
2019/01261-9

Botucatu – SP

2021

G589e	Godoy, Isabela Alves de Estudos transcriptômicos em Anthozoa e a anotação do transcriptoma de <i>Ceriantheomorphe brasiliensis</i> (Cnidaria, Ceriantharia) / Isabela Alves de Godoy. -- Botucatu, 2021 78 p. Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências, Botucatu Orientador: Sérgio Nascimento Stampar 1. Expressão gênica. 2. Transcriptoma. 3. Ceriantharia. 4. Cnidaria. 5. Anthozoa. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências, Botucatu. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

Dedico este trabalho a meus familiares e amigos, pelo incentivo em momentos críticos, a todos os professores que passaram pela minha vida, e aos que ainda passarão. E por fim, a todas as mulheres, por serem luz em meu caminho em momentos difíceis “[...] incentivo as mulheres a serem fortes não porque já estou pronta para levantar meus pesos, mas porque se vejo elas seguindo em frente me comprometo a não desistir também. ”

(Isadora não entende nada)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer a FAPESP – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Processo nº 2019/01261-9), pelo fomento concedido a minha pesquisa.

Em seguida, deixo meu agradecimento ao meu orientador, o professor Sérgio Stampar, por essa oportunidade magnífica que me foi oferecida, assim como por todo o incentivo e paciência, pelas críticas e sugestões e por sempre ser compreensivo em cada um dos momentos de dificuldades que cercam a vida de um estudante de pós-graduação. Serei eternamente grata a você por ter investido em meus projetos, desde a iniciação científica e tenho certeza que sairei de toda essa experiência repleta de aprendizados profissionais e pessoais.

Obrigada a todos os colegas do Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática (LEDA), pelo incentivo e pelo apoio. Tenho muito orgulho de ter feito parte desse time e desejo a cada um de vocês muito sucesso.

Agradeço ainda, a todos os meus amigos, em especial ao Thiago, a Cláudia, a Evelyn, a Laura, a Marcela, a Mari, a Fernanda, a Cris e a Sarah. Vocês foram luz em minha vida em muitos momentos, me incentivando a não desistir, me distraindo em momentos difíceis, sendo porto seguro quando me perdi, sempre torcendo, me ouvindo desabafar e até me orientando quando eu não sabia o que fazer. Vocês são abrigo fora de casa, muito obrigada por sempre me apoiar e por tornar essa caminhada menos difícil.

Agradeço a cada um dos animais de estimação que passou pela vida, muitos dos quais já não estão mais aqui, mas sempre foram parceiros nas noites e dias de estudos, e sempre mostraram amor e acolhimento quando mais precisei. Muito obrigada!

Por fim, agradeço a minha família. Mãe, pai, Mayara e Thais, dedico esse trabalho a vocês! Se cheguei até aqui certamente é devido ao incentivo e suporte de cada um. Obrigada por me aguentarem, em meio a tantos choros, reclamações, períodos de desânimo e ansiedade, e por apoiarem todas as decisões que tomei para chegar até aqui, vocês são extraordinários. A realização do tão sonhado mestrado só se deu por terem investido em mim e me dado suporte emocional e financeiro em todos os momentos que precisei, desde a época da escola. Amo vocês e espero poder retribuir em dobro tudo o que fizeram por mim!

GODOY, Isabela Alves. **Estudos transcriptômicos em Anthozoa e a anotação do transcriptoma de *Ceriantheomorphe brasiliensis* (Cnidaria, Ceriantharia)**. 2021. 78 p. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Ciências Biológicas). – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Instituto de Biociências, Botucatu, 2021.

RESUMO

O filo Cnidaria é formado por animais que desempenham importantes papéis no ambiente marinho, tanto bentônico quanto pelágico. Assim como os demais seres vivos, dispõem de redes moleculares responsáveis por regular respostas adequadas que se refletem em sua expressão gênica e consequentemente em sua fisiologia e comportamento. Atualmente, estudos realizados com esse filo acerca dessa expressão têm sido vistos com mais frequência, por meio da utilização de sequenciamento do transcriptoma. A maioria destes estudos, no entanto, tem como foco, apenas dois clados da classe Anthozoa (Scleractinia e Actiniaria). Logo, estudos que detalham esse processo, são escassos frente a diversidade de Cnidaria. Sendo assim, o estudo em questão teve como objetivo, reunir informações sobre a expressão gênica disponível atualmente na literatura para indivíduos da classe Anthozoa. Para tanto, uma revisão sistemática acerca de estudos transcriptômicos foi realizada, com o intuito de destacar características como ano de publicação, principais táxons antozoários utilizados, temas abordados, assim como as tecnologias mais utilizadas para a realização desses estudos, revelando a natureza e o perfil dessas investigações transcriptômicas. Ademais, visando enriquecer as informações disponíveis, organismos escassamente estudados – Subclasse Ceriantharia – foram utilizados, e por meio da realização da anotação de setores do transcriptoma obtidos de amostras de tentáculos da espécie de anêmona de tubo, *Ceriantheomorphe brasiliensis*, contribuições adicionais acerca da transcriptômica e da expressão gênica foram disponibilizadas para Ceriantharia.

Palavras-chave: Expressão gênica. Transcriptoma. Ceriantharia. Cnidaria. Anthozoa.

GODOY, Isabela Alves. **Transcriptomic studies in Anthozoa and the annotation of *Ceriantheomorphe brasiliensis* transcriptome (Cnidaria, Ceriantharia)**. 2021. 78 p. Dissertation (Masters in Biological Sciences). – São Paulo State University (UNESP), Biosciences Institute, Botucatu, 2021.

ABSTRACT

The phylum Cnidaria consists animals that play important roles in the marine environment, both benthic and pelagic. Like other living beings, they have molecular networks responsible for regulating appropriate responses that are reflected in their gene expression and consequently in their physiology and behavior. Currently, studies carried out with this phylum on this expression, have been seen more frequently, by the use of transcriptome sequencing. Most of these studies, however, focus on only two clades of the Anthozoa class (Scleractinia and Actiniaria). Therefore, studies that detail this process are scarce given the diversity of Cnidaria. Thus, the study in question aimed to gather information about gene expression in individuals of the Anthozoa class. Therefore, a systematic review about transcriptomic studies was carried out, in order to point characteristics such as year of publication, main anthozoan taxa used, topics covered, as well as the most frequent technologies currently used to carry out these studies, having revealed the nature and the profile of these transcriptomic investigations. Furthermore, in order to improve the available information, sparsely studied organisms - Subclass Ceriantharia – were used, and through the annotation of sectors of the transcriptome obtained from tentacle samples of the tube-dwelling anemone specie, *Ceriantheomorphe brasiliensis*, additional contributions about transcriptomics and gene expression was presented to Ceriantharia

Keywords: Gene expression. Transcriptome. Ceriantaria. Cnidaria. Anthozoa.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	10
Estudos transcriptômicos em Cnidaria	11
OBJETIVOS	14
CAPÍTULO 1. Estudos transcriptômicos em Anthozoa (Cnidaria): uma revisão	
sistemática	15
Resumo	15
Abstract	16
Introdução	17
Materiais e Métodos	19
Coleta e filtragem do conjunto de dados	19
Análise dos temas	19
Análise das tecnologias mais utilizadas	21
Resultados	21
Análises dos estudos transcriptômicos em Anthozoa	21
<i>Ano de publicação</i>	<i>21</i>
<i>Grupos de Anthozoa investigados</i>	<i>22</i>
<i>Análise dos temas</i>	<i>24</i>
<i>Análise das tecnologias utilizadas</i>	<i>29</i>
Discussão	33
Referências	38
CAPÍTULO 2. Anotação de setores do transcriptoma de <i>Ceriantheomorphe</i>	
<i>brasiliensis</i> (Cnidaria, Ceriantharia)	45
Resumo	45
Abstract	46
Introdução	47
A espécie <i>Ceriantheomorphe brasiliensis</i>	49
Materiais e Métodos	50
Obtenção do material e coleta do tecido	50
Extração, isolamento e sequenciamento do RNA e montagem do	
transcriptoma.....	51
Anotação do transcriptoma	52
Resultados	53

Anotação dos transcritos obtidos pela ferramenta Blastn	54
Anotação dos transcritos obtidos pela ferramenta Blastx	58
Discussão	65
Referências	70
CONCLUSÃO	75
REFERÊNCIAS	76
MATERIAL SUPLEMENTAR	79

INTRODUÇÃO GERAL

O filo Cnidaria é formado por organismos exclusivamente aquáticos e quase estritamente marinhos, que habitam diferentes profundidades e regiões, sendo encontrados tanto na comunidade pelágica, quanto bentônica (Bridge et al., 1995; Cairns et al., 2009; Morandini & Stampar, 2016).

Uma das características mais marcantes do filo é a presença do processo de metagênese (alternância de gerações entre estágio de pólipos e de medusa) que ocorre em grande parte de seus representantes (Bridge et al., 1995; Morandini & Stampar, 2016), e que auxiliou na divisão atual do grupo em três subfilos – Medusozoa, Anthozoa e Endocnidozoa (Zapata et al., 2015; Chang et al., 2015) – onde está presente uma aparente diversidade morfológica (Fig. 1). Os cnidários apresentam uma importante característica em comum, a presença de cnidas, um produto celular altamente complexo utilizado para múltiplos fins (captura de presas, defesa, construção de tubos) (Daly et al., 2007), que se tornou o mais marcante atributo do filo.

A classe Anthozoa, a única existente no subfilo Anthozoa, compreende organismos exclusivamente polipóides, podendo ser coloniais ou solitários, e apresentar ou não esqueletos minerais e/ou proteicos (Daly et al., 2007). Entre esses organismos, são descritos clados como Actiniaria, Scleractinia e Ceriantharia, subclasse de particular interesse nesse estudo (Fig. 1).

O clado Ceriantharia, cujos organismos são popularmente conhecidos como anêmonas de tubo – em função de sua capacidade de construir tubos ao redor da coluna corporal, utilizando sedimentos e um tipo específico de cnida, os plicocistos (Mariscal et al., 1977) – compreende espécies escassamente estudadas, o que promoveu, ao longo dos anos, diversas inconsistências acerca de suas características biológicas, assim como de sua posição filogenética dentro do filo Cnidaria (Stampar 2012), questão essa que vêm sendo reavaliada. Por meio de estudos realizados com marcadores moleculares nucleares e mitocondriais (Stampar et al., 2014; 2019), Ceriantharia passou a ser sugerida como um ramo isolado dentro de Anthozoa e aceita como mais uma de suas subclasses (Stampar et al., 2014). Contudo, ainda que pesquisas acerca desse clado tenham sido retomadas nos últimos anos após um hiato sem significativas investigações (Stampar, 2012), o conhecimento a respeito desses organismos segue ainda incipiente.

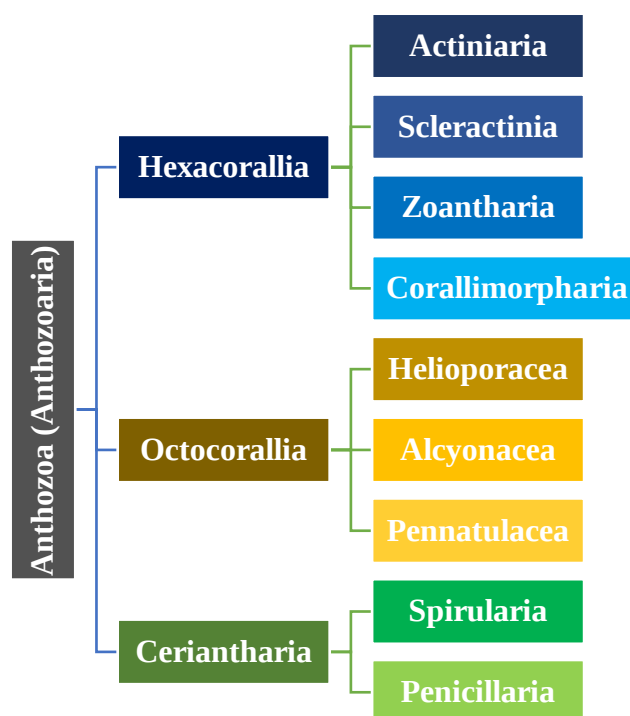


Figura 1. Representação simplificada da filogenia de Anthozoa, grupo de interesse no presente estudo (baseada em dados disponibilizados por Stampar et al., 2019).

Diversos aspectos singulares vêm tornando os ceriantos um grupo de particular interesse em investigações atuais. Segundo estudos disponibilizados para Ceriantharia, esse clado agrupa cnidários com histórias de vida complexas que incluem um estágio larval pelágico e um estágio adulto habitante de tubos (Klompen et al., 2020), o que os torna um grupo filogeneticamente informativo. Ademais, em relação a características moleculares, apresentam um padrão único de estruturação do genoma mitocondrial – genomas mitocondriais lineares (Stampar et al., 2019) – assim como um padrão de divergência do DNA mitocondrial – de rápida evolução (Stampar et al., 2014) – ambos diferentes do estimado para outros antozoários.

Sendo assim, investigações adicionais com o clado Ceriantharia são ainda cruciais para que possamos expandir nosso conhecimento acerca desses notáveis organismos.

Estudos transcriptômicos em Cnidaria

Um transcriptoma é definido como a coleção de RNAs presentes em uma célula/tecido em um dado momento, ou seja, é a parcela do DNA que por meio da RNA polimerase foi transcrito em moléculas de RNA (Ceccatto, 2015). Atualmente, a

utilização de seu sequenciamento em organismos não-modelos se tornou uma prática interessante em relação ao custo e a velocidade na obtenção dos dados (Kitchen et al., 2015). A aplicação começou com a utilização de medições de expressão gênica por análises quantitativas (Meyer et al., 2011), mas em Cnidaria essas abordagens migraram rapidamente para análises qualitativas baseadas, inicialmente, em genomas disponibilizados para o grupo (ex. *Acropora digitifera*, *Aurelia aurita* e *Hydractinia symbiolongicarpus*).

Em Medusozoa, o transcriptoma despertou muito interesse pela possibilidade de inferir o arsenal de toxinas pelo seu proteoma (Brinkman et al., 2015), permitindo o uso de tais dados para auxiliar em reconstruções evolutivas (Jaimes-Becerra et al., 2017).

Em Anthozoa, o interesse central se desenvolveu em torno de avaliar variações no transcriptoma em relação aos simbiontes e a mudanças climáticas (Shinzato et al. 2011), gerando diversas abordagens em Scleractinia (Karako-Lampert et al., 2014), ademais, são frequentemente encontrados estudos com a espécie de anêmona do mar (Actiniaria) *Nemastostella vectensis* (Tulin et al., 2013). Com genoma completo descrito (Sullivan et al., 2006), a principal razão do uso dessa espécie como um modelo biológico alternativo é a ausência de simbiontes e a rápida taxa de multiplicação em laboratório (Darling et al., 2005). Já em relação aos demais organismos de Anthozoa, os dados transcriptômicos disponíveis são ainda restritos a certos táxons (Lopez et al., 2011; Huang et al., 2016; Le Goff et al., 2016; Guzman et al., 2018; Liao et al., 2019).

Em relação a Ceriantharia, dados acerca de informações transcriptômicas, são ainda elementares. Em sua investigação a respeito da composição do veneno de ceriantos, Klompen e colaboradores (2020), identificaram 525 genes candidatos a toxinas entre quatro espécies selecionadas, o que permitiu apontar um perfil de genes associados a toxinas ceriantárias consistente com achados anteriores para cnidários (Huang et al, 2016; Jaimes-Becerra et al., 2017).

Entre os ceriantos que despertam um particular interesse, está a espécie *Ceriantheomorphe brasiliensis* (Fig. 2). Atualmente descrita para a costa da região Sul e Sudeste do Brasil e para o Uruguai (Lopes et al., 2019), pode ser encontrada desde a zona infralitoral até por volta de 35 m de profundidade. (Stampar, 2012).

Sua importância, está associada ao fato de serem significativamente relevantes para outras espécies em sua zona de ocorrência ao proporcionarem habitats adequados para a sobrevivência e recuperação de espécies ameaçadas (Soeth et al., 2019), assim como, promoverem atividades de associação interespecíficas (Stampar et al., 2010).

Porém, segundo o Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção (2008), *C. brasiliensis*, figurou entre as espécies sob risco de extinção. O que pode estar associado a recorrente pesca de arrasto em locais onde esta espécie é encontrada (Soeth et al., 2019) e acarretar impactos ecológicos e até mesmo econômicos, levando em conta os benefícios trazidos por esses organismos aos habitats onde está inserida.

Em relação aos dados transcriptômicos disponíveis para essa espécie, apenas o arsenal tóxico, está atualmente bem descrito (Klompen et al., 2020), o que inclui um conjunto de 169 transcritos candidatos a toxinas, com funções diversas. Logo, em contraponto a sua importância, pesquisas que se dedicam a compreender sua expressão gênica, assim como, variações em seu transcriptoma são ainda insuficientes.



Figura 2. Espécimes de *Ceriantheomorphe brasiliensis*. **A.** Espécime de Santa Catarina (Ilha do arvoredo) em habitat natural, foto de Sérgio Stampar. **B.** Espécime mantido em laboratório em São Sebastião (CEBIMar).

Baseado neste cenário, o presente estudo teve o intuito de revisar sistematicamente as informações existentes em pesquisas transcriptômicas descritivas para o clado Anthozoa, a fim de verificar o avanço de publicações sobre essa temática ao longo dos últimos anos. Assim como, avaliar a expressão gênica presente em amostras de tentáculos coletados de um cerianto, por meio da anotação de setores do transcriptoma sequenciado da espécie *Ceriantheomorphe brasiliensis* (Fig.2), disponibilizando informações a respeito do conjunto gênico e proteico expresso por esse organismo.

OBJETIVOS

O presente trabalho, teve como foco verificar os estudos transcriptômicos disponíveis para a classe Anthozoa, a fim de compilar as informações disponíveis e fornecer um panorama atual do campo da transcriptômica para esse clado. Assim como, descrever setores do transcriptoma de *Ceriantheomorphe brasiliensis*, por meio de uma anotação comparativa.

A fim de atingir tais objetivos, foram delineados os seguintes objetivos específicos:

- Revisar artigos científicos sobre transcriptomas disponíveis para Anthozoa;
- Categorizar tais artigos por ano de publicação, táxon alvo e temas investigados;
- Apontar as tecnologias mais utilizadas para a realização de tais pesquisas;
- Ampliar informações disponíveis acerca da expressão gênica de *Ceriantheomorphe brasiliensis*;
- Resumir proteínas encontradas em *C. brasiliensis* em categorias funcionais;
- Comparar a expressão gênica de *C. brasiliensis* com dados já existentes para Cnidaria;

Capítulo 1.

Estudos transcriptômicos em Anthozoa (Cnidaria): uma revisão sistemática

Isabela A. de Godoy^{1, 2}, Adam Reitzel³, Jason Macrander⁴ & Sérgio N. Stampar^{1, 2}

¹ Universidade Estadual Paulista – Unesp, IBB, Botucatu, Brasil

² Universidade Estadual Paulista – Unesp, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática – LEDA, FCL, Brasil

³ Department of Biological Sciences, University of North Carolina at Charlotte, 9201 University City Blvd, Charlotte, NC 28262, USA

⁴ Department of Biology, Florida Southern College, 111 Lake Hollingsworth, Drive Lakeland, FL 33801, USA

RESUMO

O desenvolvimento de novas técnicas de sequenciamento possibilitou a ampliação de estudos transcriptômicos em organismos não-modelo permitindo ensaios sobre expressão gênica em diversos organismos do filo Cnidaria, como a classe Anthozoa. Com isso, o objetivo desse estudo consistiu em realizar uma revisão sistemática da literatura disponível em uma base de dados científica (Google Scholar), acerca de estudos transcriptômicos em Anthozoa. Os 136 artigos selecionados, foram agrupados por ano de publicação, táxon alvo e tema investigado. Os 58 artigos mais recentes, foram recuperados a fim de detectar as tecnologias mais empregadas. Com base nos resultados, foi possível apontar um crescimento de publicações investigando “transcriptomas” em Anthozoa, assim como, contabilizar 148 espécies utilizadas para averiguar temas variados, onde abordagens envolvendo “Respostas a alterações e estresse” foram as mais frequentes. Ademais, uma concentração de estudos nas ordens Scleractinia e Actiniaria (Hexacorallia). Entre as tecnologias mais utilizadas, na etapa de sequenciamento Illumina foi a mais representada, já na etapa de montagem Trinity foi o programa mais empregado. Em análises de expressão diferencial, tecnologias como o DeSeq2 e o edgeR tiveram grande destaque. No entanto, diversos táxons são ainda negligenciados, o que enfatiza a importância do aumento da disponibilização de dados transcriptômicos para Anthozoa.

Palavras-chave: Transcriptoma, Anthozoa, Cnidaria, RNA, Bioinformática.

Transcriptomic studies in Anthozoa (Cnidaria): a systematic review

Isabela A. de Godoy^{1, 2}, Adam Reitzel³, Jason Macrander⁴ & Sérgio N. Stampar^{1, 2}

¹ Universidade Estadual Paulista – Unesp, IBB, Botucatu, Brasil

² Universidade Estadual Paulista – Unesp, Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática – LEDA, FCL, Brasil

³ Department of Biological Sciences, University of North Carolina at Charlotte, 9201 University City Blvd, Charlotte, NC 28262, USA

⁴ Department of Biology, Florida Southern College, 111 Lake Hollingsworth, Drive Lakeland, FL 33801, USA

ABSTRACT

The development of new sequencing techniques has enabled the expansion of transcriptomic studies in non-model organisms allowing tests on gene expression in various organisms of the phylum Cnidaria, such as the Anthozoa class. Thus, the aim of this study was to conduct a systematic review of the available literature in a scientific database (Google Scholar), about transcriptomic studies in Anthozoa. The 136 selected articles were grouped according to the year of publication, target taxa and topic investigated. The 58 most recent articles were retrieved, in order to detect the most used technologies. As a result, it was possible to point to an increase in publications investigating “transcriptomes” in Anthozoa, as well as to count 148 different species used to ascertain various topics, where approaches involving “Responses to changes and stress” were the most frequent. In addition, a concentration of studies between the orders Scleractinia e Actiniaria (subclass Hexacorallia) was observed. Among the most used technologies, in the sequencing stage Illumina was the most represented, while in the assembly stage Trinity was the most used program. In differential expression analyzes technologies such as DeSeq2 and edgeR were highlighted. However, several taxa are still neglected, which emphasizes the importance of increasing the availability of transcriptomic data for Anthozoa

Keywords: Transcriptome, Anthozoa, Cnidaria, RNA, Bioinformatics.

INTRODUÇÃO

Estudos transcriptômicos e a investigação da expressão gênica em Anthozoa

O uso de técnicas de sequenciamento do transcriptoma tem proporcionado uma abordagem rápida e eficaz, em trabalhos que visam a descoberta de genes em organismos não modelos (Liao et al., 2018). Em Anthozoa, grande parte das abordagens transcriptômicas iniciais, tinham como foco a quantificação da expressão de transcrições de genes dentro dos organismos (deBoer et al., 2006; Rodriguez-Lanetty et al., 2006). Para tanto, diversas ferramentas foram desenvolvidas, embora duas técnicas, PCR quantitativo (qPCR) e *microarray*, tenham sido consideradas mais promissoras (Hoffman, et al., 2008) e, portanto, frequentemente mais utilizadas para tais investigações (Grasso et al, 2008; Portune et al., 2010; Sabourault et al., 2012).

No entanto, devido ao desenvolvimento de abordagens tecnicamente menos desafiadoras, que requerem menos tempo e esforço do pesquisador ou até mesmo consideravelmente mais acessíveis financeiramente (Hoffman et al., 2008), os estudos realizados com dados transcriptômicos em antozoários têm ampliado consideravelmente as ferramentas utilizadas, assim como seu escopo.

Análises de transcriptoma em larga escala têm sido amplamente utilizadas atualmente em estudos que visam compreender a composição gênica de diversas espécies do grupo (Macrander et al., 2015), assim como, afim de comparar perfis de expressão gênica em diferentes condições ambientais (Karako-Lampert et al., 2014; Davies et al., 2016; Urbarova et al., 2019). O que tem contribuído não apenas para a compreensão de processos celulares rudimentares em cnidários (Kitchen et al., 2015), bem como para associarmos repostas moleculares a mudanças fenotípicas em estudos envolvendo perturbação ambiental (Liew et al., 2014).

Nesse contexto, a análise quantitativa de sequências transcriptômicas (RNA-seq), tornou-se importante a fim de projetar os níveis de transcrição do genoma ao fornecer uma abordagem menos enviesada para a descoberta de processos funcionais por meio da identificação e quantificação de genes diferencialmente expressos entre estados fenotípicos (Kitchen et al., 2015) – o que inclui tratamentos experimentais (Urbarova et al., 2019; Yuan et al., 2019), tipos de tecidos (Babonis et al., 2016; Macrander et al., 2016) e até mesmo estágios do desenvolvimento (Helm et al., 2013; Fidler et al., 2014).

Em relação a investigações transcriptômicas disponíveis para Anthozoa atualmente, o grupo que mais se destaca em relação a presença de informações é a ordem Scleractinia, que inclui organismos em sua maioria coloniais que secretam um exoesqueleto calcário ao longo de seu desenvolvimento (Kitahara et al. et al., 2016), motivo pelo qual, são essenciais aos processos de formação de recifes, tornando-os organismos de grande interesse para pesquisadores que buscam compreender o impacto de alterações nesses ecossistemas tanto à nível ecológico, quando à nível prático (Liew et al., 2014; Lin et al., 2017; Shinzato et al., 2020).

Outro clado de Anthozoa amplamente representado em publicações é a ordem Actiniaria, composta pelas anêmonas-do-mar. Esses organismos não coloniais e desprovidos de estruturas calcárias de sustentação, representam um dos táxons mais diversificados e bem-sucedidos (Gomes et al., 2016) o que justifica sua ampla utilização em estudos transcriptômicos (van der Burg et al., 2016; Smith et al., 2018; Krantz et al., 2020). Ademais, são obtidos sem grandes dificuldades técnicas, pois podem ser encontrados em todos os habitats marinhos, profundidades e latitudes (Gomes et al., 2016) assim como serem facilmente mantidos em laboratório (Reitzel et al., 2013).

Para os demais organismos pertencentes a classe Anthozoa, os dados transcriptômicos disponíveis são restritos a certos táxons (Lopez et al., 2011; Huang et al., 2016; Le Goff et al., 2016; Huang et al., 2017; Guzman et al., 2018; Liao et al., 2019), embora nos últimos anos, tenha havido um aumento no esforço e no interesse de investigar e compreender essa temática em grupos formados por organismos não-modelo (Meyer et al., 2009; Tulin et al., 2013).

Frente a esse cenário, o cerne dessa revisão consiste em avaliar o cenário atual dos estudos transcriptômicos realizados até o momento para a classe Anthozoa, apontando a evolução do número de publicações, contabilizando as espécies para as quais se tem dados disponíveis, avaliando os temas analisados por meio do uso de transcritos, assim como mostrando as tecnologias mais empregadas em tais investigações. Fornecendo assim, um levantamento inédito e relevante acerca dessa temática para tal grupo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coleta e filtragem do conjunto de dados

Para a realização da revisão bibliográfica sistemática, foram selecionados artigos disponíveis no Google Scholar, em função dessa base de dados ser a mais abrangente entre os serviços de pesquisa de citações (Harzing et al., 2016). Ademais, outras publicações relevantes, não apontadas pelo Google Scholar, foram também adicionadas a partir de referências dos estudos coletados.

Os dados compilados, reuniram publicações nos idiomas inglês, espanhol e português, disponibilizadas até 31 de outubro de 2020. A pesquisa foi realizada por meio de uma combinação das seguintes palavras-chave: ‘Transcriptome’, ‘RNA-seq’ e ‘RNA’ combinadas com a palavra ‘Anthozoa’, entre os dias 01 a 31 de outubro de 2020. Após essa data, foi realizada uma filtragem de qualidade a fim de verificar se os artigos selecionados correspondiam aos critérios de interesse do estudo.

Ao final da seleção, um total de 214 artigos científicos abordando investigações transcriptômicas em Anthozoa foram identificados. Após a exclusão de repetições, 195 publicações foram minuciosamente avaliadas, a fim de detectar se de fato abordavam investigações acerca do transcriptoma dos indivíduos investigados, assim como, se o táxon alvo pertencia ao clado Anthozoa, para tanto, os títulos, resumos e seções de métodos foram analisados para confirmar tais critérios.

Ao longo dessa etapa de filtragem, um número considerável de estudos foi excluído, resultando em 136 artigos considerados relevantes (ver material suplementar). De cada estudo foram extraídos os seguintes dados: (1) ano de publicação; (2) espécies (assim como, subclasses e ordens) antozoárias investigadas nos artigos; (3) tema central da investigação.

Análise dos temas

A categorização do tema central investigado por cada publicação, analisou e separou os assuntos abordados dentro de 10 principais categorias:

- “Imunidade”: incluiu a investigação de genes associados a resposta imune e ao sistema imunológico, expressão diferencial associada a imunidade, respostas a infecções bacterianas e virais e a doenças;

- “Respostas a alterações naturais ou experimentais e estresse”: investigações da diversidade de famílias de genes e vias de resposta ao estresse, estudos de respostas a lesão e ao branqueamento, bem como, estratégias de sobrevivência ou respostas a mudanças ambientais (acidificação, derramamento de óleo, estresse térmico, tolerância a eutrofização, respostas a poluentes, mudanças na salinidade, etc.);
- “Simbiose”: investigações sobre estabelecimento, manutenção e quebra da contaminação por simbioses. Incluindo genes e expressão diferencial pela simbiose;
- “Toxinas”: investigação de polipeptídeos e neuropeptídeos semelhantes a toxinas, identificação da diversidade de famílias das proteínas do veneno, proteômica e transcriptômica para investigação da expressão de genes de toxinas. Além de análises de maturação de cnidócitos e nematogênese baseadas em análises tecido-específicas;
- “Desenvolvimento e gametogênese”: genes, vias regulatórias e expressão diferencial associados aos estágios do desenvolvimento, a embriogênese e a regeneração. Assim como, estudos de estresse térmico em embriões e durante o desenvolvimento, efeitos do cálcio no assentamento e metamorfose, gametogênese e expressão gênica associada aos estágios do desenvolvimento e a apoptose;
- “Variações intra ou inter coloniais”: análises de variações na coloração e na expressão gênica entre colônias e entre espécimes coletados no mesmo local, assim como, diferenças transcriptômicas entre pontas e bases dos ramos de espécime;
- “Ritmos circadianos e relógio biológico”: estudos com transcriptoma em ciclo claro: escuro, caracterização de genes associados ao relógio biológico, a regulação circadiana e ao arrastamento pela luz, assim como, respostas transcricionais a cores;
- “Caracterização genômica e transcriptômica”: estabelecimento de transcriptomas para desenvolver esboços do genoma, sequenciamentos de genoma mitocondrial, estudos com miRNAs e catalogação de genes expressos em antozoários. Assim como, desenvolvimento dos primeiros transcriptomas por Sequenciamento de Última Geração (NGS) e montagem de novo, estabelecimento de transcriptomas de referência e protocolos complementares alternativos para estudos transcriptômicos;
- “Estudos filogenéticos e evolutivos”: uso de transcriptoma para determinar ancestral mais próximo e investigar filogenia. Bem como, identificar trajetórias evolutivas, marcadores nucleares, proteínas ortólogas, genes específicos-de-linhagem e caracterizar a evolução e a expressão de genes de interesse em Anthozoa;

- “Calcificação e biomineralização”: uso de transcriptoma a fim de analisar os componentes do esqueleto antozoário e identificar homólogos de proteínas da matriz orgânica do mesmo. Observar a evolução da biomineralização, a expressão diferencial entre tecidos (calcificados e não calcificados), os mecanismos moleculares em estágios iniciais da calcificação assim como, os efeitos de mudanças climáticas nesse processo;

Análise de tecnologias mais utilizadas

A fim de fornecer um panorama atual sobre as investigações transcriptômicas em Anthozoa, os 58 artigos mais recentemente publicados, entre os anos de 2018 a 2020, e selecionados em nossa etapa de coleta de dados anteriormente descrita, foram recuperados a fim de avaliar as tecnologias e plataformas de sequenciamento mais frequentemente utilizadas, assim como os programas de montagem de transcritos e de análises de expressão gênica diferencial mais apontados.

Cada uma das tecnologias utilizadas nas etapas de (1) sequenciamento, (2) montagem, (3) anotação e (4) análise de expressão diferencial, quando presentes, foram contabilizadas e a porcentagem associada foi calculada.

RESULTADOS

Análises dos estudos transcriptômicos em Anthozoa

Ao final dos processos de filtragem de qualidade dos dados selecionados nas buscas realizadas no Google Scholar, um total de 136 artigos foram encontrados investigando a temática “Transcriptoma em Anthozoa”. Tais dados, se distribuíram entre os anos de 2006 a 2020 e apresentam enfoque em diversos temas relacionados a biologia de numerosos táxons de Anthozoa. Maiores detalhes serão fornecidos nas seções abaixo.

Ano de publicação

Baseada na categorização em função do ano de publicação de cada um dos artigos selecionados, foi possível constatar a evolução do interesse pelo tema entre os períodos de 2006 a 2020 (Figura 3), onde somente durante o ano de 2007, não foi constatado nenhum artigo publicado, de acordo com as buscas realizadas no Google Scholar.

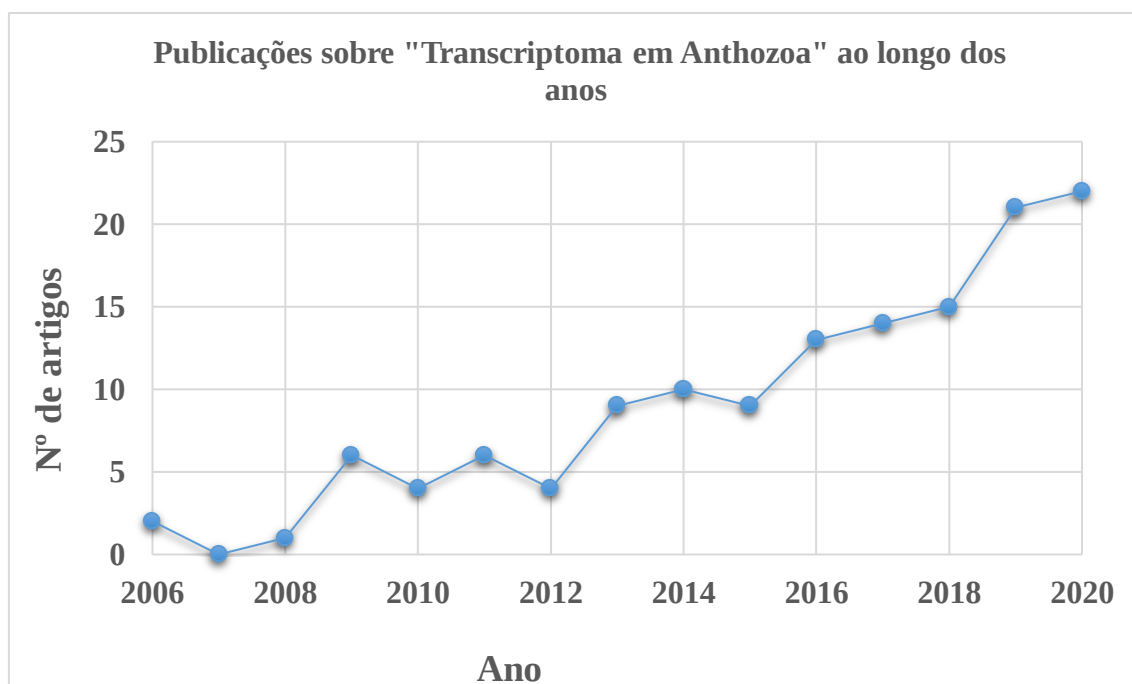


Figura 3. Evolução de publicações relacionadas a investigações transcriptômicas em Anthozoa ao longo dos anos.

Ademais, um interesse crescente a partir do ano de 2013, foi constatado, visto que o número de artigos publicados dobrou em relação aos anos anteriores, com um total de 9 (7%) estudos realizados nesse período, enquanto os anos anteriores que mais apresentavam publicações, como 2009 e 2011, contabilizaram apenas 6 artigos, o que equivale a 4% (Figura 3) do total de publicações. Embora o aumento de publicações a partir de 2013 tenha sido bastante significativo, a evolução das publicações acerca desse tema nos últimos 3 anos ampliou ainda mais em termos percentuais. Entre os anos de 2017 a 2020, são contabilizados 52% (total de 72 artigos) das publicações detectadas por meio das investigações.

Tais resultados, demonstram a importância e o interesse crescente do uso da transcriptômica para investigar diversas áreas de pesquisa envolvendo organismos pertencentes ao clado Anthozoa, indicando dessa forma uma forte tendência a expansão desse campo em pesquisas futuras, possibilitando explicar questões ainda pouco compreendidas acerca desses e de muitos outros organismos.

Grupos de Anthozoa investigados

Entre os artigos analisados, a subclasse mais investigada foi Hexacorallia, com um total de 130 espécies (87%) utilizadas (Tabela 1), entre suas ordens mais investigadas, podemos citar a ordem Actiniaria que abordou 28% das espécies ($n = 41$) estudadas e Scleractinia com 53% ($n = 79$).

Após, a segunda subclasse mais observada nos estudos foi Octocorallia, contabilizando 14 espécies (9%) avaliadas, 11 (7%) das quais, pertencem a ordem Alcyonacea (Tabela 1), significativamente mais investigada do que as outras duas, Helioporacea e Pennatulacea, também presentes em nossa análise.

Por fim, a subclasse menos investigada foi Ceriantharia, com apenas 4 espécies (aproximadamente 3%) analisadas, entre as quais, a ordem Spirularia foi a mais investigada (2%).

Tabela 1. Ocorrência dos clados de Anthozoa nas publicações selecionadas e analisadas.

Subclasse	Ordem	Nº absoluto	Porcentagem (%)
Hexacorallia	Actiniaria	41	28
	Corallimorpharia	6	4
	Scleractinia	79	53
	Zoantharia	3	2
	Antipatharia	1	1
Octocorallia	Alcyonacea	11	7
	Helioporacea	1	1
	Pennatulacea	2	1
Ceriantharia	Spirularia	3	2
	Penicillaria	1	1
TOTAL		148	100

Entre os 136 artigos encontrados sobre o tema em nossas buscas, um total de 148 espécies diferentes (ver material suplementar tabela S1), pertencentes a classe Anthozoa, foram identificadas, 11 das quais, não especificaram a espécie em questão, portanto foram consideradas como distintas, a fim de minimizar erros de agrupamentos.

É importante salientar que o total de ocorrência de espécies antozoárias entre as 136 publicações difere do número absoluto de espécies distintas investigadas ($n = 148$, ver Tabela 1), visto que, 32 artigos analisam mais de uma espécie, tendo sido visto o uso de até 23 espécies diferentes em um único artigo [120, Tabela S1, ver em material suplementar]. Os artigos onde ocorre análise de mais de uma espécie de Anthozoa estão

disponíveis na tabela suplementar S1, sob os códigos destacados ao lado [3, 16, 23, 35, 37, 40, 45, 57, 58, 59, 60, 64, 66, 67, 69, 70, 71, 78, 80, 89, 92, 94, 95, 99, 110, 113, 119, 120, 124, 125, 131 e 136].

A espécie mais estudada entre os 136 estudos analisados é a anêmona Actiniaria *Nematostella vectensis*, presente em 22 estudos (16%), seguida por *Exaiptasia pallida* com 13 publicações (~ 9%) e em terceiro lugar, duas espécies de Scleractinia, *Acropora digitifera* e *Stylophora pistillata*, ambas com 9 artigos cada uma, totalizando 6% do total de publicações.

Como já citado anteriormente, o número de espécies da classe Anthozoa analisadas em relação ao tema “Transcriptoma” foi de 148, o que representa cerca de apenas 2% do total de espécies descritas atualmente para a classe (~ 7200 espécies; Kayal et al., 2018), o que evidencia a importância do crescimento no número de estudos observados sobre esse tema ao longo dos últimos anos, porém, muito ainda carece de investigação.

Baseado nesse contexto, é de suma importância que o interesse por esse tipo de análise continue a expandir, assim como que o investimento em pesquisas envolvendo esse tópico seja impulsionado.

Análise dos temas investigados

Os estudos aqui compilados, são agrupados em 10 categorias temáticas (Figura 4) de acordo com as especificações descritas na seção “Materiais e métodos”. Entre as 136 publicações analisadas, 10 artigos foram agrupados em mais de um dos temas [Tabela S1, 3; 5; 9; 11; 36; 41; 42; 59; 111; 135]. A Figura 4, resume as a categorização dos estudos compilados.

O tema que esteve mais presente entre os artigos, foi "Respostas a alterações naturais ou experimentais e estresse", contabilizando uma porcentagem de 22,8% (n = 31) do total de temas investigados em Anthozoa. A seguir, o segundo tema mais bem pontuado em relação a sua porcentagem de investigação, foi "Caracterizações genômicas e transcriptômicas", com 25 publicações (18,4%). Temas como, “Simbiose”, “Desenvolvimento e gametogênese”, “Imunidade” e “Toxinas”, foram significativamente frequentes entre as publicações, estando presentes em 10,3 a 14,7% do total de estudos.

Já entre os temas com um número reduzido de investigações, podemos citar “Calcificação e biomineralização” e “Ritmos circadianos e relógio biológico”, que não

representaram porcentagens muito significativas entre os temas mais investigados em transcritos de antozoários, com 6,6% e 2,9%, respectivamente (Figura 4). A somatória das porcentagens ultrapassa 100% em função dos artigos agrupados em mais de um tema.

A subclasse Hexacorallia foi a mais investigada de maneira geral (Tabela 1), porém ao tratarmos cada um dos temas individualmente, são encontradas ocorrências distintas, logo, cada um dos temas será avaliado separadamente, a fim de apresentar as subclasses e ordens investigadas e fornecer um panorama mais detalhado de cada abordagem e da diversidade de táxons presentes em cada uma delas.

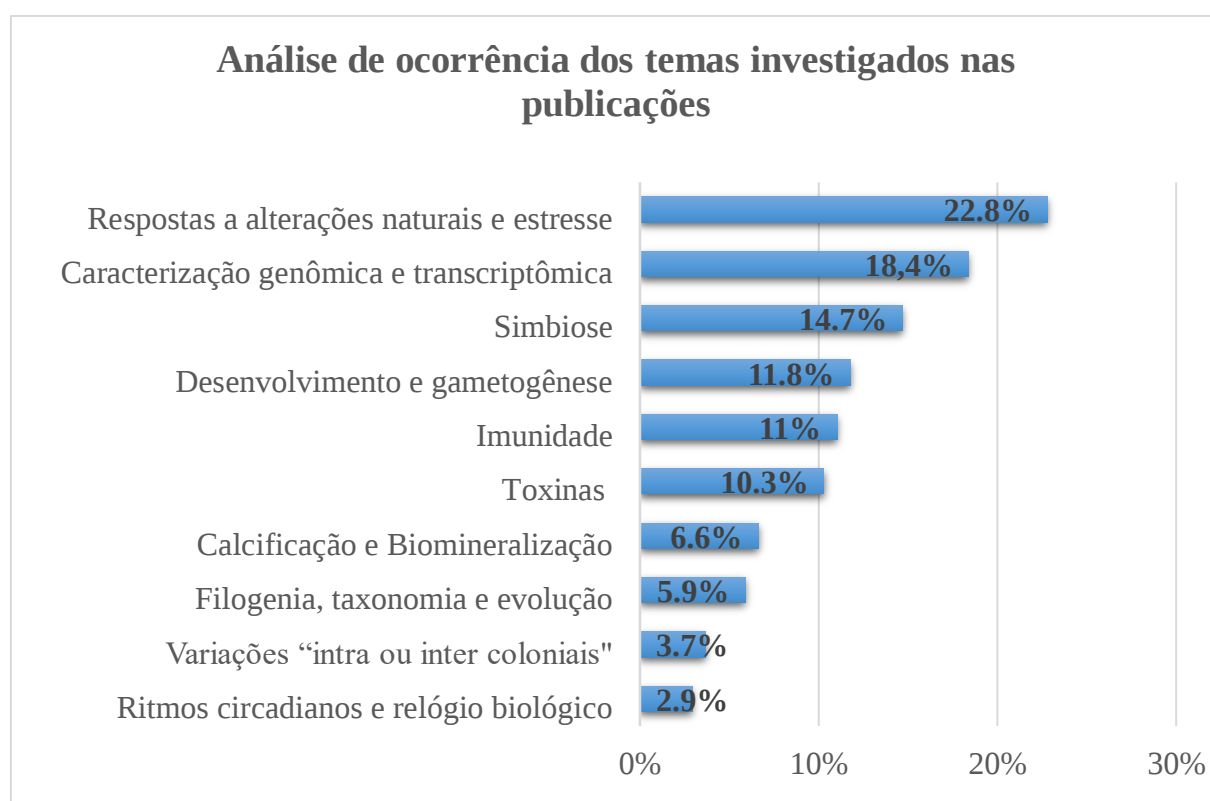


Figura 4. Ocorrência percentual de artigos agrupados dentro dos temas definidos em nossa revisão.

“Imunidade”: 15 artigos foram classificados nessa categoria, totalizando 11% de ocorrência em nossas análises (Figura 4). A subclasse Hexacorallia foi a mais investigada sobre esse tema, com 14 estudos (93.3%) contabilizados. Entre as ordens analisadas, podemos citar Corallimorpharia (n = 1 estudo) [Tabela S1, 136], Actiniaria (n = 5 estudos) (40; 64; 105; 128; 136) e Scleractinia (n = 12 estudos) [Tabela S1, 10; 28; 32; 33; 40; 44; 48; 59; 64; 66; 114; 136]. A subclasse Octocorallia, contabilizou 2 estudos, com as ordens Pennatulacea e Alcyonacea, possuindo 1 estudo cada uma [136 e 81,

respectivamente], o que equivale a uma porcentagem de aproximadamente 13,3% de ocorrência. Neste tópico a somatória das porcentagens ultrapassa 100% em função de um artigo abordar tanto espécies de Hexacorallia, quanto espécies de Octocorallia [Tabela S1, 136] (Figura 5).

Ao todo, 30 espécies diferentes de Anthozoa foram abordadas, com a anêmona *Exaiptasia pallida* sendo a espécie mais frequente entre as publicações (n = 5), abrangendo 36% dos estudos dessa temática entre nosso conjunto de dados.

“Respostas a alterações naturais ou experimentais e estresse”: Ao todo, 31 artigos foram classificados nessa categoria (Figura 4), com 29 deles (93,5% das publicações agrupadas nesse tema), ocorrendo na subclasse Hexacorallia (Figura 5). Entre suas ordens investigadas podemos citar Scleractinia (n = 21) [Tabela S1, 4; 9; 11; 13; 17; 24; 27; 29; 36; 39; 41; 43; 52; 54; 69; 71; 72; 108; 113; 117; 131], Actiniaria (n = 6) [S1, 22; 34; 45; 61; 75; 111], Antipatharia (n = 1) [S1, 74] e Zoantharia (n = 1) [S1, 67]. A subclasse Octocorallia apresentou os outros 2 estudos, ambos com espécies da ordem Alcyonacea [S1, 50; 135].

Além de ser o tema mais frequente na contabilização geral de publicações, essa categoria apresentou a maior diversidade de espécies de Anthozoa abordadas (n = 65), com *Anemonia viridis* sendo a espécie mais investigada (n=3), somando 10% do total de estudos.

“Simbiose”: total de 20 artigos agrupados (Figura 4), dos quais 18 estudos (90%) abordavam espécies da subclasse Hexacorallia (Figura 5), com as ordens Scleractinia (n = 10) [S1, 1; 3; 12; 36; 41; 59; 93; 98; 122; 132] e Actiniaria (n = 10) [S1, 2; 3; 6; 7; 14; 59; 62; 65; 79; 111], sendo igualmente investigadas. Já a subclasse Octocorallia, ficou com os 2 estudos restantes, 1 com a ordem Alcyonacea [S1, 16] o outro para Helioporacea [S1, 82].

Aqui, 16 espécies distintas foram utilizadas, com as espécies *Anemonia viridis*, *Exaiptasia pallida* e *Fungia scutaria*, sendo as mais frequentes, contabilizando 15% (n = 3) dos artigos.

“Toxinas”: total de 14 artigos (Figura 4), realizados quase que exclusivamente entre espécies da subclasse Hexacorallia (n = 13 ou 92,8%, ver Figura 5). Entre as ordens abordadas, podemos citar Actiniaria (n = 9) [S1, 47; 58; 87; 90; 103; 110; 120; 123; 127], Scleractinia (n = 2) [S1, 110; 130] e Zoantharia (n = 3) [S1, 55; 84; 102]. A outra subclasse abordada nessa categoria, é Ceriantharia (n = 1) [S1, 119], que embora seja o único

registro sobre dados transcriptômicos disponível atualmente para esse clado, investiga 4 espécies distintas, trazendo dados bastante relevantes.

Com isso, 44 espécies diferentes são investigadas, com a anêmona *Nematostella vectensis* sendo a mais utilizada com 21% de frequência (n = 3).

“Desenvolvimento e gametogênese”: total de 16 artigos (Figura 4). Neste tópico, Hexacorallia foi a única subclasse investigada. Com as publicações se dividindo entre as ordens Actiniaria (n = 9) [S1, 3; 26; 35; 88; 96; 101; 112; 115; 118] e Scleractinia (n = 9) [S1, 3; 5; 9; 11; 20; 35; 60; 116; 129].

Ao todo, 12 espécies distintas foram utilizadas, com *Nematostella vectensis*, sendo mais uma vez, a mais frequente somando 8 estudos e uma porcentagem de ocorrência de 47%.

“Variações ‘intra ou inter coloniais’ ”: 5 artigos foram contabilizados nesse tema (Figura 4). Hexacorallia, mais uma vez, foi a subclasse unânime entre os estudos, assim como, Scleractinia, foi a ordem exclusivamente aqui utilizada (n = 5) [S1, 25; 37; 46; 68; 73].

Em relação a diversidade, 6 espécies (3 pertencendo ao gênero *Acropora*) foram analisadas, sendo que *Acropora cervicornis* e *Euphyllia ancora* foram as mais frequentes, cada uma aparecendo em 40% dos estudos (n=2).

“Ritmos circadianos e relógio biológico”: essa categoria totalizou 4 estudos (Figura 4). Repetindo alguns dos temas citados acima, Hexacorallia foi a única subclasse analisada (n = 4), com Actiniaria (n = 3) [S1, 49; 100; 121] e Scleractinia (n = 1) [S1, 15], sendo as ordens detectadas.

Somente 2 espécies foram investigadas, *Nematostella vectensis*, que apareceu em 3 estudos (75%) e *Favia fragum* em apenas 1 (25%).

“Caracterização genômica e transcriptômica”: uma quantidade bastante significativa de artigos foi categorizado neste tópico (n = 25, ver Figura 4). A subclasse Hexacorallia (n = 21 estudos ou 84%, ver figura 5) foi a mais investigada, seguida pela subclasse Octocorallia (n = 4 estudos). Em relação as ordens, dentro de Hexacorallia, podemos citar Scleractinia (n = 12) [S1; 8; 18; 19; 30; 38; 77; 78; 86; 91; 107; 109; 134], Corallimorpharia (n = 1) [S1, 94] e Actiniaria (n = 8) [S1, 21; 23; 31; 42; 76; 85; 97; 133]. Já entre os octocorallia, 3 estudos abordaram a ordem Alcyonacea [S1, 83; 104; 106], enquanto apenas 1, abordou a ordem Pennatulacea [S1, 99].

Ao todo, 28 espécies distintas foram detectadas, entre as quais, *Nematostella vectensis* e *Stylophora pistillata*, foram as únicas com mais de um estudo cada (n = 2;

8%), sendo, portanto, as mais investigadas. As demais tiveram apenas um estudo cada, somando 4% no total de publicações.

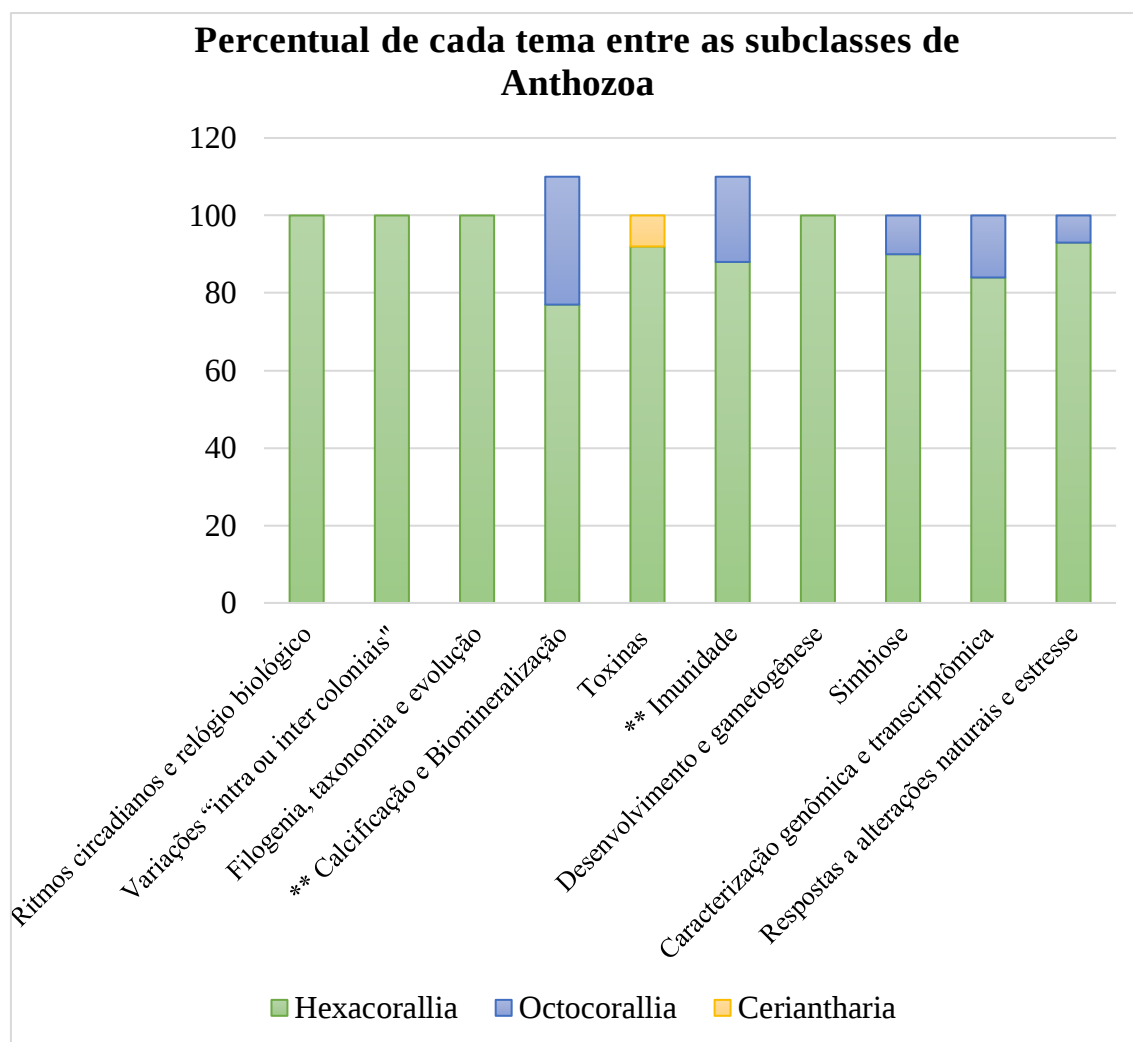
“Filogenia, taxonomia e evolução”: Total de 8 estudos (Figura 4), todos eles, abordando espécies de Hexacorallia, entre as ordens Scleractinia (n = 4) [S1, 89; 92; 125; 126], Actiniaria (n = 4) [S1, 42; 53; 80; 89], Corallimorpharia (n = 1) [S1, 57] e Zoantharia [S1, 89]. Ademais, esse mesmo estudo investigou ainda, uma espécie da subclasse octocorallia, pertencente a ordem Alcyonacea [S1, 89].

Um total de 35 espécies foram utilizadas, com *Rhodactis indosinensis* sendo a única espécie com 2 estudos, totalizando a maior porcentagem de ocorrência, portanto, com 33%.

“Calcificação e biomineralização”: contabilizou, por fim, um total de 9 estudos (Figura 4), 6 dos quais, sobre Hexacorallia (ocorrência em 66.6% dos estudos), e entre as ordens Actiniaria (n = 1) [S1, 3], Scleractinia (n = 5) [S1, 3; 5; 51; 63; 124] e Corallimorpharia (n = 1) [S1, 70]. Na subclasse Octocorallia (n = 4 ou 44.4% dos estudos), as ordens Alcyonacea (n = 4) [S1, 56; 95; 124; 135] e Helioporacea (n = 1) [S1, 95], também contabilizaram publicações sobre esse tema.

Neste tópico a somatória das porcentagens ultrapassa 100% em função de um artigo abordar tanto espécies de Hexacorallia, quanto espécies de Octocorallia [Tabela S1, 124] (Figura 5).

Ao todo, 24 espécies distintas foram utilizadas, com *Stylophora pistillata* e *Pinnigorgia flava* sendo as mais frequentes (n=2 e 22%).



** Observação: Percentual do tema ultrapassa 100% em função de um artigo abordar tanto espécies de Hexacorallia, quanto espécies de Octocorallia [ver Tabela S1, artigos sob código 124 e 136].

Figura 5. Distribuição percentual de abordagem dos temas entre as subclasses de Anthozoa nas publicações analisadas.

Análise das tecnologias utilizadas

A fim de fornecer um exame atual a respeito das tecnologias mais utilizadas atualmente para o desenvolvimento de estudos transcriptômicos em antozoários, os 58 artigos mais recentes, publicados entre os anos de 2018 a 2020, selecionados em nossas buscas, foram recuperados para análises posteriores acerca das plataformas de sequenciamento utilizadas, assim como das ferramentas bioinformáticas empregadas na montagem do transcriptoma, durante a etapa de anotação e em análises de expressão diferencial.

A primeira análise, destacou as plataformas de sequenciamento empregadas nas publicações (Figura 6). De acordo com essa avaliação, é possível notar que o sequenciamento mais utilizado atualmente para estudos transcriptômicos em Anthozoa, é o Illumina, com um percentual de ocorrência de 74% ($n = 46$) entre as publicações avaliadas. Embora outras tecnologias também estejam presentes entre os artigos avaliados que especificaram os métodos empregados, como SOLiD ($n = 3$), PacBio ($n = 1$), entre outras (qPCR e ABI Prism; $n = 5$), é notável certa padronização no uso da tecnologia Illumina atualmente para avaliar os transcritos em estudos envolvendo antozoários.

PLATAFORMAS DE SEQUENCIAMENTO UTILIZADAS

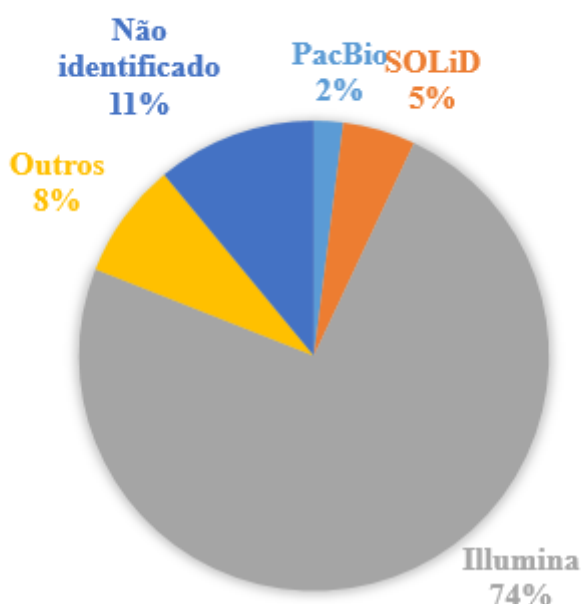


Figura 6. Ocorrência atual das plataformas de sequenciamento empregadas nos estudos analisados em nossa revisão.

Ao observarmos as etapas de pré-processamento dos dados que ocorre subsequentemente ao sequenciamento do material, uma gama de tecnologias bioinformáticas são empregadas a fim de averiguar a qualidade dos dados brutos obtidos, promovendo filtragens, removendo duplicações, reduzindo redundâncias, avaliando a contaminação, entre muitas outras possibilidades, tudo com o intuito de garantir uma alta qualidade ao conjunto final de dados gerados e aumentar a confiabilidade dos resultados.

No entanto, em muitas publicações essa etapa é ignorada ou não se encontra especificada, o que ocorreu em 13 artigos em nossa análise (16% dos dados), nos demais foi possível observar a aplicação de algumas ferramentas de pré-análise com esse intuito,

no entanto, como tais ferramentas atuam de maneiras distintas nos conjuntos de transcritos, não foi possível realizar uma comparação direta entre as mesmas. Contudo, foi possível observar o destaque de duas ferramentas em termos de utilização devido a alta ocorrência de citação nos artigos avaliados. São elas os programas Trimmomatic (n = 20 estudos), que aparece em 25% das publicações, e o programa FastQC (n = 18), em 22%, ambas atuando de maneiras diferentes sob os dados brutos, porém com o mesmo intuito de garantir uma elevada qualidade ao transcriptoma gerado.

Em relação a montagem dos transcritos, uma variedade de tecnologias bioinformáticas podem ser empregadas, tendo sido, portanto encontradas distintos softwares ou algoritmos de montagens entre as publicações avaliadas nas análises. Porém, um deles o software Trinity, contabilizou uma ocorrência significativamente mais alta que os demais, tendo sido apontado em 49% (n = 33) dos artigos analisados.

Em alguns estudos, esse programa foi utilizado junto a outros softwares de montagem, como o Velvet/Oases, Trans-ABYSS, e SOAPdenovo, o que os torna bem representado também em nossa análise, os artigos nos quais isso ocorreu são [Tabela S1, 91; 104; 124] (Figura 7).

Os artigos que utilizaram tecnologias que não somavam individualmente porcentagens significativas frente as demais por não terem sido abordadas mais de uma publicação, foram agrupados na categoria “outros”. Ademais, em 19% dos artigos não foi possível detectar a tecnologia de montagem empregada.

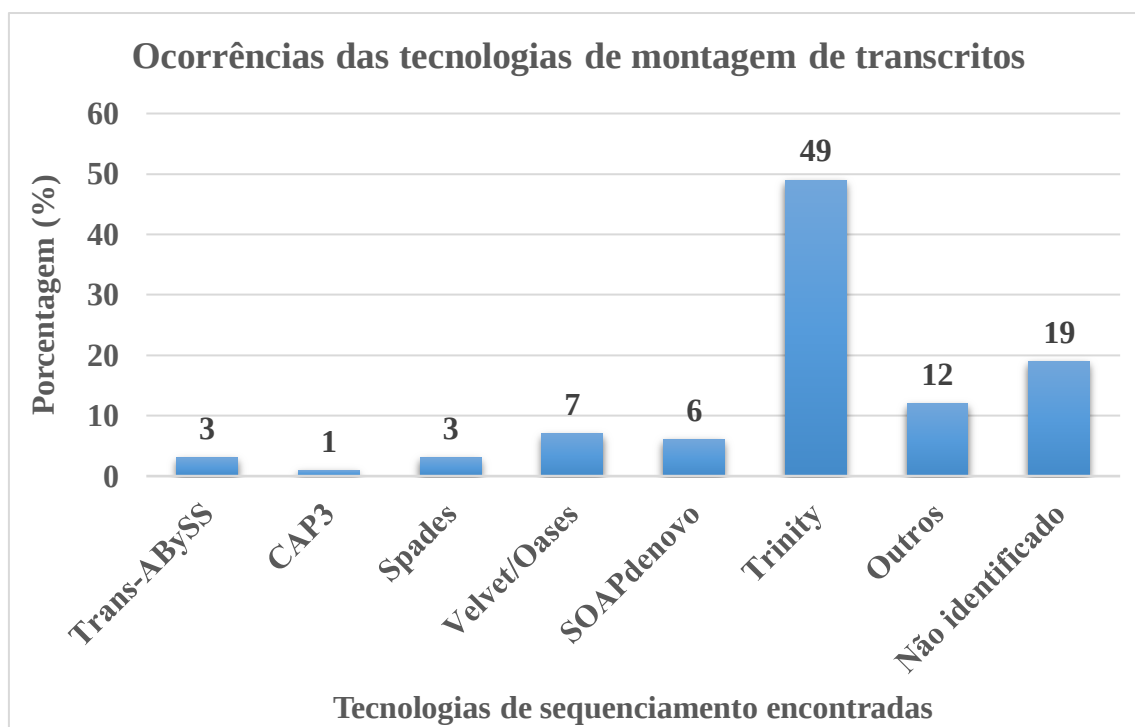


Figura 7. Análise das tencologias utilizadas para montagem de transcriptomas encontradas nas publicações analisadas.

Em relação a etapa subsequente, que aborda os pacotes utilizados para anotar os transcriptomas, apenas uma pequena parcela (12%; $n = 6$) não informou o uso de nenhuma ferramenta. Nos demais casos, pacotes Blast ou opções que utilizam a ferramenta Blast para realizar tais análises, como o Trinotate e o Gene Ontology foram amplamente aplicados nas publicações analisadas.

Descrições da etapa de anotação que indicavam diretamente a ferramenta Blast ocorreram em 68% dos artigos, em alguns casos, seguida pelo uso de tecnologias adicionais de anotação funcional que permitiam uma maior caracterização dos transcritos como, Blast2GO, Gene Ontology, KEEG, entre outros. Em 10% dos artigos houve somente a citação do uso de pacotes de anotação com um cunho de caracterização funcional, como os citados acima (Blast2GO, KEEG, entre outros). Já o Trinotate foi citado como utilizado em 10% das publicações analisadas.

Sendo assim, a ferramenta Blast contabilizou uma ocorrência quase unânime entre as anotações utilizadas, totalizando cerca de 88% de frequência nos artigos selecionados em nossas buscas.

Para finalizar, foi realizada ainda uma avaliação de tecnologias bioinformáticas mais utilizadas para avaliar genes com expressão diferencial em estudos transcriptômicos que possuíam essa análise como um dos objetivos, nas publicações da classe Anthozoa.

Em 31 artigos (52%), os autores não demonstraram interesse em avaliar esse tópico, ou não citaram as ferramentas utilizadas para realizar essa análise. No entanto, nos demais casos duas tecnologias se mostraram bastante úteis para avaliar a expressão diferencial, entre elas, o DeSeq2, presente em 13 estudos (22%), e o edgeR, presente em 11 estudos e somando 18% de ocorrência (Figura 8).

Ambos, fazem parte de pacotes de análise de expressão gênica diferencial da Bioconductor (Disponível em: <https://bioconductor.org/packages/3.12/bioc/>).

AVALIAÇÃO DA EXPRESSÃO DIFERENCIAL EM ANTHOZOA

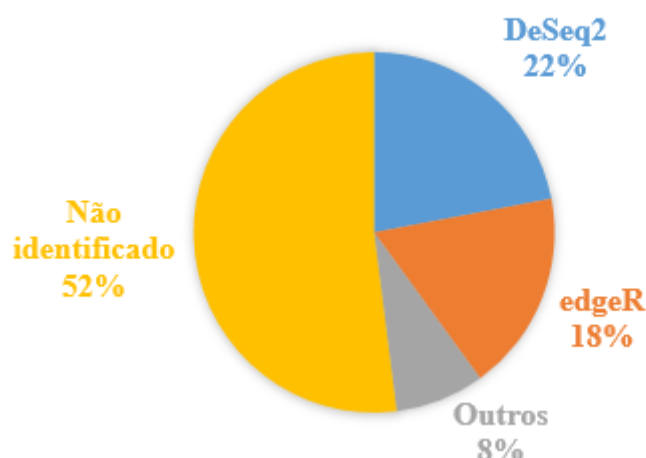


Figura 8. Tecnologias de análise de expressão diferencial utilizadas nas publicações analisadas para investigar transcriptomas em Anthozoa.

DISCUSSÃO

A classe Anthozoa agrupa organismos que desempenham uma série de funções importantes nos ecossistemas onde são encontradas, que repercutem no equilíbrio e na manutenção desses locais (Lehnert et al., 2012; Huang et al., 2019), afetando variadas espécies animais que coexistem em ambientes aquáticos. Em contrapartida, as investigações acerca desse que é considerado o maior clado atualmente dentro do filo Cnidaria (Kayal et al., 2018), ainda estão distantes de um número ideal em diversos temas, entre os quais, podemos citar as investigações transcriptômicas.

Por meio dos dados aqui fornecidos foi possível demonstrar que as investigações realizadas por meio de estudos transcriptômicos em Anthozoa, têm sido significativamente crescentes, avançando de 2 estudos publicados no ano de 2006, o primeiro ano onde alguma publicação descritiva acerca do tema foi detectada, para 22 estudos identificados atualmente, até 31 de outubro de 2020 na base de dados Google Scholar. Com um avanço bastante evidente a partir do ano de 2016.

Embora o cenário atual pareça animador, não se pode deixar de salientar que ainda existe um longo caminho a ser percorrido, pois o total de espécies investigadas até o momento acerca desse tópico, é ainda bastante inferior, cobrindo apenas 2%, se levarmos em conta a diversidade estimada para sua classe e descrita por Kayal e colaboradores em 2018.

Em relação a distribuição desses estudos entre os clados de Anthozoa, é possível afirmar que a subclasse hexacorallia, é de longe a mais investigada, tanto em relação ao número de ordens ($n = 4$) com Scleractinia e Actiniaria sendo as mais presentes, como também em relação ao número de espécies distintas ($n = 130$ espécies). Enquanto a subclasse octocorallia apresentou um total de 14 espécies, distribuídas entre 3 de suas ordens, com Alcyonacea, sendo a mais frequente entre as analisadas. Ceriantharia foi a subclasse menos investigada, em termos de espécies avaliadas ($n = 4$), se mostrando um campo bastante atrativo para pesquisas transcriptômicas futuras.

É importante salientar que a evolução das espécies utilizadas ao longo do período analisado, parece estar relacionada a disponibilização de sequenciamentos genômicos e transcriptômicos (por meio de ESTs) de referência para espécies do filo Cnidaria, que futuramente vieram a se tornar modelos para as demais abordagens. Entre essas espécies podemos citar, *Anemonia viridis* (Sabourault et al. 2009), *Acropora millepora* (Kortschak et al., 2003), *Acropora digitifera* (Shinzato et al. 2011), *Nematostella vectensis* (Putnam et al., 2007), e *Montastraea faveolata* (Schwarz et al., 2008).

Após tais disponibilizações, assim como, por meio do desenvolvimento das tecnologias de sequenciamento, como o NGS (Martin et al., 2011), assim como de novas abordagens bioinformáticas (Haas et al., 2010), como a estratégia de novo que não necessita de um genoma de referência para realizar a montagem de genomas e transcriptomas (Hass et al., 2013), não só houve mudanças nas espécies utilizadas, passando a abranger espécies não modelo, como números elevados de espécies passaram a ser avaliadas por cada estudo.

O primeiro estudo com mais de duas espécies, identificado por nossas análises, ocorreu em 2014 [Tabela S1, 35], o que pode ter ocorrido em função dos avanços citados acima, já que estes facilitaram o trabalho em termos técnicos e ampliaram as possibilidades de análises a serem desenvolvidas por pesquisadores.

A respeito da classificação temática aqui realizada, o tópico mais abordado pelas publicações foi a avaliação de “respostas a alterações naturais ou experimentais e estresse”, algo consideravelmente esperado em função das alterações detectadas em ambientes aquáticos frente a alterações climáticas, assunto esse, que vem preocupando pesquisadores a anos, sendo inclusive um tópico ainda em destaque (Lehnert et al., 2012; Liew et al., 2014; Urbarova et al., 2019; Yuan et al., 2019; Tong et al., 2020; Vargas et al., 2020).

Lesser e colaboradores em um artigo publicado em 2007, levantaram relevantes questionamentos acerca dos impactos de alterações climáticas e eventos de branqueamentos em recifes de corais – episódios onde a simbiose de organismos fotossintetizantes com espécies corais é interrompido, causando danos que acarretam na morte do hospedeiro, normalmente ocorrido em função do aumento de temperatura da água (Lesser et al., 2011) – questionando inclusive se esses organismos seriam capazes de sobreviver até o próximo século frente as intervenções humanas detectadas. Segundo esse autor, causas como pesca excessiva, doenças, eutrofização, mudanças climáticas globais, estariam contribuindo ao declínio observado em populações de corais construtores de recifes assim como, alterando a estrutura de tais comunidades em escalas de tempo nunca antes relatadas.

Atualmente, essas constatações já são amplamente conhecidas pelos pesquisadores, no entanto, a existência de relatos como esse, que não são poucos a cerca de uma a duas décadas atrás (Hoegh-Guldberg et al., 1999; Fitt et al., 2001; Wellington et al., 2001; Hughes et al., 2003; Bellwood et al., 2004; Donner et al., 2005; 2007; Baird et al., 2009; Woesik et al., 2011), podem ter auxiliado para o aumento do interesse em investigações transcriptômicas com um cunho em respostas desses animais frente as mudanças antrópicas denunciadas. O que justifica nosso apontamento desse tópico como o mais frequente tema, como algo esperado, Assim como o alto índice de temas também relacionados a respostas de antozoários a mudanças climáticas e antropogênicas, como “imunidade”, “simbiose”, “desenvolvimento e gametogênese” e “calcificação e biomineralização”.

Por outro lado, temas mais específicos e com um cunho mais descritivo, como “ritmos circadianos e relógio biológico”, “estudos taxonômicos, filogenéticos e evolutivos” e “variações ‘intra ou interespecíficas’” são menos frequentes em publicações de maneira geral, assim como, não abordam uma grande diversidade de clados e espécies. No entanto, esse cenário pode vir a mudar futuramente, levando em conta a expansão observada nas publicações em nossas análises acerca de transcriptomas e da expressão gênica com cunho em puro e simplesmente ampliar o conhecimento e a capacidade de caracterização desses organismos, de maneira que foi possível estabelecer categorias para agrupar tais artigos.

Sendo assim, é fato que temáticas ligadas a questões ambientais ou a adaptações a mudanças, ainda representem um ponto forte em investigações na classe Anthozoa, visto que mesmo quando não apresentam números absolutos entre os mais elevados na contabilização de publicações, exibem uma maior variedade de espécies analisadas, porém, com o surgimento de novas possibilidades bioinformáticas e tecnológicas e com a valorização atual do detalhamento de características animais, com intuito de ampliar nosso conhecimento acerca das espécies, é possível que haja um crescimento contínuo ao longo dos próximos anos na disponibilização de dados de temas atualmente menos favorecidos, como os citados acima.

Por fim, em nossa análise em busca das ferramentas moleculares e tecnologias bioinformáticas mais utilizadas nos últimos anos (2018-2020), em pesquisas transcriptômicas em indivíduos de Anthozoa, mostrou certa tendência entre os diferentes métodos que vêm sendo utilizados pelos pesquisadores da área, tendo sido possível inferir em todas as etapas, de acordo com estudos onde a seção de métodos estava bem descrita, qual tecnologia é predominantemente mais empregada, assim como, apontar candidatos alternativos para uso em cada um dos estágios que segue um trabalho com dados transcriptômicos. Não foi detectada nenhuma relação entre as ferramentas utilizadas e os táxons abordados.

Acerca dessa análise, é provável que as ferramentas apontadas como mais utilizadas em cada seção estejam relacionados a qualidades apresentadas por tais tecnologias que são reconhecidas atualmente como as mais promissoras tecnicamente dentro das funções esperadas ou então que sua ampla utilização esteja relacionada a facilidade de acesso assim como ao menor investimento financeiro necessário para sua execução (ver mais em Hoffman et al., 2008; Quail et al., 2012; Donkor et al., 2014; Haas et al., 2013; Rajkumar et al., 2015).

Fato é que muitos estudos vêm indicando atualmente o uso combinado de algumas plataformas ou tecnologias bioinformáticas (Rajkumar et al, 2015), assim como o desenvolvimento de novos protocolos a serem seguidos a fim minimizar limitações já conhecidas em algumas dessas ferramentas (Caporaso et al., 2012), a fim de garantir a qualidade dos dados obtidos, o que pode ser observado em alguns dos artigos analisados durante essa revisão. No entanto, cabe a cada pesquisador delimitar por meio de seus conhecimentos, com base em referências prévias aplicadas em seu campo de estudo assim como, com base em seus delineamentos experimentais a serem executados, definir as melhores estratégias e técnicas a serem aplicadas.

Com isso, é possível concluir que apesar do evidente e rápido avanço observado no campo da ciência que a transcriptômica representa, em função do desenvolvimento de novas tecnologias que tornam essa área mais viável e acessível (Hoffman et al., 2008; Haas et al., 2010; Martin et al., 2011), para a realização de investigações diversas, na classe Anthozoa, uma série de lacunas ainda permanecem.

Frente a esse cenário, nossas perspectivas futuras incluem a ampliação da diversidade de espécies de Anthozoa a serem utilizadas, com enfoque em clados pouco investigados, como a subclasse Ceriantharia, ordens de Hexacorallia como Corallimorpharia, Zoantharia, Antipatharia, entre outras e clados da subclasse Octocorallia. Ademais, tais investigações podem e devem abordar temáticas diversas, focadas em tópicos escassos, como alguns abordados em nossa revisão, ou ainda inexistentes na literatura.

Por fim, com base na expansão e no desenvolvimento tecnológico observado ao longo dos últimos anos, almeja-se que o aperfeiçoamento de ferramentas bioinformáticas e de novos protocolos a serem aplicados possam continuar a ser elaborados e aprimorados, a fim de que possamos reduzir os lapsos ainda existentes, e que por meio do avanço no número de investigações transcriptômicas consigamos aumentar nossa compreensão acerca dessa classe de organismos tão essenciais, porém ainda pouco destacadas na literatura.

REFERÊNCIAS

- BABONIS L. S.; MARTINDALE, M. Q.; RYAN, J. F. **Do novel genes drive morphological novelty? An investigation of the nematosomes in the sea anemone *Nematostella vectensis***. 2016. BMC Evolutionary Biology, 16: 114, 22 p.
- BAIRD, A. H.; BHAGOOI, R.; RALPH, P. J.; TAKAHASHI, S. **Coral bleaching: the role of the host**. 2009. Trends in Ecology and Evolution, V. 24, 1, 16-20. DOI:10.1016/j.tree.2008.09.005.
- BELLWOOD, D. R.; HUGHES, T. P.; NYSTROM, M. **Confronting the coral reef crisis**. 2004. Nature, 429, 827–833.
- CAPORASO, J.; LAUBER, C.; WALTERS, W. *et al.* **Ultra-high-throughput microbial community analysis on the Illumina HiSeq and MiSeq platforms**. 2012. ISME J, 6, 1621–1624. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.8>.
- DAVIES, S. W.; MARCHETTI, A.; RIES, J. B.; CASTILLO, K. D. **Thermal and pCO₂ Stress Elicit Divergent Transcriptomic Responses in a Resilient Coral**. 2016. Front. Mar. Sci., 3:112, 15 p.
- DEBOER, M. L.; KRUPP, D. A.; WEIS, V. M. **Proteomic and transcriptional analyses of coral larvae newly engaged in symbiosis with dinoflagellates**. 2006. Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, V. 2, Issue 1, 63-73.
- DONKOR, E. S.; DAYIE, N. D.; ADIKU, T. K. **Blast at the core of a powerful and diverse set of sequence analysis tools**. 2014. Journal of Bioinformatics Sequence analysis, v. 6, 1, 1-6. DOI: 10.5897/IJBC2013.0086.
- DONNER, S. D.; SKIRVING, W. J.; LITTLE, C. M.; OPPENHEIMER, M.; HOEGH-GULDBERG, O. **Global assessment of coral bleaching and required rates of adaptation under climate change**. 2005. Global Climate Change, 11, 2251–2265.
- DONNER, S. D.; KNUTSON, T. R.; OPPENHEIMER, M. **Model-based assessment of the role of human-induced climate change in the 2005 Caribbean coral bleaching event**. 2007. Proc Natl Acad Sci U S A, 104, 13, 5483-8.

- FIDLER, A. L.; VANACORE, R. M.; CHETYRKIN, S. V. *et al.* **A unique covalent bond in basement membrane is a primordial innovation for tissue evolution.** 2014. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111:1, 331-336.
- FITT, W. K.; BROWN, B. E.; WARNER, M. E.; DUNNE, R. P. **Coral bleaching: interpretation of thermal tolerance limits and thermal thresholds in tropical corals.** 2001. *Coral Reefs*, 20, 51–65.
- GOMES, P. B.; TARGINO, A. G.; BRANDÃO, R. A.; PÉREZ, C. D. **Diversity and Distribution of Actiniaria.** In: GOFFREDO, S.; DUBINSKY, Z. *The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of Medusa and her sisters.* Springer, 2016. E-book. 125-138. DOI 10.1007/978-3-319-31305-4.
- GRASSO, L. C.; MAINDONALD, J.; RUDD, S. *et al.* **Microarray analysis identifies candidate genes for key roles in coral development.** 2008. *BMC Genomics*, 9, 540. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-540>.
- GUZMAN, C.; SHINZATO, C.; LU, T. M. *et al.* **Transcriptome analysis of the reef-building octocoral, *Heliopora coerulea*.** 2018. *Sci Rep*, 8, 8397. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26718-5>.
- HAAS, B. J.; ZODY, M. C. **Advancing RNA-Seq analysis.** 2010. *Nature biotechnology*, 28, 421–423.
- HAAS, B.; PAPANICOLAOU, A.; YASSOUR, M. *et al.* **De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis.** 2013. *Nat Protoc*, 8, 1494–1512. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nprot.2013.084>.
- HARZING, A. W.; ALAKANGAS, S. **Google Scholar, Scopus and the Web of Science: a longitudinal and cross disciplinary comparison.** 2016. *Scientometrics*, 106:2, 787-804.
- HELM, R. R. *et al.* **Characterization of differential transcript abundance through time during *Nematostella vectensis* development.** 2013. *BMC Genomics*, 14:266.
- HOEGH-GULDBER, O. **Climate change, coral bleaching and the future of the world's coral reefs.** 1999. *Marine & Freshwater Research*, v. 50, 8, 839-866.
- HOFMANN, G. E.; O'DONNELL, M.J.; TODGHAM, A.E. **Using functional genomics to explore the effects of ocean acidification on calcifying marine organisms.** 2008. *Mar Ecol Prog Ser*, 373, 219-225. Disponível em: <https://doi.org/10.3354/meps07775>.

- HUANG, C.; MORLIGHEM, J. R.; ZHOU, H. *et al.* **The Transcriptome of the Zoanthid *Protopalythoa variabilis* (Cnidaria, Anthozoa) predicts a Basal Repertoire of Toxin-like and Venom-Auxiliary Polypeptides.** 2016. *Genome Biol Evol.*, 8:9, 3045-3064.
- HUANG, C.; MORLIGHEM, J. R.; CAI, J.; LIAO, Q.; PEREZ, C. D.; GOMES, P. B. *et al.* **Identification of long non-coding RNAs in two anthozoan species and their possible implications for coral bleaching.** 2017. *Sci Rep*, 2017 Jul 13, 7, 1:5333. DOI: 10.1038/s41598-017-02561-y. PMID: 28706206; PMCID: PMC5509713.
- HUANG, C.; LENG, D.; SUN, S. *et al.* **Re-analysis of the coral *Acropora digitifera* transcriptome reveals a complex lncRNAs-mRNAs interaction network implicated in *Symbiodinium* infection.** 2019. *BMC Genomics*, 20, 48. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-019-5429-3>.
- HUGHES, T. P.; BAIRD, A. H.; BELLWOOD, D. R.; CARD, M.; CONNOLLY, S. R.; FOLKE, C. *et al.* **Climate change, human impacts, and the resilience of coral reefs.** 2003. *Science*. 2003 Aug 15, 301, 5635, 929-33. DOI: 10.1126/science.1085046. PMID: 12920289.
- KARAKO-LAMPERT, S.; ZOCCOLA, D.; SALMON-DIVON, M.; KATZENELLENBOGEN, M.; TAMBUTTÉ, S. *et al.* **Transcriptome analysis of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*.** 2014. *PLoS One*, 9:2, e88615.
- KAYAL, E.; BENTLAGE, B.; PANKEY, M. S.; OHDERA, A. H.; MEDINA, M.; PLACHETZKI, D. C. *et al.* **Phylogenomics provides a robust topology of the major cnidarian lineages and insights on the origins of 273 key organismal traits.** 2018. *BMC Evol Biol*, 18, 68.
- KITAHARA, M. V.; FUKAMI, H.; BENZONI, F.; HUANG, D. **The New Systematics of Scleractinia: Integrating Molecular and Morphological Evidence.** In: GOFFREDO, S.; DUBINSKY, Z. *The Cnidaria, Past, Present and Future: The world of Medusa and her sisters.* Springer, 2016. E-book. DOI 10.1007/978-3-319-31305-4.
- KITCHEN, S. A.; CROWDER, C. M.; POOLE, A. Z.; WEIS, V.M.; MEYER, E. **De novo assembly and characterization of four anthozoan (Phylum Cnidaria) transcriptomes.** 2015. *G3: Genes, genomes, genetics*, g3-115.
- KLOMPEN, A. L.; MACRANDER, J.; REITZEL, A.M.; STAMPAR, S.N. **Transcriptomic Analysis of Four Cerianthid (Cnidaria, Ceriantharia) Venoms.** 2020. *Mar Drugs*, 18, 8: E413.

- KORTSCHAK, R. D.; SAMUEL, G.; SAINT, R.; MILLER, D. J. **EST analysis of the cnidarian *Acropora millepora* reveals extensive gene loss and rapid sequence divergence in the model invertebrates.** 2003. *Curr Biol.*, 13, 2190-2195. DOI: 10.1016/j.cub.2003.11.030
- KRANTZ, J.; MARYMEGAN, D.; MACRANDER, J. **Identifying Convergence of ShK Toxins in Sea Anemones.** 2020. Disponível em: <http://hdl.handle.net/11416/513>.
- LE GOFF, C.; GANOT, P.; ZOCCOLA, D.; CAMINITISEGONDS, N.; ALLEMAND, D.; TAMBUTTE, S. **Carbonic Anhydrases in Cnidarians: Novel Perspectives from the Octocorallian *Corallium rubrum*.** 2016. *PLoS ONE* 11, 8: e0160368. Disponível em: doi:10.1371/journal.pone.0160368.
- LEHNERT, E. M.; BURRIESCI, M. S.; PRINGLE, J. R. **Developing the anemone *Aiptasia* as a tractable model for cnidarian-dinoflagellate symbiosis: the transcriptome of aposymbiotic *A. pallida*.** 2012. *BMC Genomics*, 13: 271.
- LESSER, M. P. **Coral reef bleaching and global climate change: can corals survive the next century?** 2007. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007 Mar 27, 104, 13, 5259-60. DOI: 10.1073/pnas.0700910104. PMID: 17374718; PMCID: PMC1838477.
- LESSER M. P. **Coral Bleaching: Causes and Mechanisms.** 2011. In: Dubinsky Z., Stambler N. (eds). *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. Springer, 405-419. Disponível em: https://doi.org/10.1007/978-94-007-0114-4_23.
- LIAO, Q.; GONG, G.; SIU, S. I. *et al.* **A Novel ShK-Like Toxic Peptide from the Transcriptome of the Cnidarian *Palythoa caribaeorum* Displays Neuroprotection and Cardioprotection in Zebrafish.** 2018. *Toxins (Basel)*, 10, 6: 238.
- LIAO, Q.; GONG, G.; POON, T. W. *et al.* **Combined transcriptomic and proteomic analysis reveals a diversity of venom-related and toxin-like peptides expressed in the mat anemone *Zoanthus natalensis* (Cnidaria, Hexacorallia).** 2019. *Arch Toxicol*, 93, 1745–1767.
- LIEW, Y. J.; ARANDA, M.; CARR, A.; BAUMGARTEN, S.; ZOCCOLA, D. *et al.* **Identification of MicroRNAs in the Coral *Stylophora pistillata*.** 2014. *PLoS ONE*, 9, 3: e91101.
- LIN, M. F.; MOYA, A.; YING, H.; CHEN, C. A.; COOKE, I.; BALL, E. E. *et al.* **Analyses of Corallimorpharian Transcriptomes Provide New Perspectives on the Evolution of Calcification in the Scleractinia (Corals).** 2017. *Genome*

- Biology and Evolution, V. 9, Issue 1, 150–160. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/gbe/evw297>.
- LOPEZ, J. V.; LEDGER, A.; SANTIAGO-VAZQUEZ, L. Z.; POP, M.; SOMMER, D. D.; RANZER, L. K. *et al.* **Suppression Subtractive Hybridization PCR Isolation of cDNAs from a Caribbean Soft Coral**. 2011. Electronic Journal of Biotechnology, 1. Disponível em: [0iii 10.2225/vol14-issue1-fulltext-3](https://doi.org/10.2225/vol14-issue1-fulltext-3).
- MACRANDER, J.; BRUGLER, M. R.; DALY, M. **A RNA-seq approach to identify putative toxins from acrorhagi in aggressive and non-aggressive *Anthopleura elegantissima* polyps**. 2015. BMC Genomics, 16, 1: 221.
- MACRANDER, J.; BROE, M.; DALY, M. **Tissue-Specific Venom Composition and Differential Gene Expression in Sea Anemones**. 2016. Genome Biol Evol, 2016 Aug 25, 8, 8:2358-75. DOI: 10.1093/gbe/evw155. PMID: 27389690; PMCID: PMC5010892.
- MARTIN, J. A.; WANG, Z. Next-generation transcriptome assembly. 2011. Nature reviews. Genetics, 12, 671–682.
- MEYER, E.; AGLYAMOVA, G. V.; WANG, S. *et al.* **Sequencing and de novo analysis of a coral larval transcriptome using 454 GSFlx**. 2009. BMC Genomics, 10: 219.
- PORTUNE, K.J.; VOOLSTRA, C. R.; MEDINA, M.; SZMANT, A. M. **Development and heat stress-induced transcriptomic changes during embryogenesis of the scleractinian coral *Acropora palmata***. 2010. Mar Genomics, 2010 Mar, 3, 1, 51-62. DOI: 10.1016/j.margen.2010.03.002. Epub. PMID: 21798197.
- PUTNAM, N. H.; SRIVASTAVA, M.; HELLSTEN, U.; DIRKS, B.; CHAPMAN, J.; SALAMOV, A. *et al.* **Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization**. 2007. Science, 2007 Jul 6, 317, 5834, 86-94. DOI: 10.1126/science.1139158. PMID: 17615350.
- QUAIL, M. A.; SMITH, M.; COUPLAND, P. *et al.* **A tale of three next generation sequencing platforms: comparison of Ion Torrent, Pacific Biosciences and Illumina MiSeq sequencers**. 2012. BMC Genomics 13, 341. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-13-341>.
- RAJKUMAR, A. P.; QVIST, P.; LAZARUS, R. *et al.* **Experimental validation of methods for differential gene expression analysis and sample pooling in RNA-seq**. 2015. BMC Genomics, 16, 548. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-015-1767-y>.

- REITZEL, A. M.; TARRANT, A. M.; LEVY, O. **Circadian clocks in the cnidaria: environmental entrainment, molecular regulation, and organismal outputs.** 2013. Integrative and comparative biology, 53, 1, 118-130.
- ROBINSON, M. D.; MCCARTHY, D. J.; SMYTH, G. K. **edgeR: a Bioconductor package for differential expression analysis of digital gene expression data.** 2010. Bioinformatics, V. 26, Issue 1, 1 January 2010, Pages 139–140, Disponible em: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btp616>.
- RODRIGUEZ-LANETTY, M.; PHILLIPS, W. S.; WEIS, V. M. **Transcriptome analysis of a cnidarian-dinoflagellate mutualism reveals complex modulation of host gene expression.** 2006. BMC Genomics, 7: 23.
- SABOURAULT, C.; GANOT, P.; DELEURY, E.; ALLEMAND, D.; FURLA, P. **Comprehensive EST analysis of the symbiotic sea anemone, *Anemonia viridis*.** 2009. BMC Genomics, 10: 333.
- SABOURAULT, C.; GANOT, P.; MOYA A.; FURLA, P. **Endosymbiosis drives transcriptomic adjustments and genomic adaptations in cnidarians.** 2012. Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, ICRS2012_7A_1. Disponible em: www.icrs2012.com/proceedings/manuscripts/ICRS2012_7A_1.pdf.
- SCHWARTZ, J. A.; BROKSTEIN, P. B.; VOOLSTRA, C. *et al.* **Coral life history and symbiosis: Functional genomic resources for two reef building Caribbean corals, *Acropora palmata* and *Montastraea faveolata*.** 2008. BMC Genomics 9, 97. Disponible em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-97>.
- SHINZATO, C.; SHOGUCHI, E.; KAWASHIMA, T.; HAMADA, M.; HISATA, K. *et al.* **Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change.** 2011. Nature, 476, 320-323.
- SHINZATO, C.; KHALTURIN, K.; INOUE, J.; ZAYASU, Y.; KANDA, M.; KAWAMITSU, M. *et al.* **Eighteen coral genomes reveal the evolutionary origin of *Acropora* strategies to accommodate environmental changes.** 2020. Mol Biol Evol, 2020 Sep 2:msaa216. DOI: 10.1093/molbev/msaa216. Epub ahead of print. PMID: 32877528.
- SMITH, H. L.; PAVASOVIC, A.; SURM, J. M.; PHILLIPS, M. J.; PRENTIS, P. J. **Evidence for a Large Expansion and Subfunctionalization of Globin Genes in Sea Anemones.** 2018. Genome Biology and Evolution, V. 10, Issue 8, 1892–1901. Disponible em: <https://doi.org/10.1093/gbe/evy128>.

- TONG, H.; ZHOU, G.; ZHANG, F.; SUN, J.; ZHANG, W.; HUANG, H. *et al.* **Nutrient gradients simulate different adjustments of coral-algal symbiosis.** 2020. DOI: 10.21203/rs.3.rs-17147/v1.
- TULIN, S.; AGUIAR, D.; ISTRAIL, S.; SMITH, J. **A quantitative reference transcriptome for *Nematostella vectensis* early embryonic development: a pipeline for de novo assembly in emerging model systems.** 2013. *EvoDevo*, 4, 1, p.16.
- URBAROVA, I.; FORÊT, S.; DAHL, M.; EMBLEM, Å.; MILAZZO, M.; HALL-SPENCER, J. M. *et al.* **Ocean acidification at a coastal CO₂ vent induces expression of stress-related transcripts and transposable elements in the sea anemone *Anemonia viridis*.** 2019. *PLoS ONE*, 14, 5: e0210358.
- VAN DER BURG, C. A.; PRENTIS, P. J.; SURM, J. M. *et al.* **Insights into the innate immunome of actinarians using a comparative genomic approach.** 2016. *BMC Genomics*, 17, 850. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3204-2>.
- VAN WOESIK, R.; SAKAI, K.; GANASE, A.; LOYA, Y. **Revisiting the winners and the losers a decade after coral bleaching.** 2011. *Mar Ecol Prog Ser*, v. 434, 67–76. DOI: 10.3354/meps09203.
- VARGAS, S.; ZIMMER, T.; CONCI, N.; LEHMANN, M.; WORHEIDE, G. **Resilience to climate change in an octocoral involves the transcriptional decoupling of the calcification and stress response toolkits.** 2020. *bioRxiv* 2020.07.15.202069. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.07.15.202069>.
- WELLINGTON, G. M.; GLYNN, P. W.; STRONG, A. E.; NAVARETTE, S. A.; WIETERS, E.; HUBBARD, D. **Crisis on coral reefs linked to climate change.** 2001. *Eos*, 82, 1, 1-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1029/01EO00001>.
- YUAN, X.; HUANG, H.; ZHOU, W. *et al.* **Gene Expression Profiles of Two Coral Species with Varied Resistance to Ocean Acidification.** 2019. *Mar Biotechnol*, 21, 151–160. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10126-018-9864-y>.

Capítulo 2.

Anotação de setores do transcriptoma de *Ceriantheomorpha brasiliensis* (Cnidaria, Ceriantharia)

Isabela A. de Godoy^{1, 2}, Adam Reitzel³, Jason Macrander⁴ & Sérgio N. Stampar^{1, 2}

¹ Universidade Estadual Paulista (Unesp), IBB, Botucatu, Brasil

² Universidade Estadual Paulista (Unesp), Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática – LEDA, FCL, Brasil

³ Department of Biological Sciences, University of North Carolina at Charlotte, 9201 University City Blvd, Charlotte, NC 28262, USA

⁴ Department of Biology, Florida Southern College, 111 Lake Hollingsworth, Drive Lakeland, FL 33801, USA

RESUMO

O sequenciamento do transcriptoma se tornou uma prática útil em investigações com organismos não-modelo, possibilitando a previsão de genes, de candidatos a proteínas e a compreensão da expressão diferencial frente a condições variadas, viabilizando a avaliação desses organismos, frente a ações antrópicas ou a variações diárias naturais em espécies esparsamente investigadas. Baseado nesse contexto, um clado do filo Cnidaria escassamente investigado, a subclasse Ceriantharia, foi escolhido a fim de investigar o conjunto de transcritos obtidos, após sequenciamento. Sendo assim, o estudo em questão, buscou descrever setores do transcriptoma da espécie *Ceriantheomorpha brasiliensis*, por meio de anotações comparativas com intuito de avaliar a similaridade dos transcritos encontrados nessa espécie, frente a sequências nucleotídicas e proteínas já conhecidas e descritas para metazoários. Os resultados obtidos por meio do uso de Blastn, apontam 14.029 nucleotídeos similares a sequências já descritas para 174 metazoários distintos, ademais, por meio de uso de Blastx, 381 candidatos a proteínas similares a sequências já conhecidas, associados a atividades biológicas como, metabolismo, transporte de íons, comunicação celular, entre outras funções foram apontadas, disponibilizando, novos dados que contribuem para a compreensão desse clado pouco investigado.

Palavras-chave: Ceriantharia. Transcriptoma. Expressão gênica. Anotação.

**Annotation of *Ceriantheomorpha brasiliensis* (Cnidaria, Ceriantharia)
transcriptome**

Isabela A. de Godoy^{1, 2}, Adam Reitzel³, Jason Macrander⁴ & Sérgio N. Stampar^{1, 2}

¹ Universidade Estadual Paulista (Unesp), IBB, Botucatu, Brasil

² Universidade Estadual Paulista (Unesp), Departamento de Ciências Biológicas, Laboratório de Evolução e Diversidade Aquática – LEDA, FCL, Brasil

³ Department of Biological Sciences, University of North Carolina at Charlotte, 9201 University City Blvd, Charlotte, NC 28262, USA

⁴ Department of Biology, Florida Southern College, 111 Lake Hollingsworth, Drive Lakeland, FL 33801, USA

ABSTRACT

Transcriptome sequencing has become a useful practice in investigations involving non-model organisms, enabling the prediction of genes, protein candidates and the understanding of differential expression in the face of varied conditions, enabling the evaluation of these organisms, facing anthropogenic actions or natural variations in sparsely investigated species. Based on this context, a clade of the Cnidaria phylum barely investigated, the Ceriantharia subclass was chosen in order to investigate the set of transcripts obtained, after sequencing. Therefore, the study in question sought to describe sectors of the *Ceriantheomorpha brasiliensis* species transcriptome, by means of comparative annotations, in order to evaluate the similarity of the transcripts found in this species, against nucleotide sequences and proteins already known and described for metazoans. The results obtained using Blastn tool, show 14,029 nucleotides similar to sequences already described for 174 distinct metazoans. In addition, using Blastx tool, 381 protein candidates similar to already known sequences, associated with biological activities such as, metabolism, ion transport, cellular communication, among other functions were pointed out, making available new data that contribute to the understanding scarcely investigated clade.

Keywords: Ceriantharia. Transcriptome. Gene expression. Annotation.

INTRODUÇÃO

O filo Cnidaria é conhecido por sua grande diversidade morfológica. Embora, sua recente proposta de divisão taxonômica em três subfilos, Medusozoa, Anthozoa e Endocnidozoa (Zapata et al., 2015; Chang et al., 2015), permita embasar a filogenia dos grandes grupos em Cnidaria, estudos recentes vem demonstrando uma diversidade a nível molecular, que se estende entre organismos correlatos dentro dos subfilos, como no caso da subclasse Ceriantharia (Stampar et al., 2014; 2019), um distinto e notável integrante do subfilo Anthozoa (Fig. 1).

Os ceriantos, organismos pertencentes a subclasse Ceriantharia apresentam um corpo cilíndrico, onde sua coluna, disco oral e tentáculos são lisos. Os tentáculos apresentam uma disposição em tentáculos marginais, localizados periféricamente e tentáculos labiais, localizados ao redor da boca (Tiffon et al., 1987). Onde os tentáculos marginais, são normalmente muito longos (exemplo *Ceriantheomorphe brasiliensis*, ver Fig. 2). Já os tentáculos labiais, mais curtos e finos e encontrados em menor número (Carlgren et al., 1931). Outra marcante característica da subclasse Ceriantharia, é a presença de um tipo díspar de cnida – pticocistos – descrita pela primeira vez por Mariscal e colaboradores em 1977. Atualmente, sabe-se que os pticocistos são ferramentas utilizadas no processo de formação do tubo dos ceriantos (Stampar et al., 2015).

Contudo, a singularidade dessa subclasse, não se resume a características morfológicas. Por meio da utilização de marcadores moleculares nucleares e mitocondriais de espécies cnidárias em comparação com os marcadores encontrados em Ceriantharia (Stampar et al., 2014; 2019), foi possível não só inferir novas posições filogenéticas viáveis para o grupo, assim como, identificar singularidades que auxiliam no entendimento da biologia e da história evolutiva desses indivíduos.

Segundo Shearer et al. (2002), o relógio molecular mitocondrial antozoário, possui uma taxa de evolução mais lenta que a maioria dos encontrados em Metazoa – 10 a 20 vezes menor – no entanto, estudos realizados por Stampar et al. (2014) com espécies de Ceriantharia, demonstraram um padrão de divergência do DNA mitocondrial de rápida evolução, com taxas mais semelhantes à de hidrozoários (Medusozoa) e bilatérios.

Ao aprofundar os estudos em regiões do mitogenoma dos ceriantos, Stampar et al. (2019), corroborou divergências importantes entre o genoma mitocondrial desses organismos e de outros Anthozoa. Por meio de experimentos realizados com duas espécies de Ceriantharia, *Isarachnanthus nocturnus* e *Pachycerianthus magnus*, as

sequências gênicas mitocondriais puderam ser montadas, se mostrando, novamente, diferentes do padrão verificado em Anthozoa – genoma único e circular. Nestes organismos, a montagem indicou múltiplos fragmentos lineares formando o mitogenoma (Stampar et al., 2019), o que é característico para membros do subfilo Medusozoa (Kayal et al., 2011), mas nunca havia sido relatado para Anthozoa. Porém, o número inferido de fragmentos e a variação na ordem dos genes entre as espécies são muito maiores dentro de Ceriantharia do que em Medusozoa, com os genomas de *I. nocturnus* e *P. magnus* diferindo entre si no arranjo de genes e no número de cromossomos lineares.

Outra relevante observação, é de que esses genomas, são em média três a quatro vezes maiores que os de outros cnidários, em função de um aumento de regiões não codificantes, totalizando em torno de 80% do genoma mitocondrial, locais esses, onde grande parte das diferenças entre Ceriantharia e outros cnidários são mais notáveis (Stampar et al., 2019).

Por meio desses novos apontamentos, que retomaram o estudo desse clado ignorado por muito tempo, a posição desses organismos dentro de Anthozoa, que possuía um longo histórico de tentativas de agrupamentos dentro do filo Cnidaria (Hertwig et al., 1882; Carlgren et al., 1912; Leloup et al., 1964; den Hartog et al., 1977), pode ser repensada e redefinida. Atualmente, Ceriantharia é apontada como um ramo isolado dentro de Anthozoa, devendo ser tratada como subclasse de Anthozoa (Stampar et al., 2014)

Em relação a presença de dados transcriptômicos para Ceriantharia, apenas um estudo, realizado por Klompen e colaboradores (2020), é encontrado na literatura. Por meio de investigação transcriptômica realizada em quatro espécies, foi possível determinar genes candidatos a toxinas semelhantes a dados já descritos. O número de toxinas encontrado para as espécies variou entre 69-182, totalizando 525 genes candidatos a toxinas encontrados entre as quatro espécies de Ceriantharia, com um perfil de toxinas dominado por famílias enzimáticas de proteínas e peptídeos, consistente com achados anteriores em cnidários (Huang et al., 2016; Liao et al., 2018).

Sendo assim, embora os estudos realizados com esse clado tenham sido retomados, implicando em elucidações acerca da filogenia e da história evolutiva de Ceriantharia, informações acerca de seu transcriptoma e de sua expressão gênica, são ainda escassas. Levando em conta a relevância dessas informações para o aumento da compreensão desses organismos, o estudo em questão se faz essencial.

A espécie *Ceriantheomorpha brasiliensis*

Fazendo parte da família Cerianthidae, a mais representativa em número de espécies da subclasse Ceriantharia, apresenta espécimes com notáveis variações em seu tamanho (Carlgren et al., 1912). Stampar (2012), apontou espécimes com tamanhos corpóreos entre 5 e 42 cm de comprimento, com animais vivos podendo passar de 50 cm, com a coluna distendida, enquanto, Lopes et al. (2019), apontaram variações entre 8,5 e 24 cm, entre os espécimes coletados e analisados em seu estudo.

Apresentam uma coloração externa com dois padrões básicos. No primeiro, os tentáculos externos possuem duas cores, branca leitosa e parda, já no segundo padrão, todos os tentáculos externos apresentam a cor branca leitosa. Em ambos, as pontas dos tentáculos são amarelas (Fig.2). Em relação aos tentáculos labiais, a cor observada, foi sempre a coloração parda (Carlgren et al, 1931). Sua coluna também apresenta certa variação na coloração, onde em alguns casos é marrom e em outros, apresenta nuances esverdeadas (Stampar, 2012).

A respeito do número de tentáculos, Lopes et al. (2019), mostrou certa variação na detecção dos tentáculos marginais entre indivíduos examinados, contabilizando entre 66 a 196 dependendo do espécime avaliado. O número de tentáculos labiais contabilizados também apresentou variações semelhantes, somando entre 54 a 192.

Os pticocistos de *C. brasiliensis*, foram descritos formando arranjos sobrepostos, assemelhando-se a um "tecido" praticamente uniforme com poucos sedimentos, que funciona como uma fita adesiva, para areia ou carapaças de foraminíferos. Formando assim, um tubo membranáceo complexo, com até 1cm de espessura (Stampar et al., 2015), de maneira mais resistente do que a encontrada em outros organismos que compõem sua subclasse.

Essa espécie, pode ser encontrada da zona infralitoral até por volta de 35 m de profundidade. Com uma ocorrência dificilmente espaçada, normalmente são encontrados agrupados e próximos a estruturas artificiais, como atracadouros, naufrágios, etc. Sua distribuição atualmente, está descrita para a costa da região Sul e Sudeste do Brasil e para o Uruguai (Lopes et al., 2019).

Segundo estudos realizados atualmente, essas anêmonas de tubo, são significativamente importantes para diversas outras espécies presentes em sua zona de ocorrência, pois promovem habitats adequados para a sobrevivência e recuperação de

espécies de peixes e invertebrados ameaçadas (Soeth et al., 2019), assim como, atividades de associação interespecíficas (Stampar et al., 2010).

Porém, segundo o Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção (2008), *C. brasiliensis*, figurou entre espécies descritas sob risco de extinção. De acordo com investigações em comunidades bentônicas de recifes de arenito no sul do Brasil, onde essa espécie é encontrada, essa ameaça se dá em função da recorrente pesca de arrasto ocorrida nesses locais. Isso pode ser explicado, pelo fato de que comparado aos recifes rochosos, os recifes de arenito, são menos resilientes a distúrbios ambientais e antropogênicos, permitindo que as redes de arrasto danifiquem essas áreas (Soeth et al., 2019), o que pode acarretar impactos ecológicos e até mesmo econômicos, levando em conta todos os benefícios trazidos pelos mesmos aos habitats onde estão inseridos, como citado acima.

Em relação aos dados transcriptômicos disponíveis para essa espécie, apenas o arsenal tóxico, está atualmente bem descrito (Klompen et al., 2020), o que inclui um conjunto de 169 transcritos candidatos a toxinas, com funções diversas. Logo, em contraponto a sua importância, pesquisas que se dedicam a compreender sua expressão gênica, assim como, informações sobre variações em seu transcriptoma, são ainda insuficientes, o que torna essa investigação de suma importância.

Baseado nesse contexto, o estudo em questão teve como objetivo, apontar os transcritos expressos em um espécime adulto de *Ceriantheomorphe brasiliensis*, obtidos após coleta de tentáculos. Por meio de anotações realizadas com a ferramenta Blast, o transcriptoma foi investigado em busca sequências nucleotídicas e candidatos a proteínas semelhantes a dados já disponíveis para outros metazoários, permitindo dessa forma, ampliar nosso conhecimento acerca da expressão gênica desses organismos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Obtenção do material e coleta do tecido

O material utilizado foi obtido por meio de coleta de tentáculos de um espécime de adulto de *Ceriantheomorphe brasiliensis* encontrado na Praia do Segredo, localizada na cidade de São Sebastião, em São Paulo. Os tentáculos foram coletados após 48 horas de aclimação do espécime em aquário e imediatamente preservados em RNAlater (24

horas), congelados em nitrogênio líquido por 24 horas e mantidos em ultrafreezer -80°C, a fim de evitar alterações e danos nos materiais coletados (Ketchum et al., 2018).

Extração, isolamento e sequenciamento do RNA e montagem do transcriptoma

A extração do RNA foi realizada nos materiais coletados segundo protocolos estabelecidos em estudos prévios desenvolvidos com espécies cnidárias (Kitchen et al., 2015; Leach et al., 2018).

As amostras foram submetidas a lise, seguida por um procedimento de remoção do RNAlater (Ketchum et al., 2018). Após, seguiu-se um novo processo de lise, com subsequente manutenção em gelo durante 1 hora. Posteriormente, a amostra foi submetida à centrifugação por 3 minutos e seu sobrenadante foi coletado. Logo após, álcool 64% foi adicionado ao sobrenadante, misturado e levado à centrífuga por 1 minuto. Tal produto foi submetido 3 vezes a lavagem com solução de água, em cada passo a parcela líquida foi descartada e a mistura centrifugada por 30 segundos. Por último o produto foi centrifugado novamente por 2 minutos com o intuito de secar a amostra e, eluído pela adição de uma alíquota quente (70°C - 80°C), após foi incubado em temperatura ambiente por 4 minutos, e ao fim centrifugado por 30 segundos.

Subsequentemente a esse processo, as concentrações do RNA foram verificadas no NanoDrop 2000 (Thermo Fisher) (Leach et al., 2018).

O isolamento do RNA foi realizado usando um protocolo baseado em clorofórmio e uma combinação do TRIzol RNA isolation e RNeasy Mini Kit (Karako-Lampert et al., 2014; Kitchen et al., 2015). Adicionalmente, foi utilizado o método de alta salinidade para a precipitação do RNA e diminuição de contaminação por proteoglicanos e polissacarídeos. Posteriormente a extração por clorofórmio, a camada aquosa, onde estava contido o RNA, foi misturada a etanol 100% e o produto foi lavado utilizando o RNeasy Mini Kit. O RNA total extraído foi tratado com a enzima DNase usando o TURBO DNA-free Kit para a remoção do DNA genômico (Kitchen et al., 2015).

A poliadenilação do RNA foi realizada por meio do MicroPoly (A) Purist Kit e o RNA foi fragmentado usando cátions divalentes.

O sequenciamento foi realizado em Illumina HiSeq no David H. Murdock Research Institute (DHMRI - Kannapolis, NC), em função da parceria com o Dr. Adam Reitzel (UNC-Charlotte - EUA). O RNA total foi quantificado pelo kit Quant-iT

RiboGreen RNA Assay (Thermo Fisher) e a integridade do RNA avaliada em Agilent Bioanalyzer.

As bibliotecas de sequenciamento foram geradas utilizando o kit Illumina TruSeq RNA Library Prep RNA, segundo protocolos do fabricante assim como, quantificadas por meio de qPCR. As bibliotecas foram combinadas em quantidades equimolares em uma flow cell em um sequenciamento paired-end de 125 bp executado em uma plataforma Illumina HiSeq2500 (segundo descrito em Klompen et al., 2020).

Em seguida, a qualidade do sequenciamento realizado foi determinada por meio do programa FastQC. A montagem do transcriptoma foi desenvolvida no software de montagem Trinity v2.2, utilizando a estratégia de novo e a completude da montagem do transcriptoma foi avaliada usando o programa BUSCO v3.

Anotação do transcriptoma

Os transcritos obtidos foram utilizados com o intuito de verificar, por meio da anotação, possíveis sequências nucleotídicas similares a dados já conhecidos em outros metazoários, assim como, a fim de verificar a ontologia gênica e a anotação funcional de setores do transcriptoma de *C. brasiliensis*. Para tanto, os dados foram anotados de duas maneiras (Tabela 2).

Um setor dos contigs, formado por 820 sequências foram selecionadas, a fim de buscar similaridades com sequências nucleotídicas conhecidas e disponíveis de espécies, para as quais, se tem anotações parciais ou quase completas, como por exemplo, *Drosophila melanogaster*, *Acropora digitifera* e *Nematostella vectensis*. Tal anotação foi realizada por meio da ferramenta comparativa Blastn, onde um valor de corte de 10^{-5} foi aplicado (Pratlong et al., 2015).

Já na segunda abordagem, 2.000 sequências selecionadas foram anotadas em busca de potenciais produtos proteicos codificados na sequência analisada que apresentassem similaridade com proteínas conhecidas de outros organismos. Para tal análise, a ferramenta Blastx foi escolhida seguida do uso de programas como o BLAST2GO (Theissinger et. al., 2016), que detecta a ontologia gênica e realiza a categorização funcional das proteínas reconhecidas (Ashburner *et al.*, 2000), assim como o Generic GO-Slim, que resume os resultados obtidos nas anotações dentro de um reduzido número de categorias funcionais.

Tabela 2. Comparações entre as duas anotações realizadas nesse estudo.

Anotação	Blastn	Blastx
Ponto central	Buscar similaridades com sequências conhecidas	Buscar produtos similares a proteínas conhecidas
Ferramenta utilizada	Plataforma online (GenSAS v6.0)	Software OmicsBox v1.3.11 (https://www.biobam.com/trial/?cn-reloaded=1)
Objetivo	Comparar com outras espécies	Inferir ontologia gênica e categorias funcionais as proteínas
Valor de corte	10^{-5}	10^{-5}
Organismos comparados	Metazoa não vertebrados	Metazoa
Tipo de anotação	Manual	BLAST2GO e Generic GO-Slim
Banco de dados utilizados	Banco de dados de nucleotídeos do NCBI	Banco de dados de proteínas não redundantes do NCBI

RESULTADOS

O número de reads gerados para a espécie *Ceriantheomorphe brasiliensis* por meio do sequenciamento realizado na plataforma Illumina HiSeq foi de 34.877.883. Já a montagem Trinity realizada por meio da estratégia de novo, resultou em um total de 131.550 sequências transcritas, que após tratamento dos dados apresentou tamanhos entre 201 pb a 17.856 pb (Tabela 3) e um N50 de 1.276.

As análises de completude determinadas por meio da ferramenta BUSCO, apontaram um valor de 95.4% para os resultados gerados, apontando boa qualidade e ampla representatividade para os dados. Os resultados das duas anotações produzidas, se encontram descritos abaixo.

Tabela 3. Parâmetros do sequenciamento e montagem do transcriptoma obtidos para *C. brasiliensis*

Número de reads	34.877.883
Número de transcritos	131.550
Comprimento mínimo de sequência (pb)	201
Comprimento máximo de sequência (pb)	17.856
N50	1.276

Anotação dos transcritos obtidos pela ferramenta Blastn

O setor utilizado nessa análise totalizou 820 sequências selecionadas, que formavam 818 contigs. Após anotação, 14.029 transcritos com similaridade total com sequências nucleotídicas conhecidas e já descritas para outros Metazoa não vertebrados foram apontados. Ao todo, 174 espécies distintas apontaram similaridades com os transcritos encontrados em *Ceriantheomorphe brasiliensis*, incluindo espécies de filos distintos, como *Apis melífera*, *Aedes aegypti*, *Biomphalaria glabrata*, *Limulus polyphemus*, *Zootermopsis nevadensis*, entre outras (Tabela 5), assim como, espécies do filo Cnidaria (Tabela 6).

O setor do transcriptoma selecionado para a realização dessa anotação pela ferramenta Blastn (Tabela 4) apontou inclusive, hits com algumas espécies conhecidas por serem organismos modelo, o que as torna por vezes, mais frequentemente utilizadas em investigações transcriptômicas em função do maior número de informações já descritas.

Tabela 4. Caracterização do setor do transcriptoma de *C. brasiliensis* selecionado para a anotação por meio do Blastn

Número de sequências	820
Comprimento mínimo de sequência (pb)	275
Comprimento máximo de sequência (pb)	11.313
Número de transcritos	14.029

Entre os metazoários não vertebrados apontados em nossa análise, em função de possuírem nucleotídeos similares aos transcritos de *Ceriantheomorphe brasiliensis* é possível notar a presença de algumas sequências comuns bastante frequente entre a maioria dos táxos.

Entre elas, podemos citar transcrições reconhecidas como calmodolina, subunidades associadas a proteína G, proteínas de resposta ao estresse, como a Hsp70 que responde ao choque térmico, assim como proteínas e estruturas proteicas que atuam em funções associadas ao esqueleto e a sustentação celular, como actina, miosina, tubulina e microtúbulos (Tabela 5). Uma gama de sequências associadas a processos moleculares, metabólicos ou energéticas e motores são também citadas entre tais táxons, entre os quais,

podemos citar respectivamente proteínas nucleares e subunidades da RNA polímerase II, assim como fatores de transcrição; flavoproteína NADH desidrogenase, assim como variedades de quinases; e por fim variedades de cinesinas e dineínas. Tais similaridades puderam inclusive ser observadas entre os táxons cnidários apontados em nossa anotação (Tabela 6).

Para facilitar a compreensão e disponibilização das informações obtidas em nossa análise, as anotações realizadas por meio da ferramenta Blastn foram resumidas em duas tabelas descritas abaixo. Os táxons não cnidários de filos distintos mais relevantes ou que apresentaram o maior número de hits com os transcritos do cerianto aqui analisado, foram destacados e apresentados na tabela 5, onde é possível saber o número de sequências similares apontadas, assim como exemplos dos nucleotídeos anotados.

O mesmo procedimento foi realizado com cinco espécies do filo Cnidaria, e se encontra descrito na tabela 6. Entre os táxons revelados, foi possível notar além dos nucleotídeos comuns aos demais organismos, a presença de moléculas e proteínas atuando em funções demasiadamente específicas, assim como uma maior variedade estrutural ou relacionada a subunidades distintas entre a maioria dos transcritos reconhecidos.

Como exemplo, podemos citar a presença do complexo AP-1 nas subunidades beta, gama, sigma e um, em *Acropora digitifera* e *Stylophora pistillata* enquanto em táxons não cnidários são encontradas no máximo duas, em raros casos três, destas subunidades por táxon. Já em relação a funções específicas, podemos citar a subunidade SSRP1 do complexo FACT, responsável por atividades moleculares associadas a síntese proteica, que embora também estejam presentes em táxons não cnidários, em nossas análises foi encontrado apenas em *Stylophora pistillata* e *Orbicella faveolata*, outro integrante do filo Cnidaria apontado em nossa anotação.

Tabela 5. Resumo da anotação do transcriptoma de *C. brasiliensis* pela ferramenta Blastn em relação a espécies dos demais filos animais

<i>Caenorhabditis elegans</i>	26 sequências similares aos transcritos encontrados no cerianto. Exemplos: Subunidades de ATP-sintase; ATPase transportadora de cálcio; calmodulina; homólogo da proteína 42 - controladora da divisão celular; proteína 70 de choque térmico; proteína miosina; cinesinas, entre outras.
<i>Drosophila melanogaster</i>	68 sequências similares encontradas em <i>C. brasiliensis</i> . Exemplos: calmodulina; subunidades de proteína G; proteína 70 de resposta ao choque térmico; actina 57B; microtúbulos; subunidades da RNA polimerase II; fatores de processamento de pré-mRNAs, entre outras.
<i>Acanthaster planci</i>	105 nucleotídeos similares aos transcritos encontrados no transcriptoma do cerianto. Além de algumas citadas acima, podemos citar como exemplo: transmembranase; proteína de reconhecimento de sinal; flavoproteína NADH desidrogenase; fator de transcrição de ligação a membrana; cinesina; cinesina de cadeia pesada; ligase glutamina-tRNA; dineína de cadeia longa; quinase ciclina-dependente; proteína de divisão celular; caseína-quinase; miosinas, entre outras.
<i>Amphimedon queenslandica</i>	105 nucleotídeos similares a <i>C. brasiliensis</i> . Além das citadas até o momento, podemos citar exemplos como: enzima conjugadora de ubiquitina; proteína de manutenção estrutural do cromossomo; metionina-sintase; desidrogenase glutaril-CoA; homólogo da proteína 42 de controle de divisão celular; subunidade de ATP-sintase, entre outras.
<i>Octopus bimaculoides</i>	147 sequências similares entre os transcritos encontrados em <i>C. brasiliensis</i> . Além das citadas, podemos citar como exemplo: fator iniciador de transcrição; proteína 70 de resposta ao estresse; fator de transcrição nuclear; neo-calmodulina; miosina de cadeia pesada; proteína 71 de resposta ao choque térmico, entre outras.
<i>Centruroides sculpturatus</i>	220 nucleotídeos similares a <i>C. brasiliensis</i> . Além das citadas, podemos citar: UDP glucose: glicoproteína glicosiltransferase; ligase tirosina-tRNA; tubulina; proteína nuclear 58; metionina-aminopeptidase; proteína G alfa; ATP-sintase, entre outras.

Tabela 6. Resumo da anotação do transcriptoma de *C. brasiliensis* pela ferramenta Blastn obtida para espécies do filo Cnidaria

<i>Hydra vulgaris</i>	Integrante de Medusozoa, 219 sequências similares apontadas. Exemplos: desidrogenase Acyl-CoA específica de cadeia longa; UDP glucose: glicoproteína glicosiltransferase; enzima conjugadora de ubiquitina; ligase tirosina-tRNA; tubulina; transmembranase; subunidade de flavoproteína succinato-desidrogenase; proteína de manutenção estrutural do cromossomo; proteína 70 de resposta ao choque térmico; proteína de reconhecimento de sinal; homólogo de proteína de processamento do rRNA; subunidades de fatores de transcrição nuclear; sensor neuronal de cálcio; flavoproteína NADH desidrogenase; miosina; metionina-aminopeptidase; fatores de transcrição de ligação a membrana; glicina desidrogenase; proteína receptora de ácido gama-aminobutírico; receptor de fatores de crescimento; quinase extracelular reguladora de sinal; dineína de cadeia pesada; quinase ciclina-dependente; fatores específicos de clivagem e poliadenilação; proteína homóloga - controle de divisão celular; calmodulina; ATP-sintase; actina.
<i>Acropora digitifera</i>	458 sequências similares encontradas, este integrante de Scleractinia, apresentou nucleotídeos dentro os já apontados acima. Assim como: Acyl-CoA sintase; adenilato-ciclase; proteína carreadora de ADP e ATP; DNA e RNA ATP-dependente; caseína quinase; criptocromo; modulador de sinal de proteína G; proteína 71 de resposta ao choque térmico; proteína do canal de potássio dependente de voltagem; homólogo do fator 40 de processamento do pré-mRNA; regulador de sinalização da proteína G; proteína 70 de resposta ao estresse; proteína tirosina-quinase.
<i>Exaiptasia pallida</i>	470 sequências similares a <i>C. brasiliensis</i>. Este integrante da ordem Actiniaria, apresentou além dos exemplos citados acima, nucleotídeos como: proteína beta-secretase; proteína cactina; proteína de reparo do DNA; DNA topoisomerase; transportador de trocas iônicas; proteína 75 de resposta ao choque térmico; proteínas homólogas de transporte; transportador de magnésio; proteína mecano-sensora; receptor neuronal de acetilcolina, entre outras.
<i>Nematostella vectensis</i>	557 sequências similares aos transcritos de <i>C. brasiliensis</i>. Também actiniário, se destacou entre os mais relevantes em termos de similaridade, no entanto, não foi possível apontar detalhes sobre os nucleotídeos semelhantes..
<i>Stylophora pistillata</i>	Integrante de Scleractinia que apontou número mais significativo de sequências similares ao cerianto, somando 533 nucleotídeos. Como nos demais, além dos já citados podemos ainda destacar: subunidades de proteína do complexo AP-1, AP-2 e AP-3; proteína contendo bromo-domínio; homólogo da proteína 27 de divisão celular; proteína COX11 de montagem da citocromo oxidase; proteína arginina N-metiltransferase; fator de transcrição T-box, entre outras.

Sendo assim, os resultados dessa análise apontaram para uma série de setores similares aos já descritos em outros metazoários, e por meio da anotação dos transcritos foi possível identificar funções ainda descritas em anêmonas de tubo, auxiliando a decifrar a nível molecular, as prováveis moléculas associadas a atividades observáveis, mas ainda pouco compreendidas.

De fato, o aprofundamento das pesquisas transcriptômicas com a subclasse *Ceriantharia*, assim como de análises nos dados encontrados nessa investigação, são ainda necessários, a fim de corroborar tais achados com informações procedentes. No entanto, tais resultados lançam luz a uma gama de informações até então pouco descritas. A vasta quantidade de dados encontrada em apenas um setor de transcritos de *C. brasiliensis*, dá margem a uma série de novos questionamentos a respeito das anêmonas de tubo e podem vir a alavancar variadas futuras investigações.

Anotação dos transcritos obtidos pela ferramenta Blastx

O setor utilizado nessa análise, incluiu 2.000 nucleotídeos investigados, que resultaram em 381 candidatos a proteínas identificadas e descritas em Metazoa, por meio de consultas realizadas no banco de dados de proteínas não-redundantes do NCBI.

Como o intuito desta análise é a categorização funcional dos candidatos a proteínas de *Ceriantheomorphe brasiliensis*, os resultados foram analisados pelo Blast2GO e resumidos pelo Generic GO – Slim, que dividiu as 381 proteínas de acordo com suas três categorias funcionais, “componentes celulares”, “funções moleculares” e “processos biológicos”.

O conjunto de dados resultante, contabilizou 340 sequências identificadas com similaridades com proteínas disponíveis em bancos de dados. As 41 sequências restantes foram identificadas como proteínas, porém sem que pudessem ser caracterizadas. Segundo as análises realizadas, a categoria mais representada em nosso selecionado conjunto de dados foi a categoria “funções moleculares” (37%), seguida pela categoria “componentes celulares” (33%), e em último lugar, mas também bem representada, a categoria “processos biológicos” (30%).

A categoria “componentes celulares”, encontrou proteínas associadas a funções relacionadas aos seguintes termos do Gene Ontology: organelas, membrana, citosol, anatomia celular, citoplasma, periferia celular, entre outras (ver Figura 9), sendo que para cada um dos termos, diversas sequências foram apontadas como associadas a tais funções.

Entre estes, o termo “entidade anatômica celular”, foi o mais representado, com 66 sequências associadas a essa função, seguido respectivamente pelos termos intracelular (46,5%), citoplasma (36%) e organela (28%). Entre os menos representados, podemos citar respectivamente dois termos associados a proteínas relacionadas a membrana – membrana e plasma da membrana – e o termo “periferia celular”, com 13 sequências associadas a ele (Tabela 7).

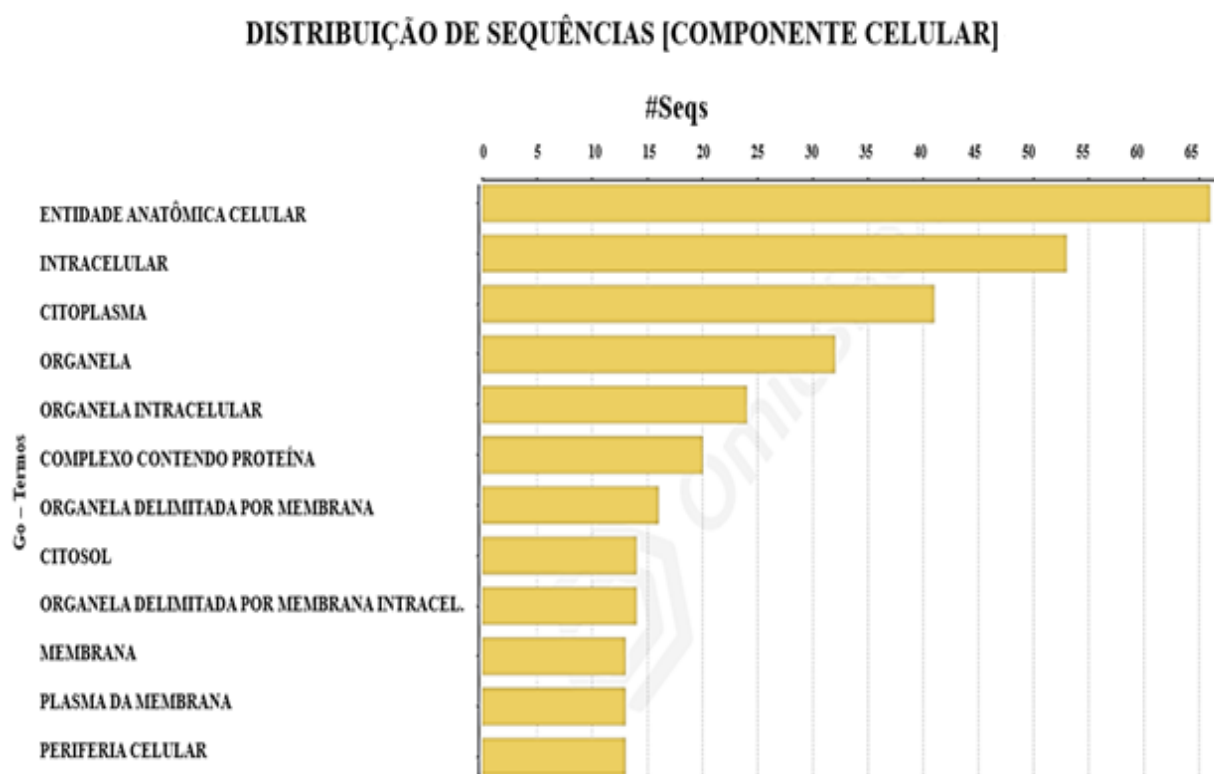


Figura 9. Distribuição de funções das proteínas encontradas em *C. brasiliensis* associadas a categoria “componentes celulares” do Generic GO – Slim.

Os resultados dessa análise foram ainda resumidos em uma tabela que detalha cada um dos termos associados as funções desta categoria, mostrando as porcentagens de proteínas associadas a cada um, assim como alguns exemplos de proteínas que foram classificadas a atividades relacionadas a categoria “componentes celulares”.

Ao todo, entre as 340 proteínas encontradas, um total de 114 foram agrupadas em seus termos, o que representa aproximadamente 33% do total de proteínas (Tabela 7). É importante salientar que o número absoluto do percentual de cada um dos termos entre as três categorias, não terá a somatória de 100%, pois algumas proteínas foram agrupadas em mais de uma categoria funcional, como por exemplo o receptor de ácido gama-

aminobutírico (GABA) tipo B e o receptor de neuropeptídeo F, associados concomitantemente as categorias “componentes celulares” e “funções moleculares”. Ademais, os exemplos de proteínas citadas, não estão necessariamente associadas aos termos descritos ao lado, são apenas uma apresentação de resultados descritos de forma aleatória em nossas tabelas (o mesmo se aplica as tabelas 8 e 9, descritas abaixo).

Tabela 7. Análise dos termos obtidos na categoria “componentes celulares”.

Categoria "Componentes celulares"			
Termo GO	Nº de sequências	Porcentagem (%)	Exemplo
Intracelular	53	46.5	Espondina;
Entidade anatômica celular	66	57.9	Retinol desidrogenase;
Complexo contendo proteína	20	17.5	Receptor de ácido gama-aminobutírico tipo B;
Organela	32	28	Receptor beta-2 adrenérgico;
Citoplasma	41	36	Proteína tirosina fosfatase;
Membrana	13	11	Proteína transmembrana 187;
Periferia celular	13	11	Transportador vesicular de glutamato;
Organela intracelular	24	21	Receptor de dopamina
Organela delimitada por membrana	16	14	
Citosol	14	12	
Plasma da membrana	13	11	
Organela delimitada por membrana intracelular	14	12	
Total de sequências associadas a categoria		114	

A categoria “funções moleculares”, encontrou proteínas associadas aos termos de Gene Ontology, ligação iônica, ligação ao ácido nucleico, ligação a composto heterocíclico, ligação e atividade de pirofosfatase, entre outros (ver Figura 10). Aqui, o termo mais representado, foi “atividade catalítica”, para o qual 43 sequências proteicas foram associadas, seguido respectivamente pelos termos ligação (n = 41), ligação iônica (n = 24) e atividade de hidrolase (n = 22).

Já os demais termos dessa categoria apresentaram um empate, contabilizando menos proteínas. Como exemplo, desses casos, podemos citar alguns termos com funções mais específicas, como “ligação de composto orgânico cíclico” e “atividade de hidrolase, agindo sobre anidridos ácidos”, com 12 sequências associadas, e uma porcentagem de ocorrência de apenas 10% cada (Tabela 8).

DISTRIBUIÇÃO DE SEQUÊNCIAS [FUNÇÃO MOLECULAR]

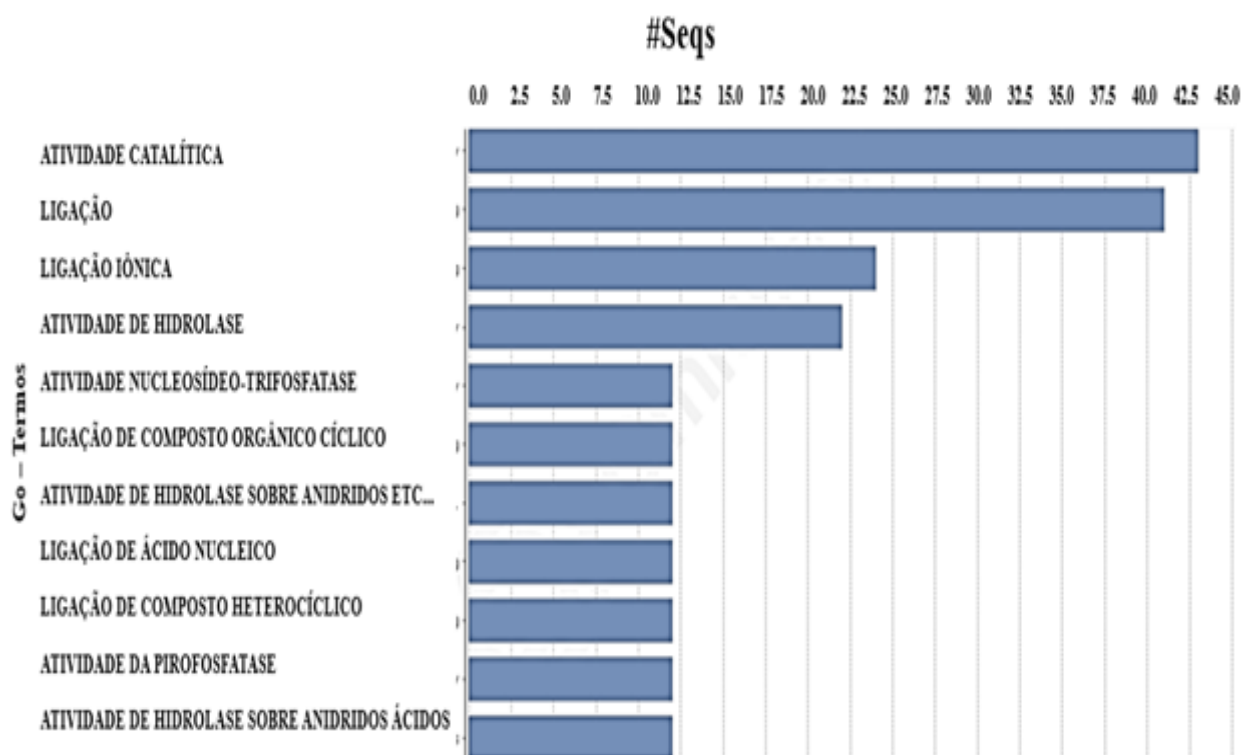


Figura 10. Distribuição de funções das proteínas encontradas em *C. brasiliensis* associadas a categoria “funções moleculares” do Generic GO – Slim.

O total de proteínas associados a funções moleculares entre o nosso conjunto de dados, foi de 125, o que representa aproximadamente 37% do percentual total. Mais uma vez, os resultados dessa análise foram resumidos em uma tabela disposta abaixo (Tabela 8), que detalha cada um dos termos associados a categoria “funções moleculares” mostrando o percentual de proteínas associadas a cada caso, assim como exemplos de proteínas descritas.

Tabela 8. Análise dos termos obtidos na categoria “funções moleculares”.

Categoria "Funções moleculares"			
Termo GO	Nº de sequências	%	Exemplo
Atividade catalítica	43	34	Proteína de biossíntese de fosfatidilinositol-glicano;
Ligação	41	33	
Ligação iônica	24	19	Proteína de domínio Ras e EF;
Atividade de hidrolase	22	18	
Atividade nucleosídeo-trifosfatase	12	10	Receptor GRL acoplado a proteína G;
Ligação a composto orgânico cíclico	12	10	
Hidrolase agindo sobre anidridos ácidos contendo fósforo	12	10	Proteína ubiquitina;
Ligação de ácido nucleico	12	10	
Ligação de composto heterocíclico	12	10	Receptor nuclear (Grupo F, subfamília 2)
Atividade da pirofosfatase	12	10	
Hidrolase sobre anidridos ácidos	12	10	
Total de sequências associadas a categoria		125	

Por fim, a categoria “processos biológicos”, encontrou potenciais proteínas associadas a termos de Gene Ontology como comunicação celular, processos de modificação de proteínas, processos metabólicos, entre outros (ver Figura 11). O termo mais representado foi “processos celulares”, apresentando a maior diferença entre todas as categorias em comparação com os demais termos atribuídos, para o qual 74 sequências foram associadas, a seguir, entre os termos mais bem pontuados podemos citar funções associadas a processos metabólicos (47%), a atividades de regulação (20%), a resposta a estímulos (19%), a sinalização (17%), a comunicação celular (17%) e a processos biossintéticos (17%) (Tabela 9).

Entre os menos representados, estão descritos termos mais específicos como “metabolismo de compostos orgânicos cíclicos, heterocíclicos e de compostos contendo nucleobase”, assim como “processos metabólicos de DNA e de ácido nucleico”, todos apresentando 12 sequências associadas a cada função e contabilizando 11% de ocorrência (Figura 11).

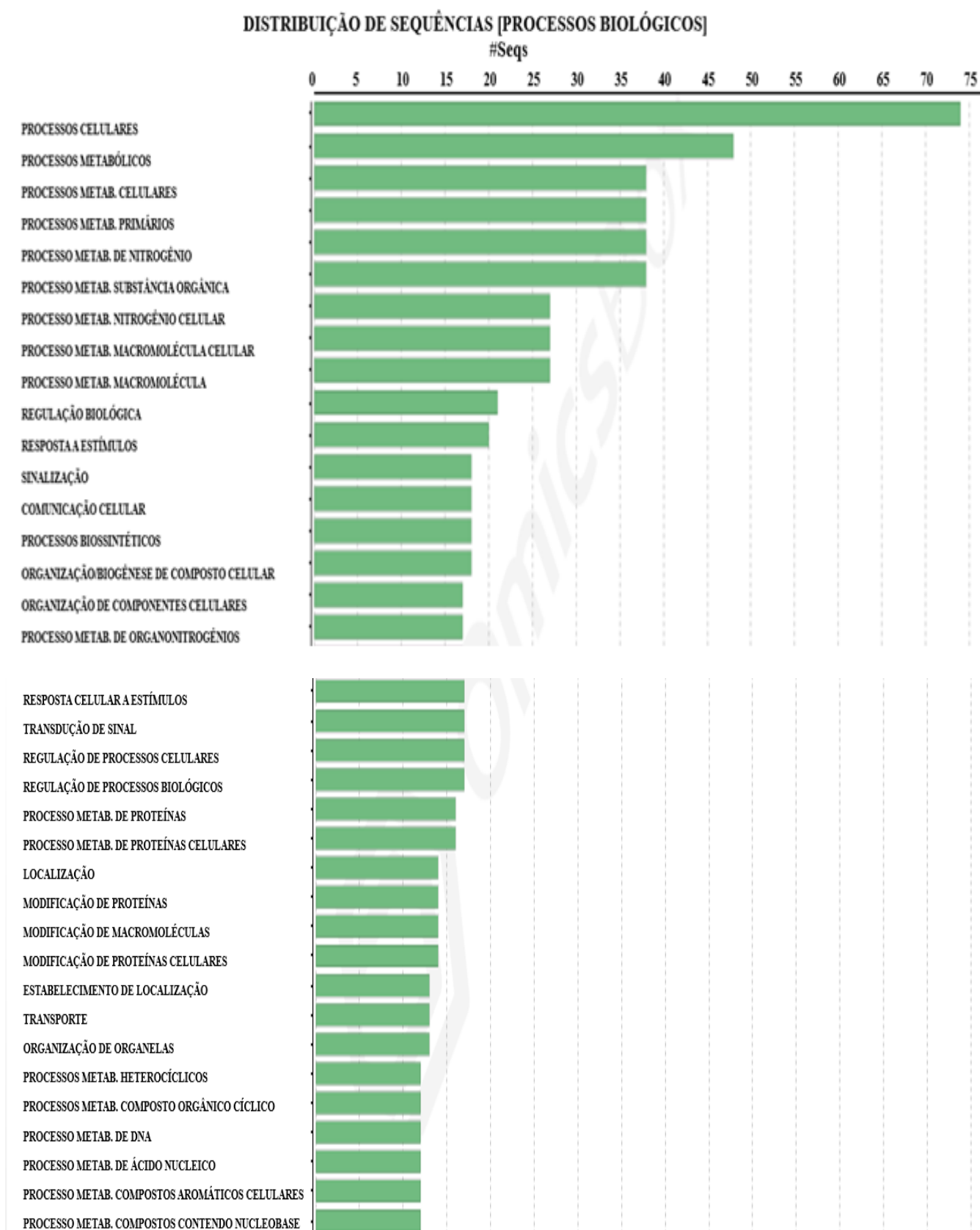


Figura 11. Distribuição de funções das proteínas encontradas em *C. brasiliensis* associadas a categoria “processos biológicos” do Generic GO – Slim.

O total de proteínas associados a categoria “processos biológicos” em nosso conjunto de dados foi de 102 sequências, o que representa aproximadamente 30% do percentual total. Assim como os demais, os resultados dessa análise foram também resumidos na tabela disposta abaixo (Tabela 9), que detalha cada um dos termos associados a categoria “processos biológicos” mostrando as porcentagens de proteínas associadas a cada um, assim como exemplos encontrados e classificados em seus termos.

Tabela 9. Análise dos termos obtidos na categoria “processos biológicos”.

Categoria "Processos biológicos"			
Termo GO	Nº de sequências	%	Exemplo
Processos celulares	74	72	
Processos metabólicos	48	47	
Processos metabólicos celulares	38	37	
Processos metabólicos primários	38	37	Ribonuclease P/MRP;
Processo metabólico de nitrogênio	38	37	Proteína dineína;
Metabolismo de sustância orgânica	38	37	Glutamato cisteína ligase – subunidade catalítica;
Metabolismo de nitrogênio celular	27	26	Proteína calretinin;
Metabolismo de macromolécula celular	27	26	Proteína PPIC isomerase;
Metabolismo de macromolécula	27	26	RNA helicase (TDRD9) ATP-dependente;
Regulação biológica	21	20	
Resposta a estímulos	20	19	Proteína DNAJ homóloga, subfamília C
Sinalização	18	17	
Comunicação celular	18	17	Trifosfatase 7,8-dihidro-8-oxoguanina;
Processos biossintéticos	18	17	
Organização/Biogênese de composto celular	18	17	RNA polimerase II;
Organização de componentes celulares	17	16	
Metabolismo de organonitrogênios	17	16	
Resposta celular a estímulos	17	16	
Transdução de sinal	17	16	
Regulação de processos celulares	17	16	
Regulação de processos biológicos	17	16	
Metabolismo de proteínas	16	15	

Metabolismo de proteínas celulares	16	15	Subunidade beta da hexosaminidase; Proteína homeobox Hox-A4; Proteína quinase GCN2; Proteína ABHD17B; Enzima conjugadora de Ubiquitina E2; Receptores acoplados a proteína G (GRL101); N-acetilglucosamina-fosfatidilinositol de-N-acetilação;
Localização	14	13	
Modificação de proteínas	14	13	
Modificação de macromoléculas	14	13	
Modificação de proteínas celulares	14	13	
Estabelecimento de localização	13	12	
Transporte	13	12	
Organização de organelas	13	12	
Processos metabólicos heterocíclicos	12	11	
Metabolismo de composto orgânico cíclico	12	11	
Processo metabólico de DNA	12	11	
Metabolismo de ácido nucleico	12	11	
Metabolismo de compostos celulares aromáticos	12	11	
Metabolismo de compostos contendo nucleobase	12	11	
Total de sequências associadas a categoria			102

Baseado nos resultados apontados acima, o conjunto de dados disponibilizados por meio da anotação dos setores aqui analisados, contribui para ampliar o conhecimento disponível acerca da expressão gênica de espécimes adultos de *Ceriantheomorphe brasiliensis*, assim como para impulsionar nossa compreensão a respeito da síntese proteica encontrada nesses animais.

DISCUSSÃO

A subclasse Ceriantharia figurou por anos entre os grupos cnidários que despertavam pouco interesse entre pesquisadores (Stampar, 2012), em parte por terem passado anos agrupados a subclasse Hexacorallia, que apresenta organismos modelo mais facilmente obtidos (Reitzel et al., 2013), e em parte pela dificuldade de obtenção de espécimes bentônicos em coletas. Como esses organismos estão localizados muitas vezes em regiões rasas, exigem um grande investimento de tempo para a retirada de sedimentos que antecede a obtenção de exemplares (Stampar, 2012).

Fato é, que embora os estudos realizados com ceriantos, tenham sido recentemente retomados, muitos aspectos ainda carecem de investigações, o que inclui a exploração de dados transcriptômicos.

Segundo os resultados obtidos, na análise em questão, por meio do sequenciamento do transcriptoma de amostras de tentáculos de um espécime adulto de *Ceriantheomorphe brasiliensis*, foi possível apontar 131.550 sequências transcritas após montagem do material coletado. Tais valores se aproximam de resultados disponibilizados para espécies antozoárias como o zoantídeo *Palythoa variabilis* que obteve 126.441 transcrições após filtragem e montagem de seus dados (Huang et al., 2016), assim como de valores calculados para os demais ceriantos para os quais já se tem informações transcriptômicas disponíveis na literatura. Por meio de suas análises, Klompen e colaboradores (2020), apontaram entre 92.757 a 179.576 transcritos para esses organismos.

Em relação aos tamanhos dos transcritos obtidos após filtragem e subsequente montagem do material, foram detectados tamanhos entre 201 pb a 17.856 pb, e um N50 de 1.276. O que mais uma vez, se mostra congruente com dados já disponibilizados para outros organismos de cnidaria, como *Exaiptasia pallida* (tamanhos dos contigs após filtragem e montagem entre 200 a 13.061 pb e N50 de 1.185 pb, Lehnert et al., 2012), *Fungia scutaria*, *Montastraea cavernosa*, *Seriatopora hystrix* e *Anthopleura elegantissima* (comprimentos de 1.1 a 1.7 kb e e N50 variando de 1.4 a 2.7 kb, Kitchen et al. 2015). Em relação aos dados já conhecidos até o presente momento para os ceriantos acerca do N50, valores entre 1.101 a 1.282 pb são conhecidos (Klompen et al., 2020), tendo sido mais uma vez correspondentes ao valor encontrado em nossos dados.

Por meio da anotação do transcriptoma de *C. brasiliensis* por meio da ferramenta Blastn, o setor de 820 contigs recuperado revelou 14.029 transcritos que apresentaram similaridade total com sequências nucleotídicas conhecidas e já descritas para outras 174 espécies distintas de Metazoa não vertebrados. Já a anotação pela ferramenta Blastx, revelou entre as 2.000 sequências analisadas a presença de 381 candidatos a proteínas reconhecidas e já descritas em Metazoa, por meio de consultas realizadas no banco de dados de proteínas não-redundantes do NCBI.

Em relação aos transcritos anotados por meio do Blastn, foi possível observar a presença de alguns genes previstos se apresentando de maneira conservada entre linhagens metazoárias mais distantes, como por exemplo, entre organismos não pertencentes ao filo Cnidaria. Entre eles, podemos citar transcrições associadas a funções

citoplasmáticas e citoesqueléticas como as actinas, miosinas, tubilinas, e até mesmo subunidades de microtúbulos. Ademais, foram apontados homólogos de proteínas que controlam a divisão celular e a que participam da manutenção estrutural dos cromossomos.

Outras importantes conservações entre tais táxons incluíram a presença de homólogos da calmodulina, proteína responsável por mediar e controlar a atuação de um elevado número de enzimas, canais iônicos entre outras proteínas por meio de íons Ca^{2+} (Matthews et al., 2015), presente em quase todos os 174 táxons apontados, incluindo organismos como *Drosophila melanogaster*, *Caenorhabditis elegans*, *Amphimenodon queenslandica*, *Centruroides sculpuratus*, *Octopus bimaculoides*, além de organismos cnidários como *Hydra vulgaris* e *Acropora digitifera*.

Podemos citar ainda, nesse mesmo contexto, conservações de subunidades da proteína G. Por serem moléculas que atuam na modulação e na transdução de sinais são de grande interesse para pesquisadores que atuam em diversos campos, sendo, portanto, já bem descritas para alguns dos organismos citados acima (por exemplo, *Drosophila melanogaster*, ver Matthews et al., 2015) assim como para espécies cnidárias como *Nematostella vectensis* (Hendricks et al., 2012).

Proteínas de resposta ao estresse, como a Hsp70, que responde ao estresse por choque térmico (Kenkel et al. 2013; Del Rio et al., 2015), também estiveram bastante presentes entre táxons de linhagens distintas que apresentaram similaridades em nossa análise. Outra proteína de resposta ao estresse que foi apontada em nossos dados, foi a Hsp71, no entanto, esta foi quase que exclusivamente apontada como similar entre táxons metazoários aquáticos, não entando, portanto tão presente como a Hsp70. Por fim, pudemos notar ainda conservações em nucleotídeos associados atividades moleculares, como fatores de transcrição, subunidades da RNA polimerase II e fatores de processamento de pré-mRNAs, assim como sequências associadas a atividades metabólicas/energéticas como uma variedade de quinases, ATP sintase e ATPases transportadoras de íons, como o cálcio por exemplo.

Em relação a linhagens filogeneticamente mais próximas, ou seja, entre as espécies cnidárias apontadas como similares aos transcritos anotados de *C. brasiliensis* pudemos notar, além de um elevado número de sequências apontadas como similares para cada um dos táxons – valores entre 219 a 557 nucleotídeos semelhantes – a presença de transcritos associados a funções mais detalhadas, como já citado, assim como genes ou proteínas exclusivamente apontadas entre cnidários em nossa anotação.

Como exemplos podemos citar, proteínas de resposta ao choque térmico, como a Hsp75, descrita em nossos dados exclusivamente para *Exaiptasia pallida*, assim como o colágeno alfa (II), apontado para o cerianto e apresentando semelhanças exclusivamente com nucleotídeos conhecidos em *Stylophora pistillata* e *Orbicella faveolata*. Segundo a literatura, o colágeno é um importante componente da matriz orgânica esquelética de alguns táxons antozoários (Takeuchi et al., 2016; Lin 2017), assim como, apresenta estruturas distintas que podem inclusive ser encontradas conservados entre os táxons animais, auxiliando na formação de tecidos e consequentemente no desenvolvimento da multicelularidade (Fidler et al., 2014). No entanto, em nossa análise, o colágeno encontrado foi apontado como similar somente ao das espécies cnidárias citadas.

Já em relação aos candidatos a proteínas identificados por meio de nossa análise Blastx, podemos citar papéis biológicos do Gene Ontology amplamente relacionadas a manutenção desses organismos entre os transcritos avaliados.

Como exemplo, podemos citar componentes celulares que atuam em processos relacionados a divisão celular, como a tubulina (cadeia delta), a processos associados a sustentação e a estruturação (Karako-Lampert et al., 2014) como a proteína Abitram (“Simiate”); moléculas e peptídeos associados a transdução de sinais (Shikina et al., 2020) como a proteína G (Hendricks et al., 2012), assim como receptores de dopamina e GABA (Ácido gama-aminobutírico) (Levy et al., 2019); bem como, candidatos a proteínas identificados para *C. brasiliensis*, relacionados a importantes processos biológicos celulares, como o controle de canais iônicos realizado por meio de proteínas responsáveis por canais de potássio, cálcio e de cátions dependentes de voltagem. Vários dos quais, já haviam sido descritos para espécies cnidárias.

Além de terem sido encontradas ainda, proteínas que já haviam sido apontadas durante a análise Blastn, como por exemplo enzimas conjugadoras de ubiquitina, subunidades da RNA polimerase II, proteínas transmembrana, dineína, proteínas de resposta ao estresse, entre outras.

Baseado nos resultados aqui apresentados, é possível verificar uma grande quantidade de transcritos conservados em *C. brasiliensis*, algo já esperado, especialmente acerca de aspectos do funcionamento global do organismo, como vários dos exemplos citados acima.

Segundo pesquisas realizadas anteriormente (Hendricks et al., 2012; Reitzel et al., 2013), a conservação de sequências associadas a papéis biológicos que envolvem características gerais dos organismos e funções vitais essenciais, são esperadas em

metazoários. Onde, genes envolvidos em vias metabólicas, assim como complexos de proteínas compartilhados entre os filos animais, apontam 91–100% de conservação, dependendo do domínio ou do complexo em questão (Meyer et al., 2009).

Tal conservação, foi corroborada ainda por meio investigações baseadas em espécies cnidárias. Como exemplo, podemos citar a estimativa obtida para a similaridade de dados encontrados em *Acropora digitifera* frente a dados genômicos e transcriptômicos de outros metazoários. Segundo pesquisas realizadas por Shinzato e colaboradores (2011), aproximadamente 93% dos genes desse antozoário apresentam correspondências com outros metazoários. O que não se restringe a espécies de Scleractinia. Por meio de investigações desenvolvidas no actinário *Nematostella vectensis*, Babonis e colaboradores (2016) identificaram entre os transcritos descritos uma ocorrência de 60% de ortólogos com sequências de Metazoa.

Essas comparações foram ainda realizadas entre espécies antozoárias por meio de uma série de estudos (Grasso et al., 2008; Meyer et al., 2009; Sabourault et al., 2009; Polato et al., 2011; Stefanik et al., 2014). Tais resultados apontam um perfil de transcritos com um significativo compartilhamento entre organismos da ordem Actiniaria (Karako-Lampert et al., 2014) mostrando diversos domínios aparentemente conservados, assim como da ordem Scleractinia (Voolstra et al., 2017), em especial envolvendo o uso das espécies de Anthozoa consideradas modelos em estudos transcriptômicos.

Com isso é possível concluir que assim como era esperado, Ceriantharia apresenta conservações relacionadas principalmente a transcritos associados a processos de manutenção e funcionamento global, tanto com organismos do filo Cnidaria como com outros metazoários.

No entanto, aprofundar tais investigações, fornecendo um perfil mais detalhado das informações compartilhadas entre antozoários, é de vital importância, podendo inclusive servir para elucidar particularidades de certas funções e processos biológicos – como, atividades metabólicas, rítmicas, comportamentais, respostas ao estresse, entre outras – ainda pouco investigadas nessa subclasse.

REFERÊNCIAS

- ASHBURNER, M.; BALL, C. A.; BLAKE, J. A. *et al.* **Gene Ontology: tool for the unification of biology.** 2000. *Nature Genetics*, 25, 25–29.
- BABONIS L. S.; MARTINDALE, M. Q.; RYAN, J. F. **Do novel genes drive morphological novelty? An investigation of the nematosomes in the sea anemone *Nematostella vectensis*.** 2016. *BMC Evolut Biology*, 16: 114, 22 p.
- CARLGREN, O. **Ceriantharia.** 1912. *The Danish Ingolf-Expedition*, 1, 3, 1-78.
- CARLGREN, O. **On some Ceriantharia.** 1931. *Ark. F. Zool.*, 23A, 2, 1-10.
- CHANG, E. S. *et al.* **Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria.** 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 48, 14912-14917.
- DEL RIO, A. **The evolution of heat shock protein 70 in sea anemones.** 2015. Honors Thesis. Department of Evolution, Ecology, and Organismal Biology. The Ohio State University. Disponível em: <http://hdl.handle.net/1811/68890>.
- DEN HARTOG, J. C. **Descriptions of two new Ceriantharia from the Caribbean region, *Pachycerianthus curacaoensis* n. sp. and *Arachnanthus nocturnus* n. sp., with a discussion of the cnidom and of the classification of the Ceriantharia.** 1977. *Zoologische Mededelingen*, 51, 211-248.
- FIDLER, A. L.; VANACORE, R. M.; CHETYRKIN, S. V. *et al.* **A unique covalent bond in basement membrane is a primordial innovation for tissue evolution.** 2014. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 111:1, 331-336.
- GRASSO, L. C.; MAINDONALD, J.; RUDD, S. *et al.* **Microarray analysis identifies candidate genes for key roles in coral development.** 2008. *BMC Genomics*, 9, 540. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-540>.
- HENDRICKS, W. D.; BYRUM, C. A.; MEYER-BERNSTEIN, E. L. **Characterization of circadian behavior in the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis*.** 2012. *PLoS One* 7: e46843.
- HERTWIG, R. **Report on the Actiniaria dredged by HMS Challenger during the years 1873–1876. 1882.** *Reports Scientific Results Voyager 'Challenger' 1880–1895.* *Zoology*, 6, 1, 1-136.
- HUANG, C.; MORLIGHEM, J. R.; ZHOU, H. *et al.* **The Transcriptome of the Zoanthid *Protopalythoa variabilis* (Cnidaria, Anthozoa) predicts a Basal**

- Repertoire of Toxin-like and Venom-Auxiliary Polypeptides.** 2016. *Genome Biol Evol.*, 8:9, 3045-3064.
- KARAKO-LAMPERT, S.; ZOCCOLA, D.; SALMON-DIVON, M.; KATZENELLENBOGEN, M.; TAMBUTTÉ, S. *et al.* **Transcriptome analysis of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*.** 2014. *PLoS One*, 9:2, e88615.
- KAYAL, E.; BENTLAGE, B.; COLLINS, A. G.; KAYAL, M.; PIRRO, S. **Evolution of linear mitochondrial genomes in medusozoan cnidarians.** 2011. *Genome Biol Evol*, 4, 1-12.
- KENKEL, C.D.; MEYER, E.; MATZ, M.V. **Gene expression under chronic heat stress in populations of the mustard hill coral (*Porites astreoides*) from different thermal environments.** 2013. *Mol Ecol*, 22, 4322-4334. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/mec.12390>.
- KETCHUM, R. N.; SMITH, E. G.; VAUGHAN, G. O.; PHIPPEN, B. L.; MCPARLAND, D.; AL MANSOORI, N. *et al.* **DNA extraction method plays a significant role when defining bacterial community composition in the marine invertebrate *Echinometra mathaei*.** 2018. *Front in Mar Science*, 5, 255.
- KITCHEN, S. A.; CROWDER, C. M.; POOLE, A. Z.; WEIS, V.M.; MEYER, E. **De novo assembly and characterization of four anthozoan (Phylum Cnidaria) transcriptomes.** 2015. *G3: Genes, genomes, genetics*, g3-115.
- KLOMPEN, A. L.; MACRANDER, J.; REITZEL, A.M.; STAMPAR, S.N. **Transcriptomic Analysis of Four Cerianthid (Cnidaria, Ceriantharia) Venoms.** 2020. *Mar Drugs*, 18, 8: E413.
- LEACH, W. B.; MACRANDER, J.; PERES, R.; REITZEL, A. M. **Transcriptome-wide analysis of differential gene expression in response to light: dark cycles in a model cnidarian.** 2018. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics*, 26, 40-49.
- LEHNERT, E. M.; BURRIESCI, M. S.; PRINGLE, J. R. **Developing the anemone *Aiptasia* as a tractable model for cnidarian-dinoflagellate symbiosis: the transcriptome of aposymbiotic *A. pallida*.** 2012. *BMC Genomics*, 13: 271.
- LELOUP, E. **Larves de Cerianthaires.** 1964. *Discovery Reports*, 33, 251-307.
- LEVY, S.; BREKHMANN, V.; BAKHMANN, A.; SEBÉ-PEDRÓS, A.; KOSLOFF, M.; LOTAN, T. **Signaling via GABAB receptors regulates early development and neurogenesis in the basal metazoan *Nematostella vectensis*.** 2019. *bioRxiv* 621060. DOI: <https://doi.org/10.1101/621060>.

- LIAO, Q.; GONG, G.; SIU, S. I. *et al.* **A Novel ShK-Like Toxic Peptide from the Transcriptome of the Cnidarian *Palythoa caribaeorum* Displays Neuroprotection and Cardioprotection in Zebrafish.** 2018. *Toxins*, 10, 6: 238.
- LIN *et al.* **Corallimorpharians are not “naked corals”: insights into relationships between Scleractinia and Corallimorpharia from phylogenomic analyses.** 2016. *PeerJ*, 4:e2463. DOI: 10.7717/peerj.2463.
- LOPES, S. S. **Revisão taxonômica do gênero *Ceriantheomorphe* (Cnidaria; Anthozoa; Ceriantharia) no Oceano Atlântico Ocidental.** 2019. 58 p. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), 2019.
- MACHADO, A. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Invertebrados aquáticos: a situação de ameaça dos invertebrados aquáticos no Brasil.** 2008. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Brasília (DF): MMA; Belo Horizonte (MG): Fundação Biodiversitas, p. 19.
- MARISCAL, R. N.; CONKLIN, E. J.; BIGGER, C. H. **The Ptychocyst, a major new category of cnida used in tube construction by a Cerianthid anemone.** 1977. *Biological Bulletin*, 152, 392-405.
- MATTHEWS, B. B.; SANTOS, G.; CROSBY, M. A.; EMMERT, D. B.; ST. PIERRE, S. E.; GRAMATES, L. S. *et al.* and the FlyBase Consortium. **Gene Model Annotations for *Drosophila melanogaster*: Impact of High-Throughput Data.** 2015. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 5, 8: 1721-1736; Disponível em: <https://doi.org/10.1534/g3.115.018929>.
- MEYER, E.; AGLYAMOVA, G. V.; WANG, S. *et al.* **Sequencing and de novo analysis of a coral larval transcriptome using 454 GSFlx.** 2009. *BMC Genom*, 10: 219.
- PRATLONG, M.; HAGUENAUER, A.; CHABROL, O.; KLOPP, C.; PONTAROTTI, P.; AURELLE, D. **The red coral (*Corallium rubrum*) transcriptome: a new resource for population genetics and local adaptation studies.** 2015. *Molecular ecology resources*, 15, 5, 1205-1215.
- POLATO, N. R.; VERA, J.C.; BAUMS, I. B. **Gene Discovery in the Threatened Elkhorn Coral: 454 sequencing of the *Acropora palmata* Transcriptome.** 2011. *PLoS ONE*, 6, 12: e28634. DOI:10.1371/journal.pone.0028634.
- REITZEL, A. M.; TARRANT, A. M.; LEVY, O. **Circadian clocks in the cnidaria: environmental entrainment, molecular regulation, and organismal outputs.** 2013. *Integrative and comparative biology*, 53, 1, 118-130.

- SABOURAULT, C.; GANOT, P.; DELEURY, E.; ALLEMAND, D.; FURLA, P. **Comprehensive EST analysis of the symbiotic sea anemone, *anemonia viridis***. 2009. BMC Genomics, 10: 333.
- SHEARER, T. L.; VAN OPPEN, M.H.; ROMANO, S. L.; WORHEIDE, G. **Slow mitochondrial DNA sequence evolution in the Anthozoa (Cnidaria)**. 2002. Mol Ecol, 11, 2475-2487.
- SHIKINA, S.; CHIU, Y. L.; ZHANG, Y. *et al.* **Involvement of GLWamide neuropeptides in polyp contraction of the adult stony coral *Euphyllia ancora***. 2020. Sci Rep 10, 9427. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-66438-3>.
- SHINZATO, C.; SHOGUCHI, E.; KAWASHIMA, T.; HAMADA, M.; HISATA, K. *et al.* **Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change**. 2011. Nature, 476, 320-323.
- SOETH, M.; METRI, R.; SIMIONI, B. I.; LOOSE, R. *et al.* **Vulnerable sandstone reefs: Biodiversity and habitat at risk**. 2020. Marine Pollution Bulletin, 150, 110680.
- STAMPAR, S. N.; EMIG, C. C.; MORANDINI, A. C.; KODJA, G.; BALBONI, A. P.; LANG DA SILVEIRA, F. **Is there any risk in a symbiotic species associating with an endangered one? A case of a phoronid worm growing on a *Ceriantheomorphe* tube**. 2010. Cahiers de Biologie Marine, 51, 205-211.
- STAMPAR, S. N. **Ceriantharia: a retomada de um clado esquecido**. 2012. 249 p. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2012.
- STAMPAR, S. N.; MARONNA, M. M.; KITAHARA, M. V.; REIMER, J. D.; MORANDINI, A. C. **Fast-evolving mitochondrial DNA in Ceriantharia: a reflection of Hexacorallia paraphyly?**. 2014. PLoS One, 9, 1, e86612.
- STAMPAR, S. N.; BENETI, J. S.; ACUÑA, F. H.; MORANDINI, A. C. **Ultrastructure and tube formation in Ceriantharia (Cnidaria, Anthozoa)**. 2015. Zoologischer Anzeiger - A Journal of Comparative Zoology, V. 254, 67-71.
- STAMPAR, S. N.; BROE, M. B.; MACRANDER, J.; REITZEL, A. M., BRUGLER, M. R.; DALY, M. **Linear mitochondrial genome in Anthozoa (Cnidaria): a case study in Ceriantharia**. 2019. Scientific reports, 9, 1, 1-12.
- STEFANIK, D. J.; LUBINSKI, T. J.; GRANGER, B. R. *et al.* **Production of a reference transcriptome and transcriptomic database (EdwardsiellaBase) for the lined sea anemone, *Edwardsiella lineata*, a parasitic cnidarian**. 2014. BMC Genomics 15, 71. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-71>.

- TAKEUCHI, T.; YAMADA, L.; SHINZATO, C.; SAWADA, H.; SATOH, N. **Stepwise Evolution of Coral Biomineralization Revealed with Genome-Wide Proteomics and Transcriptomics**. 2016. PLoS ONE, 11, 6, e0156424. DOI:10.1371/journal.pone.0156424.
- THEISSINGER, K.; FALCKENHAYN, C.; BLANDE, D. *et al.* **De Novo assembly and annotation of the freshwater crayfish *Astacus astacus* transcriptome**. 2016. *Mar Genomics*, 28:7-10. DOI:10.1016/j.margen.2016.02.006.
- The UniProt Consortium. **Activities at the universal protein resource (UniProt)**. 2013. *Nucleic Acids Research*, 42, D191–D198.
- TIFFON, Y. **Ordre des Cérianthaires**. In: P. Grassé (Ed), *Traité de Zoologie: Anatomie, Systematique, Biologie - Cnidaires/Anthozoaires* (Masson, Paris), 1987, 211-257.
- VOOLSTRA, C. R.; LI, Y.; LIEW, Y.J. *et al.* **Comparative analysis of the genomes of *Stylophora pistillata* and *Acropora digitifera* provides evidence for extensive differences between species of corals**. 2017. *Sci Rep* 7, 1758. Disponible en: <https://doi.org/10.1038/s41598-017-17484-x>.
- ZAPATA, F.; GOETZ, F. E.; SMITH, A. S.; HOWISON, M.; SIEBERT, S.; CHURCH, S. H. *et al.* **Phylogenomic analyses support traditional relationships within *Cnidaria***. 2015. *PLoS One* 702, 10, e0139068.

CONCLUSÃO GERAL

Por meio dos resultados obtidos na revisão sistemática aqui desenvolvida, é possível apontar uma significativa evolução dos estudos transcriptômicos para o clado Anthozoa. Assim como, apontar as espécies mais utilizadas, os delineamentos experimentais variados aplicados e consequentemente as temáticas mais investigadas por meio de recursos transcriptômicos. Além de analisar as ferramentas e tecnologias bioinformáticas mais utilizadas atualmente em estudos com esses organismos. Em conjunto, essas informações podem destacar caminhos promissores dentro do campo da transcriptômica de Anthozoa, auxiliando pesquisadores que estão iniciando nessa área do conhecimento, bem como, alavancar investigações futuras, visto que com base nos dados aqui apresentados é possível identificar táxons e temáticas ainda carentes de informação.

Ademais, os dados disponibilizados para a espécie de anêmona de tubo *Ceriantheomorphe brasiliensis* por meio da anotação de setores do transcriptoma, fornecem recursos úteis para a pesquisa genômica e transcriptômica de espécies antozoárias para as quais informações acerca de sequências transcritas são quase inexistentes, como diversas espécies da subclasse Ceriantharia. A estratégia de anotação aqui desenvolvida por meio do uso de duas ferramentas Blast diferentes, permitem disponibilizar informações tanto a respeito de genes e proteínas expressas na espécie em questão, quanto acerca da similaridade a nível molecular com outros táxons metazoários. Contribuindo para lançar luz a questões elementares ainda não descritas para esses organismos.

Desse modo, por meio desse estudo, foi possível avaliar e reunir dados transcriptômicos esparsamente disponibilizados para Ceriantharia, assim como, dados amplamente disponibilizados na literatura para Anthozoa, resultando na conjunção de uma série de informações úteis sobre estudos transcriptômicos em Cnidaria, especialmente para Anthozoa, que fornecem um panorama atual e inédito para o campo da transcriptômica desses organismos.

REFERÊNCIAS

- BRIDGE, D.; CUNNINGHAM, C. W.; DESALLE, R.; BUSS L. W. **Class-level relationships in the phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence.** 1995. *Molecular Biology and Evolution*, V. 12, Issue 4, July 1995, 679–689. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040246>.
- BRINKMAN, D. L.; JIA, X.; POTRIQUET, J.; KUMAR, D.; DASH, D. *et al.* **Transcriptome and venom proteome of the box jellyfish *Chironex fleckeri*.** 2015. *BMC genomics*, 16, 1, 407.
- CAIRNS, S. D.; GERHSWIN, L. A.; BROOK, F.; PUGH, P. R.; DAWSON, E. W.; OCANA V. *et al.* **Phylum Cnidaria; Corals, Medusae, Hydroids, Myxozoa.** 2009. *New Zealand Inventory of Biodiversity. Volume 1. Kingdom Animalia: Radiata, Lophotrochozoa, Deuterostomia*, edited by Gordon, Dennis P., 59–101. Christchurch: Canterbury University Press.
- CECCATO, V. M. **Biologia molecular.** 2015. 2. ed. Fortaleza: EdUECE, 2015. 139 p.
- CHANG, E. S. *et al.* **Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria.** 2015. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, 48, 14912-14917.
- DALY, M.; BRUGLER, M. R.; CARTWRIGHT, P.; COLLINS, A. G.; DAWSON, M. N.; FAUTIN, D. G. *et al.* **The phylum Cnidaria: A review of phylogenetic patterns and diversity 300 years after Linnaeus.** 2007. *Zootaxa* 1668, 127-182.
- DARLING, J. A.; REITZEL, A. R.; BURTON, P. M.; MAZZA, M. E.; RYAN, J. F. *et al.* **Rising starlet: the starlet sea anemone, *Nematostella vectensis*.** 2005. *Bioessays*, 27, 2, 211-221.
- GUZMAN, C.; SHINZATO, C.; LU, T. M. *et al.* **Transcriptome analysis of the reef-building octocoral, *Heliopora coerulea*.** 2018. *Sci Rep*, 8, 8397. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26718-5>.
- HUANG, C.; MORLIGHEM, J. R.; ZHOU, H. *et al.* **The Transcriptome of the Zoanthid *Protopalythoa variabilis* (Cnidaria, Anthozoa) predicts a Basal Repertoire of Toxin-like and Venom-Auxiliary Polypeptides.** 2016. *Genome Biol Evol.*, 8:9, 3045-3064.
- JAIMES-BECERRA, A.; CHUNG, R.; MORANDINI, A. C.; WESTON, A. J.; PADILLA, G.; GACESA, R. *et al.* **Comparative proteomics reveals**

- recruitment patterns of some protein families in the venoms of Cnidaria.** 2017. *Toxicon*, 137, 19-26.
- KARAKO-LAMPERT, S.; ZOCCOLA, D.; SALMON-DIVON, M.; KATZENELLENBOGEN, M.; TAMBUTTÉ, S. *et al.* **Transcriptome analysis of the scleractinian coral *Stylophora pistillata*.** 2014. *PLoS One*, 9:2, e88615.
- KITCHEN, S. A.; CROWDER, C. M.; POOLE, A. Z.; WEIS, V.M.; MEYER, E. **De novo assembly and characterization of four anthozoan (Phylum Cnidaria) transcriptomes.** 2015. *G3: Genes, genomes, genetics*, g3-115.
- KLOMPEN, A. L.; MACRANDER, J.; REITZEL, A.M.; STAMPAR, S.N. **Transcriptomic Analysis of Four Cerianthid (Cnidaria, Ceriantharia) Venoms.** 2020. *Mar Drugs*, 18, 8: E413.
- LE GOFF, C.; GANOT, P.; ZOCCOLA, D.; CAMINITISEGONDS, N.; ALLEMAND, D.; TAMBUTTÉ, S. **Carbonic Anhydrases in Cnidarians: Novel Perspectives from the Octocorallian *Corallium rubrum*.** 2016. *PLoS ONE* 11, 8: e0160368. Disponível em: doi:10.1371/journal.pone.0160368.
- LIAO, Q.; GONG, G.; POON, T. W. *et al.* **Combined transcriptomic and proteomic analysis reveals a diversity of venom-related and toxin-like peptides expressed in the mat anemone *Zoanthus natalensis* (Cnidaria, Hexacorallia).** 2019. *Arch Toxicol*, 93, 1745–1767.
- LOPEZ, J. V.; LEDGER, A.; SANTIAGO-VAZQUEZ, L. Z.; POP, M.; SOMMER, D. D.; RANZER, L. K. *et al.* **Suppression Subtractive Hybridization PCR Isolation of cDNAs from a Caribbean Soft Coral.** 2011. *Electronic Journal of Biotechnology*, 1. Disponível em: 0iii 10.2225/vol14-issue1-fulltext-3.
- MACHADO, A. M.; DRUMMOND, G. M.; PAGLIA, A. P. **Invertebrados aquáticos: a situação de ameaça dos invertebrados aquáticos no Brasil.** 2008. Livro vermelho da fauna brasileira ameaçada de extinção. Brasília (DF): MMA; Belo Horizonte (MG): Fundação Biodiversitas, p. 19.
- MARISCAL, R. N.; CONKLIN, E. J.; BIGGER, C. H. **The Ptychocyst, a major new category of cnida used in tube construction by a Cerianthid anemone.** 1977. *Biological Bulletin*, 152, 392-405.
- MEYER, E. V.; AGLYAMOVA; MATZ, M. V. **Profiling gene expression responses of coral larvae (*Acropora millepora*) to elevated temperature and settlement inducers using a novel RNA-Seq procedure.** 2011. *M. Ecology*, 20, 3599-3616.

- MORANDINI, A. C.; STAMPAR, S. N. **Cnidaria: aspectos gerais**. In: Fransozo A.; Negreiros-Fransozo ML. Zoologia dos invertebrados. Guanabara Koogan (Roca), 2016, 201-208.
- SHINZATO, C.; SHOGUCHI, E.; KAWASHIMA, T.; HAMADA, M.; HISATA, K. *et al.* **Using the *Acropora digitifera* genome to understand coral responses to environmental change**. 2011. Nature, 476, 320-323.
- SOETH, M.; METRI, R.; SIMIONI, B. I.; LOOSE, R. *et al.* **Vulnerable sandstone reefs: Biodiversity and habitat at risk**. 2020. Marine Pollution Bulletin, 150, 110680.
- STAMPAR, S. N.; EMIG, C. C.; MORANDINI, A. C.; KODJA, G.; BALBONI, A. P.; LANG DA SILVEIRA, F. **Is there any risk in a symbiotic species associating with an endangered one? A case of a phoronid worm growing on a *Ceriantheomorpha* tube**. 2010. Cahiers de Biologie Marine, 51, 205-211.
- STAMPAR, S. N. **Ceriantharia: a retomada de um clado esquecido**. 2012. 249 p. Tese de doutorado. Universidade de São Paulo, 2012.
- STAMPAR, S. N.; MARONNA, M. M.; KITAHARA, M. V.; REIMER, J. D.; MORANDINI, A. C. **Fast-evolving mitochondrial DNA in Ceriantharia: a reflection of Hexacorallia paraphyly?**. 2014. PLoS One, 9, 1, e86612.
- STAMPAR, S. N.; BROE, M. B.; MACRANDER, J.; REITZEL, A. M., BRUGLER, M. R.; DALY, M. **Linear mitochondrial genome in Anthozoa (Cnidaria): a case study in Ceriantharia**. 2019. Scientific reports, 9, 1, 1-12.
- SULLIVAN, J. C.; RYAN, J. F.; WATSON, J. A.; WEBB, J.; MULLIKIN, C. J. *et al.* **StellaBase: The *Nematostella vectensis* Genomics Database, Nucleic Acids Research**. 2006. V. 34, Issue suppl_1, 1, D495-D499. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/nar/gkj020>.
- TULIN, S.; AGUIAR, D.; ISTRAIL, S.; SMITH, J. **A quantitative reference transcriptome for *Nematostella vectensis* early embryonic development: a pipeline for de novo assembly in emerging model systems**. 2013. EvoDevo, 4, 1, p.16.
- ZAPATA, F.; GOETZ, F. E.; SMITH, A. S.; HOWISON, M.; SIEBERT, S.; CHURCH, S. H. *et al.* **Phylogenomic analyses support traditional relationships within Cnidaria**. 2015. PLoS One 702, 10, e0139068.

MATERIAL SUPLEMENTAR

Tabela S1 – Lista dos artigos utilizados na revisão bibliográfica do capítulo 1.

Código	Artigo	Gênero ou Espécie	Tema agrupado
1	deBoer ML, Krupp DA, Weis VM (2006). Proteomic and transcriptional analyses of coral larvae newly engaged in symbiosis with dinoflagellates, Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Genomics and Proteomics, Volume 2, Issue 1, 63-73.	<i>Fungia scutaria</i>	Simbiose
2	Rodriguez-Lanetty M, Phillips WS, Weis VM (2006). Transcriptome analysis of a cnidarian-dinoflagellate mutualism reveals complex modulation of host gene expression. <i>BMC Genomics</i> , 7: 23.	<i>Anthopleura elegantissima</i>	Simbiose
3	Grasso, LC, Maindonald, J, Rudd S et al. (2008). Microarray analysis identifies candidate genes for key roles in coral development. <i>BMC Genomics</i> 9, 540. https://doi.org/10.1186/1471-2164-9-540 .	<i>Acropora sp. e N. vectensis</i>	Calcificação e biomineralização; Desenvolvimento e gametogênese; Simbiose
4	Meyer E, Aglyamova GV, Wang S, et al. (2009). Sequencing and de novo analysis of a coral larval transcriptome using 454 GSFlx. <i>BMC Genomics</i> , 10: 219.	<i>Acropora millepora</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
5	Reyes-Bermudez, Alejandro, DeSalvo Michael K., Voolstra, Christian R., Sunagawa, Shinichi, Szmant, Alina M., Iglesias-Prieto, Roberto, Medina, Mónica. Gene expression microarray analysis encompassing metamorphosis and the onset of calcification in the scleractinian coral <i>Montastraea faveolata</i> , <i>Marine Genomics</i> , Volume 2, Issues 3–4, 2009, Pages 149-159, ISSN 1874-7787, https://doi.org/10.1016/j.margen.2009.07.002 .	<i>Montastraea faveolata</i>	Desenvolvimento e gametogênese; Calcificação e biomineralização
6	Sabourault C, Ganot P, Deleury E, Allemand D, Furla P: Comprehensive EST analysis of the symbiotic sea anemone, <i>anemonia viridis</i> (2009). <i>BMC Genomics</i> , 10: 333.	<i>Anemonia viridis</i>	Simbiose
7	Sunagawa, S., Wilson, E.C., Thaler, M. <i>et al.</i> Generation and analysis of transcriptomic resources for a model system on the rise: the sea anemone <i>Aiptasia pallida</i> and its dinoflagellate endosymbiont. <i>BMC Genomics</i> 10, 258 (2009). https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-258	<i>Exaiptasia pallida</i>	Simbiose

8	Sunagawa S, DeSalvo MK, Voolstra CR, Reyes-Bermudez A, Medina M (2009) Identification and Gene Expression Analysis of a Taxonomically Restricted Cysteine-Rich Protein Family in Reef-Building Corals. PLoS ONE 4(3): e4865. doi:10.1371/journal.pone.0004865	<i>Montastraea faveolata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
9	Voolstra, C.R., Schnetzer, J., Peshkin, L. <i>et al.</i> Effects of temperature on gene expression in embryos of the coral <i>Montastraea faveolata</i> . <i>BMC Genomics</i> 10, 627 (2009). https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-627	<i>Montastraea faveolata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Desenvolvimento e gametogênese
10	Oren M., Amar K.O., Douek J., Rosenzweig T., Paz G., Rinkevich B. Assembled catalog of immune-related genes from allogeneic challenged corals that unveils the participation of vWF-like transcript, <i>Developmental & Comparative Immunology</i> , Volume 34, Issue 6, 2010, 630-637, ISSN 0145-305X, https://doi.org/10.1016/j.dci.2010.01.007.	<i>Stylophora pistillata</i>	Imunidade
11	Portune KJ, Voolstra CR, Medina M, Szmant AM (2010). Development and heat stress-induced transcriptomic changes during embryogenesis of the scleractinian coral <i>Acropora palmata</i> . <i>Mar Genomics</i> . 2010 Mar;3(1):51-62. doi: 10.1016/j.margen.2010.03.002. Epub. PMID: 21798197.	<i>Acropora palmata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Desenvolvimento e gametogênese
12	Schnitzler Christine E., Weis Virginia M. Coral larvae exhibit few measurable transcriptional changes during the onset of coral-dinoflagellate endosymbiosis, <i>Marine Genomics</i> , Volume 3, Issue 2, 2010, Pages 107-116, ISSN 1874-7787, https://doi.org/10.1016/j.margen.2010.08.002.	<i>Fungia scutaria</i>	Simbiose
13	Starcevic A, Dunlap WC, Cullum J, Shick JM, Hranueli D, et al. (2010) Gene Expression in the Scleractinian <i>Acropora microphthalma</i> Exposed to High Solar Irradiance Reveals Elements of Photoprotection and Coral Bleaching. PLoS ONE 5(11): e13975. doi:10.1371/journal.pone.0013975	<i>Acropora microphthalma</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
14	Ganot P, Moya A, Magnone V, Allemand D, Furla P, et al. (2011) Adaptations to Endosymbiosis in a Cnidarian-Dinoflagellate Association: Differential Gene Expression and Specific Gene Duplications. PLoS Genet 7(7): e1002187. doi:10.1371/journal.pgen.1002187	<i>Anemonia viridis</i>	Simbiose

15	Hoadley KD, Szmant AM, Pyott SJ (2011) Circadian Clock Gene Expression in the Coral <i>Favia fragum</i> over Diel and Lunar Reproductive Cycles. PLoS ONE 6(5): e19755. doi:10.1371/journal.pone.0019755	<i>Favia fragum</i>	Ritmos circadianos, relógio biológico
16	Lopez JV, Ledger A, Santiago-Vazquez LZ, Pop M, Sommer DD, Ranzer LK, Feldman RA, Kerr RG (2011). Suppression Subtractive Hybridization PCR Isolation of cDNAs from a Caribbean Soft Coral. Electronic Journal of Biotechnology. no. 1. 10.2225/vol14-issue1-fulltext-3.	<i>Erythropodium caribaeorum</i> e <i>Gorgonia ventalina</i>	Simbiose
17	Mayfield AB, Wang L-H, Tang P-C, Fan T-Y, Hsiao Y-Y, et al. (2011) Assessing the Impacts of Experimentally Elevated Temperature on the Biological Composition and Molecular Chaperone Gene Expression of a Reef Coral. PLoS ONE 6(10): e26529. doi:10.1371/journal.pone.0026529	<i>Seriatopora hystrix</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
18	Polato NR, Vera JC, Baums IB (2011) Gene Discovery in the Threatened Elkhorn Coral: 454 Sequencing of the <i>Acropora palmata</i> Transcriptome. PLoS ONE 6(12): e28634. doi:10.1371/journal.pone.0028634	<i>Acropora palmata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
19	Shinzato C, Shoguchi E, Kawashima T, Hamada M, Hisata K et al., (2011). Using the <i>Acropora digitifera</i> genome to understand coral responses to environmental change. Nature, 476, 320-323.	<i>Acropora digitifera</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
20	Bellantuono AJ, Granados-Cifuentes C, Miller DJ, Hoegh-Guldberg O, Rodriguez-Lanetty M (2012) Coral Thermal Tolerance: Tuning Gene Expression to Resist Thermal Stress. PLoS ONE 7(11): e50685. doi:10.1371/journal.pone.0050685	<i>Acropora millepora</i>	Desenvolvimento e gametogênese
21	Lehnert EM, Burriesi MS, Pringle JR (2012). Developing the anemone <i>Aiptasia</i> as a tractable model for cnidarian-dinoflagellate symbiosis: the transcriptome of aposymbiotic <i>A. pallida</i> . BMC Genomics, 13: 271.	<i>Exaiptasia pallida</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
22	Sabourault C, Ganot P, Moya A, Furla P (2012) Endosymbiosis drives transcriptomic adjustments and genomic adaptations in cnidarians. Proceedings of the 12th International Coral Reef Symposium, ICRS2012_7A_1. Available at: www.icrs2012.com/proceedings/manuscripts/ICRS2012_7A_1.pdf.	<i>Anemina viridis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse

23	Urbarova, I.; Karlsen, B.O.; Okkenhaug, S.; Seternes, O.M.; Johansen, S.D.; Emblem, Å. Digital Marine Bioprospecting: Mining New Neurotoxin Drug Candidates from the Transcriptomes of Cold-Water Sea Anemones. <i>Mar. Drugs</i> 2012, 10, 2265-2279.	<i>Bolocera tuediae e Hormathia digitata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
24	Vidal-Dupiol J, Zoccola D, Tambutte´ E, Grunau C, Cosseau C, et al. (2013) Genes Related to Ion-Transport and Energy Production Are Upregulated in Response to CO2-Driven pH Decrease in Corals: New Insights from Transcriptome Analysis. <i>PLoS ONE</i> 8(3): e58652. doi:10.1371/journal.pone.0058652	<i>Pocillopora damicornis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
25	Granados-Cifuentes, C., Bellantuono, A.J., Ridgway, T. et al. High natural gene expression variation in the reef-building coral <i>Acropora millepora</i> : potential for acclimative and adaptive plasticity. <i>BMC Genomics</i> 14, 228 (2013). https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-228	<i>Acropora millepora</i>	Variações 'intra ou inter coloniais"
26	Helm et al. (2013). Characterization of differential transcript abundance through time during <i>Nematostella vectensis</i> development. <i>BMC Genomics</i> , 14:266.	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
27	Kenkel, C.D., Meyer, E. and Matz, M.V. (2013), Gene expression under chronic heat stress in populations of the mustard hill coral (<i>Porites astreoides</i>) from different thermal environments. <i>Mol Ecol</i> , 22: 4322 - 4334. https://doi.org/10.1111/mec.12390	<i>Porites astreoides</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
28	Libro S, Kaluziak ST, Vollmer SV (2013) RNA-seq Profiles of Immune Related Genes in the Staghorn Coral <i>Acropora cervicornis</i> Infected with White Band Disease. <i>PLoS ONE</i> 8(11): e81821. doi:10.1371/journal.pone.0081821	<i>Acropora cervicornis</i>	Imunidade
29	Mayfield, A. B., T. Fan and Chii-Shiang Chen. "Real-Time PCR-Based Gene Expression Analysis in the Model Reef-Building Coral " <i>Pocillopora Damicornis</i> " : Insight from a Salinity Stress Study." (2013).	<i>Pocillopora damicornis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
30	Mehr, Pooyaei et al.: Transcriptome deep-sequencing and clustering of expressed isoforms from <i>Favia</i> corals. <i>BMC Genomics</i> 2013 14:546.	<i>Favia sp.</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
31	Tulin S, Aguiar D, Istrail S and Smith J (2013). A quantitative reference transcriptome for <i>Nematostella vectensis</i> early	<i>Nematostella vectensis</i>	Caracterização genômica e transcriptômica

	embryonic development: a pipeline for de novo assembly in emerging model systems. <i>EvoDevo</i> , 4(1), p.16.		
32	Weiss et al.: The acute transcriptional response of the coral <i>Acropora millepora</i> to immune challenge: expression of GiMAP/IAN genes links the innate immune responses of corals with those of mammals and plants. <i>BMC Genomics</i> 2013 14:400.	<i>Acropora millepora</i>	Imunidade
33	Closek, C., Sunagawa, S., DeSalvo, M. <i>et al.</i> Coral transcriptome and bacterial community profiles reveal distinct Yellow Band Disease states in <i>Orbicella faveolata</i> . <i>ISME J</i> 8, 2411–2422 (2014). https://doi.org/10.1038/ismej.2014.85	<i>Orbicella faveolata</i>	Imunidade
34	Elran, R., Raam, M., Kraus, R., Brekhman, V., Sher, N., Plaschkes, I., Chalifa-Caspi, V. and Lotan, T. (2014), Early and late response of <i>Nematostella vectensis</i> transcriptome to heavy metals. <i>Mol Ecol</i> , 23: 4722-4736. https://doi.org/10.1111/mec.12891	<i>Nematostella vectensis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
35	Fidler AL, Vanacore RM, Chetyrkin SV et al. (2014). A unique covalent bond in basement membrane is a primordial innovation for tissue evolution. <i>Proc Natl Acad Sci U S A</i> , 111(1): 331-336.	<i>Acropora digitifera</i> , <i>Nematostella vectensis</i> , <i>Metridium senile</i>	Desenvolvimento e gametogênese
36	Gust et al.: Coral-zooxanthellae meta-transcriptomics reveals integrated response to pollutant stress. <i>BMC Genomics</i> 2014 15:591.	<i>Acropora formosa</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Simbiose
37	Hemond et al.: The genetics of colony form and function in Caribbean <i>Acropora</i> corals. <i>BMC Genomics</i> 2014 15:1133.	<i>Acropora cervicornis</i> e <i>Acropora palmata</i>	Variações 'intra ou inter coloniais'
38	Liew YJ, Aranda M, Carr A, Baumgarten S, Zoccola D, et al. (2014). Identification of MicroRNAs in the Coral <i>Stylophora pistillata</i> . <i>PLoS ONE</i> 9(3): e91101.	<i>Stylophora pistillata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
39	Maor-Landaw, K., Karako-Lampert, S., Ben-Asher, H.W., Goffredo, S., Falini, G., Dubinsky, Z. and Levy, O. (2014), Gene expression profiles during short-term heat stress in the red sea coral <i>Stylophora pistillata</i> . <i>Glob Change Biol</i> , 20: 3026-3035. https://doi.org/10.1111/gcb.12592	<i>Stylophora pistillata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse

	Poole Angela Z., Weis Virginia M. TIR-domain-containing protein repertoire of nine anthozoan species reveals coral-specific expansions and uncharacterized proteins, <i>Developmental & Comparative Immunology</i> , Volume 46, Issue 2, 2014, 480-488, ISSN 0145-305X, https://doi.org/10.1016/j.dci.2014.06.002 .	<i>Antopheura elegantissima</i> , <i>Exaiptasia pallida</i> , <i>Nematostella vectensis</i> , <i>Acropora digitifera</i> , <i>Acropora millepora</i> , <i>Fungia scutaria</i> , <i>Montastrea cavernosa</i> , <i>Pocillopora damicornis</i> e <i>Seriatopora hystrix</i>	Imunidade
40	Shinzato C, Inoue M, Kusakabe M (2014) A Snapshot of a Coral “Holobiont”: A Transcriptome Assembly of the Scleractinian Coral, <i>Porites</i> , Captures a Wide Variety of Genes from Both the Host and Symbiotic <i>Zooxanthellae</i> . <i>PLoS ONE</i> 9(1): e85182. doi:10.1371/journal.pone.0085182	<i>Porites australiensis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Simbiose
41	Stefanik, D.J., Lubinski, T.J., Granger, B.R. <i>et al.</i> Production of a reference transcriptome and transcriptomic database (EdwardsiellaBase) for the lined sea anemone, <i>Edwardsiella lineata</i> , a parasitic cnidarian. <i>BMC Genomics</i> 15, 71 (2014). https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-71	<i>Edwardsiella lineata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica; Filogenia, taxonomia e evolução
42	Anderson DA, Walz ME, Weil E, Tonellato P, Smith MC. 2015. A transcriptome resource for the coral, <i>Orbicella faveolata</i> (Scleractinia-Meruliniidae) – an emerging model of coral innate immunity. <i>PeerJ PrePrints</i> 3:e1230v1 https://doi.org/10.7287/peerj.preprints.1230v1	<i>Orbicella faveolata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
43	Daniels CA, Baumgarten S, Yum LK, Michell CT, Bayer T, Arif C, Roder C, Weil E and Voolstra CR (2015) Metatranscriptome analysis of the reef-building coral <i>Orbicella faveolata</i> indicates holobiont response to coral disease. <i>Front. Mar. Sci.</i> 2:62. doi: 10.3389/fmars.2015.00062	<i>Orbicella faveolata</i>	Imunidade
44			

45	Del Rio, Annelise. 2015. "The evolution of heat shock protein 70 in sea anemones " Honors Thesis, Department of Evolution, Ecology, and Organismal Biology The Ohio State University. http://hdl.handle.net/1811/68890 .	<i>Andvakia discipulorum</i> , <i>Antopheura elegantissima</i> , <i>Actinia equina</i> , <i>Exaiptasia pallida</i> , <i>Anemonia sulcata</i> , <i>Bartholomea annulata</i> , <i>Bunodosoma cavernata</i> , <i>Bunodeopsis globulifera</i> , <i>Calliactis parasitica</i> , <i>Diadumene leucolena</i> , <i>Diadumene lineata</i> , <i>Epiactis prolifera</i> , <i>Entacmaea quadricolor</i> , <i>Haloclava sp.</i> , <i>Edwardsiella lineata</i> , <i>Macrodactyla doreensis</i> , <i>Megalactis griffithsi</i> , <i>Metridium senile</i> , <i>Stomphia coccinea</i> e <i>Sagartia elegans</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
46	Hemond, E.M. and Vollmer, S.V. (2015), Diurnal and nocturnal transcriptomic variation in the Caribbean staghorn coral, <i>Acropora cervicornis</i> . <i>Mol Ecol</i> , 24: 4460-4473. https://doi.org/10.1111/mec.13320	<i>Acropora cervicornis</i>	Variações 'intra ou inter coloniais"
47	Macrander J, Brugler MR, Daly M (2015). A RNA-seq approach to identify putative toxins from acrorhagi in aggressive and non-aggressive <i>Anthopleura elegantissima</i> polyps. <i>BMC Genomics</i> , 16(1): 221.	<i>Anthopleura elegantissima</i>	Toxinas
48	Morgan et al. (2015), Development and application of molecular biomarkers for characterizing Caribbean Yellow Band Disease in <i>Orbicella faveolata</i> . <i>PeerJ</i> 3:e1371; DOI 10.7717/peerj.1371	<i>Orbicella faveolata</i>	Imunidade
49	Oren, M. et al. Profiling molecular and behavioral circadian rhythms in the non-symbiotic sea anemone <i>Nematostella vectensis</i> . <i>Sci. Rep.</i> 5, 11418; doi: 10.1038/srep11418 (2015)	<i>Nematostella vectensis</i>	Ritmos circadianos, relógio biológico
50	Pratlong M, Haguenauer A, Chabrol O, Klopp C, Pontarotti P, & Aurelle D (2015). The red coral (<i>Corallium rubrum</i>) transcriptome: a new resource for population genetics and local adaptation studies. <i>Molecular ecology resources</i> , 15(5), 1205-1215.	<i>Corallium rubrum</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
51	Zoccola, D. et al. Bicarbonate transporters in corals point towards a key step in the evolution of cnidarian calcification. <i>Sci. Rep.</i> 5, 9983; doi: 10.1038/srep09983 (2015).	<i>Stylophora pistillata</i>	Calcificação e biomineralização

52	Anderson et al. (2016), RNA-Seq of the Caribbean reef-building coral <i>Orbicella faveolata</i> (Scleractinia: Merulinidae) under bleaching and disease stress expands models of coral innate immunity. <i>PeerJ</i> 4:e1616; DOI 10.7717/peerj.1616	<i>Orbicella faveolata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
53	Babonis LS, Martindale MQ & Ryan JF (2016). Do novel genes drive morphological novelty? An investigation of the nematosomes in the sea anemone <i>Nematostella vectensis</i> . <i>BMC Evol Biol</i> 16, 114.	<i>Nematostella vectensis</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
54	Davies SW, Marchetti A, Ries JB and Castillo KD (2016) Thermal and pCO ₂ Stress Elicit Divergent Transcriptomic Responses in a Resilient Coral. <i>Front. Mar. Sci.</i> 3:112. doi: 10.3389/fmars.2016.00112.	<i>Siderastrea siderea</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
55	Huang C, Morlighem JR, Zhou H, et al. (2016). The Transcriptome of the Zoanthid <i>Protopalythoa variabilis</i> (Cnidaria, Anthozoa) Predicts a Basal Repertoire of Toxin-like and Venom-Auxiliary Polypeptides. <i>Genome Biol Evol.</i> 8(9): 3045-3064.	<i>Palythoa variabilis</i>	Toxinas
56	Le Goff C, Ganot P, Zoccola D, CaminitiSegonds N, Allemand D, Tambutté S (2016) Carbonic Anhydrases in Cnidarians: Novel Perspectives from the Octocorallian <i>Corallium rubrum</i> . <i>PLoS ONE</i> 11(8): e0160368. doi:10.1371/journal.pone.0160368.	<i>Corallium rubrum</i>	Calcificação e biomineralização
57	Lin et al. (2016), Corallimorpharians are not “naked corals”: insights into relationships between Scleractinia and Corallimorpharia from phylogenomic analyses. <i>PeerJ</i> 4:e2463; DOI 10.7717/peerj.2463	<i>Ricordea yuma</i> , <i>Rhodactis indosinensis</i> e <i>Corynactis australis</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
58	Macrander J, Broe M, Daly M (2016). Tissue-Specific Venom Composition and Differential Gene Expression in Sea Anemones. <i>Genome Biol Evol.</i> 2016 Aug 25;8(8):2358-75. doi: 10.1093/gbe/evw155. PMID: 27389690; PMCID: PMC5010892.	<i>Anemonia sulcata</i> , <i>Heteractis crispa</i> e <i>Megalactis griffithsi</i>	Toxinas
59	Neubauer et al. (2016), The scavenger receptor repertoire in six cnidarian species and its putative role in cnidarian-dinoflagellate symbiosis. <i>PeerJ</i> 4:e2692; DOI 10.7717/peerj.2692	<i>Anthopleura elegantissima</i> , <i>Exaiptasia pallida</i> , <i>Nematostella vectensis</i> , <i>Acropora digitifera</i> , <i>Acropora millepora</i> e <i>Fungia scutaria</i>	Simbiose; Imunidade
60	Okubo, N., Hayward, D.C., Forêt, S. et al. A comparative view of early development in the corals <i>Favia lizardensis</i> , <i>Ctenactis echinata</i> , and <i>Acropora millepora</i> - morphology, transcriptome,	<i>Favia lizardensis</i> e <i>Ctenactis echinata</i>	Desenvolvimento e gametogênese

and developmental gene expression. *BMC Evol Biol* 16, 48 (2016).
<https://doi.org/10.1186/s12862-016-0615-2>

61	Pey Alexis, Zamoum Thamilla, Christen Richard, Merle Pierre-Laurent, Furla Paola. Characterization of glutathione peroxidase diversity in the symbiotic sea anemone <i>Anemonia viridis</i> . <i>Biochimie</i> , Elsevier, 2016, 132, pp.94 - 101. ff10.1016/j.biochi.2016.10.016ff. fhal-01404424f	<i>Anemonia viridis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
62	Poole Angela Z., Kitchen Sheila A., Weis Virginia M. The Role of Complement in Cnidarian-Dinoflagellate Symbiosis and Immune Challenge in the Sea Anemone <i>Aiptasia pallida</i> . <i>JOURNAL=Frontiers in Microbiology</i> , V. 7, 2016, 519. DOI=10.3389/fmicb.2016.00519	<i>Exaiptasia pallida</i>	Simbiose
63	Takeuchi T, Yamada L, Shinzato C, Sawada H, Satoh N (2016) Stepwise Evolution of Coral Biomineralization Revealed with Genome-Wide Proteomics and Transcriptomics. <i>PLoS ONE</i> 11(6): e0156424. doi:10.1371/journal.pone.0156424	<i>Acropora digitifera</i>	Calcificação e biomineralização
64	van der Burg CA, Prentis PJ, Surm JM et al. (2016). Insights into the innate immunome of actinarians using a comparative genomic approach. <i>BMC Genomics</i> 17, 850. https://doi.org/10.1186/s12864-016-3204-2 .	<i>Actinia tenebrosa</i> , <i>Anthopleura buddemeieri</i> , <i>Aulactinia veratra</i> , <i>Calliactis polypus</i> , <i>Nemanthus annamensis</i> , <i>Telmatactis sp.</i> , <i>Anthopleura elegantissima</i> , <i>Exaiptasia pallida</i> e <i>Nematostella vectensis</i>	Imunidade
65	Baumgarten S, Cziebiński MJ, Thomas L, et al. Evidence for miRNA-mediated modulation of the host transcriptome in cnidarian–dinoflagellate symbiosis. <i>Mol Ecol</i> . 2018;27:403–418. https://doi.org/10.1111/mec.14452	<i>Exaiptasia sp.</i>	Simbiose
66	Fuess LE, Pinzón C JH, Weil E, Grinshpon RD, Mydlarz LD. 2017 Life or death: disease-tolerant coral species activate autophagy following immune challenge. <i>Proc. R. Soc. B</i> 284: 20170771. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2017.0771	<i>Orbicella faveolata</i> , <i>Porites porites</i> , <i>Porites astreoides</i> e <i>Pseudodiploria strigosa</i>	Imunidade
67	Huang C, Morlighem JRL, Cai J, Liao Q, Perez CD, Gomes PB, Guo M, Rádis-Baptista G, Lee SM (2017). Identification of long non-coding RNAs in two anthozoan species and their possible implications for coral bleaching. <i>Sci Rep</i> . 2017 Jul 13;7(1):5333.	<i>Palythoa caribaeorum</i> e <i>Palythoa variabilis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse

doi: 10.1038/s41598-017-02561-y. PMID: 28706206; PMCID: PMC5509713.

68	Jarett, J.K., MacManes, M.D., Morrow, K.M. <i>et al.</i> Comparative Genomics of Color Morphs In the Coral <i>Montastraea cavernosa</i> . <i>Sci Rep</i> 7, 16039 (2017). https://doi.org/10.1038/s41598-017-16371-9	<i>Montastraea cavernosa</i>	Variações 'intra ou inter coloniais"
69	Kenkel Carly D., Bay Line K. Novel transcriptome resources for three scleractinian coral species from the Indo-Pacific, GigaScience, Volume 6, Issue 9, September 2017, https://doi.org/10.1093/gigascience/gix074	<i>Goniopora columna</i> , <i>Galaxea astrea</i> e <i>Galaxea acrihelia</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
70	Lin MF, Moya A, Ying H, Chen CA, Cooke I, Ball EE, Forêt S, Miller DJ (2017). Analyses of Corallimorpharian Transcriptomes Provide New Perspectives on the Evolution of Calcification in the Scleractinia (Corals), <i>Genome Biology and Evolution</i> , Volume 9, Issue 1, 150–160, https://doi.org/10.1093/gbe/evw297 .	<i>Ricordea yuma</i> , <i>Rhodactis indosinensis</i> e <i>Corynactis australis</i>	Calcificação e biomineralização
71	Lin, Z. et al. Transcriptome profiling of <i>Galaxea fascicularis</i> and its endosymbiont <i>Symbiodinium</i> reveals chronic eutrophication tolerance pathways and metabolic mutualism between partners. <i>Sci. Rep.</i> 7, 42100; doi: 10.1038/srep42100 (2017).	<i>Galaxea fascicularis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
72	Maor-Landaw, K. et al. Mediterranean versus Red sea corals facing climate change, a transcriptome analysis. <i>Sci. Rep.</i> 7, 42405; doi: 10.1038/srep42405 (2017).	<i>Stylophora pistillata</i> e <i>Balanophyllia europaea</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
73	Putnam et al. (2017), Divergent evolutionary histories of DNA markers in a Hawaiian population of the coral <i>Montipora capitata</i> . <i>PeerJ</i> 5:e3319; DOI 10.7717/peerj.3319	<i>Montipora capitata</i>	Variações 'intra ou inter coloniais"
74	Ruiz-Ramos, DV, Fisher, CR and Baums, IB 2017 Stress response of the black coral <i>Leiopathes glaberrima</i> when exposed to sub-lethal amounts of crude oil and dispersant. <i>Elem Sci Anth</i> , 5: 77. DOI: https://doi.org/10.1525/elementa.261	<i>Leiopathes glaberrima</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
75	Stewart, Z. K. et al. Transcriptomic investigation of wound healing and regeneration in the cnidarian <i>Calliactis polypus</i> . <i>Sci. Rep.</i> 7, 41458; doi: 10.1038/srep41458 (2017).	<i>Calliactis polypus</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse

	Sumuano Jorge-Tonatiuh Ayala, Navarro Alexei Licea, Piñera Enrique Rudiño, Rodríguez Estefanía, Almazán Claudia Rodríguez. Sequencing and de novo transcriptome assembly of <i>Anthopleura dowii</i> Verrill (1869), from Mexico, Genomics Data, Volume 11, 2017, 92-94, ISSN 2213-5960, https://doi.org/10.1016/j.gdata.2016.11.022 .	<i>Anthopleura dowii</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
76	Voolstra, C.R., Li, Y., Liew, Y.J. <i>et al.</i> Comparative analysis of the genomes of <i>Stylophora pistillata</i> and <i>Acropora digitifera</i> provides evidence for extensive differences between species of corals. <i>Sci Rep</i> 7, 17583 (2017). https://doi.org/10.1038/s41598-017-17484-x	<i>Stylophora pistillata</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
77	Yum, L.K., Baumgarten, S., Röthig, T. <i>et al.</i> Transcriptomes and expression profiling of deep-sea corals from the Red Sea provide insight into the biology of azooxanthellate corals. <i>Sci Rep</i> 7, 6442 (2017). https://doi.org/10.1038/s41598-017-05572-x	<i>Dendrophyllia sp., Eguchipsammia fstula e Rhizotrochus typus</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
78	Cui Guoxin , Liew Yi Jin, Li Yong, Kharbatia Najeh, Zahran Noura I, Emwas Abdul-Hamid, Eguiluz Victor M, Aranda Manuel. Meta-analysis reveals host-dependent nitrogen recycling as a mechanism of symbiont control in <i>Aiptasia</i> . bioRxiv 269183; doi: https://doi.org/10.1101/269183	<i>Exaiptasia sp.</i>	Simbiose
79	Dnyansagar Rohit , Zimmermann Bob, Moran Yehu, Praher Daniela, Sundberg Per, Møller Lene Friis, Ulrich Technau, Dispersal and speciation: The cross Atlantic relationship of two parasitic cnidarians, Molecular Phylogenetics and Evolution, Volume 126, 2018, 346-355, ISSN 1055-7903, https://doi.org/10.1016/j.ympev.2018.04.035 .	<i>Edwardsiella lineata e Edwardsiella carnea</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
80	Fuess LE, Mann WT, Jinks LR, Brinkhuis V, Mydlarz LD. 2018 Transcriptional analyses provide new insight into the late-stage immune response of a diseased Caribbean coral. <i>R. Soc. open sci.</i> 5: 172062. http://dx.doi.org/10.1098/rsos.172062	<i>Eunicea calyculata</i>	Imunidade
81	Guzman, C., Shinzato, C., Lu, TM. <i>et al.</i> Transcriptome analysis of the reef-building octocoral, <i>Heliopora coerulea</i> . <i>Sci Rep</i> 8, 8397 (2018). https://doi.org/10.1038/s41598-018-26718-5	<i>Heliopora coerulea</i>	Simbiose
82	Jeon Yeonsu, Park Seung Gu, Lee Nayun, Weber Jessica A., Kim Hui-Su, et al. The draft genome of an octocoral, <i>Dendronephthya gigantea</i> . bioRxiv 487058; doi: https://doi.org/10.1101/487058 .	<i>Dendronephthya gigantea</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
83			

84	Liao Q, Gong G, Siu SWI, et al. (2018). A Novel ShK-Like Toxic Peptide from the Transcriptome of the Cnidarian <i>Palythoa caribaeorum</i> Displays Neuroprotection and Cardioprotection in Zebrafish. <i>Toxins (Basel)</i> , 10(6): 238.	<i>Palythoa caribaeorum</i>	Toxinas
85	Nicosia, A.; Bennici, C.; Biondo, G.; Costa, S.; Di Natale, M.; Masullo, T.; Monastero, C.; Ragusa, M.A.; Tagliavia, M.; Cuttitta, A. Characterization of Translationally Controlled Tumour Protein from the Sea Anemone <i>Anemonia viridis</i> and Transcriptome Wide Identification of Cnidarian Homologues. <i>Genes</i> 2018, 9, 30.	<i>Anemonia viridis</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
86	Pootakham W, Naktang C, Sonthirod C, Yoocha T, Sangrakru D, Jomchai N, Puchim L and Tangphatsornruang S (2018) Development of a Novel Reference Transcriptome for Scleractinian Coral <i>Porites lutea</i> Using Single-Molecule Long-Read Isoform Sequencing (Iso-Seq). <i>Front. Mar. Sci.</i> 5:122. doi: 10.3389/fmars.2018.00122	<i>Porites lutea</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
87	Rivera-de-Torre Esperanza , Martínez-del-Pozo Álvaro,. Garb Jessica E. Stichodactyla helianthus' de novo transcriptome assembly: Discovery of a new actinoporin isoform, <i>Toxicon</i> , Volume 150, 2018, 105-114, ISSN 0041-0101, https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2018.05.014 .	<i>Stichodactyla helianthus</i>	Toxinas
88	Sebé-Pedrós, Arnau & Saudemont, Baptiste & Chomsky, Elad & Plessier, Flora & Mailhé, Marie-Pierre & Renno, Justine & Loe-Mie, Yann & Lifshitz, Aviezer & Mukamel, Zohar & Schmutz, Sandrine & Novault, Sophie & Steinmetz, Patrick & Spitz, Francois & Tanay, Amos & Marlow, Heather. (2018). Cnidarian Cell Type Diversity and Regulation Revealed by Whole-Organism Single-Cell RNA-Seq. <i>Cell</i> . 173. 1520-1534.e20. 10.1016/j.cell.2018.05.019.	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
89	Smith Hayden L , Pavasovic Ana, Surm Joachim M, Phillips Matthew J , Prentis Peter J. Evidence for a Large Expansion and Subfunctionalization of Globin Genes in Sea Anemones, <i>Genome Biology and Evolution</i> , Volume 10, Issue 8, August 2018, Pages 1892–1901, https://doi.org/10.1093/gbe/evy128	<i>Acropora digitifera</i> , <i>Actinia tenebrosa</i> , <i>Anthopleura buddemeieri</i> , <i>Aulactinia verata</i> , <i>Calliactis polypus</i> , <i>Corallium rubrum</i> , <i>Nemanthus annamensis</i> , <i>Palythoa variabilis</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
90	Sunagar, K., Columbus-Shenkar, Y.Y., Fridrich, A. <i>et al.</i> Cell type-specific expression profiling unravels the development and	<i>Nematostella vectensis</i>	Toxinas

evolution of stinging cells in sea anemone. *BMC Biol* 16, 108 (2018). <https://doi.org/10.1186/s12915-018-0578-4>

91	Veglia, A.J., Marine Genomics, https://doi.org/10.1016/j.margen.2018.08.003	<i>Agaricia lamarcki</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
92	Ying, H., Cooke, I., Sprungala, S. et al. Comparative genomics reveals the distinct evolutionary trajectories of the robust and complex coral lineages. <i>Genome Biol</i> 19, 175 (2018). https://doi.org/10.1186/s13059-018-1552-8	<i>Galaxea fascicularis</i> , <i>Fungia</i> sp. e <i>Goniastrea aspera</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
93	Yuyama, I., Ishikawa, M., Nozawa, M. et al. Transcriptomic changes with increasing algal symbiont reveal the detailed process underlying establishment of coral-algal symbiosis. <i>Sci Rep</i> 8, 16802 (2018). https://doi.org/10.1038/s41598-018-34575-5	<i>Acropora tenuis</i>	Simbiose
94	Chi, S.I., Dahl, M., Emblem, Å. et al. Giant group I intron in a mitochondrial genome is removed by RNA back-splicing. <i>BMC Molecular Biol</i> 20, 16 (2019). https://doi.org/10.1186/s12867-019-0134-y	<i>Ricordea yuma</i> e <i>Amplexidiscus fenestrafer</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
95	Conci Nicola, Wörheide Gert, Vargas Sergio. New Non-Bilaterian Transcriptomes Provide Novel Insights into the Evolution of Coral Skeletomes, <i>Genome Biology and Evolution</i> , Volume 11, Issue 11, November 2019, Pages 3068–3081, https://doi.org/10.1093/gbe/evz199	<i>Heliopora coerulea</i> , <i>Tubipora musica</i> , <i>Pinnigorgia flava</i> e <i>Sinularia cf. cruciata</i>	Calcificação e biomineralização
96	Davey, P.A., Rodrigues, M., Clarke, J.L. et al. Transcriptional characterisation of the <i>Exaiptasia pallida</i> pedal disc. <i>BMC Genomics</i> 20, 581 (2019). https://doi.org/10.1186/s12864-019-5917-5	<i>Exaiptasia pallida</i>	Desenvolvimento e gametogênese
97	Elnahriry, Khaled, Wai, Dorothy, Krishnarjuna, Bankala, Badawy, Noha, Chittoor, Balasubramanyam, MacRaid, Christopher, Williams-Noonan, Billy, Surm, Joachim, Chalmers, David, Zhang, Alan, Peigneur, Steve, Mobli, Mehdi, Tytgat, Jan, Prentis, Peter, & Norton, Raymond (2019) Structural and functional characterisation of a novel peptide from the Australian sea anemone <i>Actinia tenebrosa</i> . <i>Toxicon</i> , 168, 104-112.	<i>Actinia tenebrosa</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
98	Huang C, Leng D, Sun S, et al. (2019). Re-analysis of the coral <i>Acropora digitifera</i> transcriptome reveals a complex lncRNAs-mRNAs interaction network implicated	<i>Acropora digitifera</i>	Simbiose

in Symbiodinium infection. BMC Genomics 20, 48 (2019).
<https://doi.org/10.1186/s12864-019-5429-3>.

99	Jiang Justin B, Quattrini Andrea M, Francis Warren R, Ryan Joseph F, Rodríguez Estefanía,McFadden Catherine S. A hybrid de novo assembly of the sea pansy (<i>Renilla muelleri</i>) genome, GigaScience, Volume 8, Issue 4, April 2019, giz026, https://doi.org/10.1093/gigascience/giz026	<i>Renilla muelleri</i> e <i>Renilla. reniformis</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
100	Leach WB, Reitzel AM. Transcriptional remodelling upon light removal in a model cnidarian: Losses and gains in gene expression. Mol Ecol. 2019;00:1–14. https://doi.org/10.1111/mec.15163	<i>Nematostella vectensis</i>	Ritmos circadianos, relógio biológico
101	Levy Shani, Brekhman Vera, Bakhman Anna, Sebé-Pedrós Arnau, Kosloff Mickey, Lotan Tamar. Signaling via GABAB receptors regulates early development and neurogenesis in the basal metazoan <i>Nematostella vectensis</i> . bioRxiv 621060; doi: https://doi.org/10.1101/621060 .	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
102	Liao, Q., Gong, G., Poon, T.C.W. <i>et al.</i> Combined transcriptomic and proteomic analysis reveals a diversity of venom-related and toxin-like peptides expressed in the mat anemone <i>Zoanthus natalensis</i> (Cnidaria, Hexacorallia). <i>Arch Toxicol</i> 93, 1745–1767 (2019). https://doi.org/10.1007/s00204-019-02456-z	<i>Zoanthus natalensis</i>	Toxinas
103	Ramírez-Carreto, S.; Vera-Estrella, R.; Portillo-Bobadilla, T.; Licea-Navarro, A.; Bernaldez-Sarabia, J.; Rudiño-Piñera, E.; Verleyen, J.J.; Rodríguez, E.; Rodríguez-Almazán, C. Transcriptomic and Proteomic Analysis of the Tentacles and Mucus of <i>Anthopleura dowii</i> Verrill, 1869. <i>Mar. Drugs</i> 2019, 17, 436.	<i>Anthopleura dowii</i>	Toxinas
104	Rivera-García, et al., Marine Genomics, https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.04.001	<i>Briareum asbestinum</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
105	Roesel CL, Vollmer SV. Differential gene expression analysis of symbiotic and aposymbiotic <i>Exaiptasia</i> anemones under immune challenge with <i>Vibrio coralliilyticus</i> . Ecol Evol. 2019;9:8279–8293. https://doi.org/10.1002/ece3.5403	<i>Exaiptasia pallida</i>	Imunidade

106	Ryu Taewoo, Cho In-Young, Hwang Sung-Jin, Yum Seungshic, Kim Min-Seop, Woo Seonock. First transcriptome assembly of the temperate azooxanthellate octocoral <i>Eleutherobia rubra</i> , Marine Genomics, Volume 48, 2019, 100682, ISSN 1874-7787, https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.04.007 .	<i>Eleutherobia rubra</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
107	Ryu Taewoo, Cho Wonil, Yum Seungshic, Woo Seonock. Holobiont transcriptome of colonial scleractinian coral <i>Alveopora japonica</i> , Marine Genomics, Volume 43, 2019, 68-71, ISSN 1874-7787. https://doi.org/10.1016/j.margen.2018.07.003 .	<i>Alveopora japonica</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
108	Shumaker, A., Putnam, H.M., Qiu, H. <i>et al.</i> Genome analysis of the rice coral <i>Montipora capitata</i> . <i>Sci Rep</i> 9, 2571 (2019). https://doi.org/10.1038/s41598-019-39274-3	<i>Montipora capitata</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
109	Soares-Souza Giordano Bruno, Amaral Danielle, Torres André Q., Batista Daniela, Romão-Dumaresq Aline Silva et al.. Draft genome of the invasive coral <i>Tubastraea</i> sp.. bioRxiv 756999; doi: https://doi.org/10.1101/756999	<i>Tubastraea</i> sp.	Caracterização genômica e transcriptômica
110	Surm, JM, Smith, HL, Madio, B, et al. A process of convergent amplification and tissue-specific expression dominates the evolution of toxin and toxin-like genes in sea anemones. <i>Mol Ecol.</i> 2019; 28: 2272– 2289. https://doi.org/10.1111/mec.15084	<i>Acropora digitifera</i> , <i>Stylophora pistillata</i> , <i>Orbicella faveolata</i> , <i>Exaiptasia pallida</i> , <i>Actinia tenebrosa</i> , <i>Anthopleura buddemeieri</i> , <i>Aulactinia veratra</i> , <i>Telmatactis</i> sp., <i>Nemanthus annamensis</i> e <i>Nematostella vectensis</i> ,	Toxinas
111	Urbarova I, Forêt S, Dahl M, Emblem Å, Milazzo M, Hall-Spencer JM, et al. (2019) Ocean acidification at a coastal CO2 vent induces expression of stress-related transcripts and transposable elements in the sea anemone <i>Anemonia viridis</i> . <i>PLoS ONE</i> 14(5): e0210358. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0210358	<i>Anemonia viridis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Simbiose
112	Warner Jacob F, Amiel Aldine R., Johnston Hereroa, Röttinger Eric. Regeneration is a partial redeployment of the embryonic gene network. bioRxiv 658930; doi: https://doi.org/10.1101/658930 .	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
113	Yuan, X., Huang, H., Zhou, W. <i>et al.</i> Gene Expression Profiles of Two Coral Species with Varied Resistance to Ocean Acidification. <i>Mar Biotechnol</i> 21, 151–160 (2019). https://doi.org/10.1007/s10126-018-9864-y	<i>Acropora austera</i> e <i>Acropora cerealis</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse

	Zhou Zhi, Zhao Shuimiao, Tang Jia, Liu Zhaoqun, Wu Yibo, Wang Yan, Lin Senjie. Altered Immune Landscape and Disrupted Coral-Symbiodinium Symbiosis in the Scleractinian Coral <i>Pocillopora damicornis</i> by <i>Vibrio coralliilyticus</i> Challenge, <i>Frontiers in Physiology</i> , VOLUME=10, 2019, 366. DOI=10.3389/fphys.2019.00366.	<i>Pocillopora damicornis</i>	Imunidade
114	Bagaeva Tatiana, Aman Andrew J. , Graf Thomas, Niedermoser Isabell, Zimmermann Bob, Kraus Yulia, et al.. β -catenin dependent axial patterning in Cnidaria and Bilateria uses similar regulatory logic. <i>bioRxiv</i> 2020.09.08.287821; doi: https://doi.org/10.1101/2020.09.08.287821 .	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
115	Chiu, YL., Shikina, S., Yoshioka, Y. <i>et al.</i> De novo transcriptome assembly from the gonads of a scleractinian coral, <i>Euphyllia ancora</i> : molecular mechanisms underlying scleractinian gametogenesis. <i>BMC Genomics</i> 21, 732 (2020). https://doi.org/10.1186/s12864-020-07113-9	<i>Euphyllia ancora</i>	Desenvolvimento e gametogênese
116	Chuang, PS., Mitarai, S. Signaling pathways in the coral polyp bail-out response. <i>Coral Reefs</i> 39, 1535–1548 (2020). https://doi.org/10.1007/s00338-020-01983-x	<i>Pocillopora acuta</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
117	Gahan James, Kouzel M, Ivan U, Rentzsch Fabian. Histone demethylase Lsd1 is required for the differentiation of neural cells in the cnidarian <i>Nematostella vectensis</i> . <i>bioRxiv</i> 2020.09.07.285577; doi: https://doi.org/10.1101/2020.09.07.285577	<i>Nematostella vectensis</i>	Desenvolvimento e gametogênese
118	Klompfen AML, Macrander J, Reitzel AM, Stampar SN (2020). Transcriptomic Analysis of Four Cerianthid (Cnidaria, Ceriantharia) Venoms. <i>Mar Drugs</i> , 18(8): E413.	<i>Pachycerianthus borealis</i> , <i>Pachycerianthus cf. maua</i> <i>Ceriantheomorphe brasiliensis</i> e <i>Isarachnanthus nocturnus</i>	Toxinas
119			

Krantz J., Marymegan D, Macrander J (2020). Identifying Convergence of ShK Toxins in Sea Anemones. URI: <http://hdl.handle.net/11416/513>.

Edwardsiella elegans, *Stomplia coccinea*, *Epiactis prolifera*, *Actinia equina*, *Anemonia sulcata*, *Condylactis gigantea*, *Bunodosoma cavernata*, *Anthopleura elegantissima*, *Heteractis crispa*, *Entacmaea quadricolor*, *Macroactylia doreensis*, *Bartholomea annulata*, *Exaiptasia pallida*, *Calliactis polypus*, *Andvakia discipulorum*, *Haloclava producta*, *Metridium senile*, *Diadumene leucolea*, *Diadumene lineata*, *Bunodeopsis globulifera*, *Lebrunia danae*, *Sagartia elegans* e *Traictis producta*

Toxinas

120

Leach, W.B., Reitzel, A.M. Decoupling behavioral and transcriptional responses to color in an eyeless cnidarian. *BMC Genomics* 21, 361 (2020). <https://doi.org/10.1186/s12864-020-6766-y>

Nematostella vectensis

Ritmos circadianos, relógio biológico

121

122 Li Minli , Genomics, <https://doi.org/10.1016/j.ygeno.2020.10.019>

Acropora sp.

Simbiose

Mitchell, M.L., Tonkin-Hill, G.Q., Morales, R.A.V. *et al.* Tentacle Transcriptomes of the Speckled Anemone (Actiniaria: Actiniidae: *Oulactis* sp.): Venom-Related Components and Their Domain Structure. *Mar Biotechnol* 22, 207–219 (2020). <https://doi.org/10.1007/s10126-020-09945-8>

Oulactis sp.

Toxinas

123

124	Ngugi David K., Ziegler Maren, Duarte Carlos M., Voolstra Christian R.. Genomic Blueprint of Glycine Betaine Metabolism in Coral Metaorganisms and Their Contribution to Reef Nitrogen Budgets, Science, Volume 23, Issue 5, 2020, 101120, ISSN 2589-0042, https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101120 .	<i>Acanthastrea echinata</i> , <i>Diploastrea heliopora</i> , <i>Fungia</i> sp., <i>Galaxea fascicularis</i> , <i>Mycedium elephantotus</i> , <i>Pavona varians</i> , <i>Plerogyra sinuosa</i> , <i>Pocillopora verrucosa</i> , <i>Porites lutea</i> , <i>Stylophora pistillata</i> , <i>Xenia</i> sp. e <i>Exaiptasia</i> sp.	Calcificação e biomineralização
125	Quek RZB, Jain SS, Neo ML, Rouse GW, Huang D. Transcriptome-based target-enrichment baits for stony corals (Cnidaria: Anthozoa: Scleractinia). Mol Ecol Resour. 2020;20:807–818. https://doi.org/10.1111/1755-0998.13150	<i>Cyphastrea serailia</i> , <i>Diploastrea heliopora</i> , <i>Dipsastraea maxima</i> , <i>Goniastrea retiformis</i> , <i>Herpolitha limax</i> , <i>Lobophyllia radians</i> , <i>Oulastrea crispata</i> , <i>Platygyra sinensis</i> , <i>Plesiastrea versipora</i> , <i>Pocillopora acuta</i> , <i>Acropora aspera</i> , <i>Astreopora expansa</i> , <i>Fimbriaphyllia ancora</i> , <i>Galaxea astreata</i> , <i>Goniopora lobata</i> , <i>Pachyseris speciosa</i> , <i>Porites lobata</i> , <i>Turbinaria mesenterina</i> , <i>Rhodactis inchoata</i> e <i>Rhodactis indosinensis</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
126	Richards Zoe T., Carvajal Jose I. , Wallace Carden C. , Wilson Nerida G. Phylotranscriptomics confirms Alveopora is sister to Montipora within the family Acroporidae, Marine Genomics, Volume 50, 2020, 100703, ISSN 1874-7787, https://doi.org/10.1016/j.margen.2019.100703 .	<i>Alveopora japonica</i>	Filogenia, Taxonomia e evolução
127	Sachkova Maria Y., Landau Morani, Surm Joachim M., Macrander Jason, Singer Shir, Reitzel Adam M., Moran Yehu. Toxin-like neuropeptides in the sea anemone Nematostella unravel recruitment from the nervous system to venom. bioRxiv 2020.05.28.121442; doi: https://doi.org/10.1101/2020.05.28.121442 .	<i>Nematostella vectensis</i>	Toxinas
128	Seneca, F., Davtian, D., Boyer, L. <i>et al.</i> Gene expression kinetics of <i>Exaiptasia pallida</i> innate immune response to <i>Vibrio parahaemolyticus</i> infection. BMC Genomics 21, 768 (2020). https://doi.org/10.1186/s12864-020-07140-6	<i>Exaiptasia pallida</i>	Imunidade

129	Shikina S, Chen C-C, Chiu Y-L, Tsai P-H, Chang C-F. 2020 Apoptosis in gonadal somatic cells of scleractinian corals: implications of structural adjustments for gamete production and release. Proc. R. Soc. B 287: 20200578. http://dx.doi.org/10.1098/rspb.2020.0578	<i>Euphyllia ancora</i>	Desenvolvimento e gametogênese
130	Shikina, S., Chiu, YL., Zhang, Y. <i>et al.</i> Involvement of GLWamide neuropeptides in polyp contraction of the adult stony coral <i>Euphyllia ancora</i> . <i>Sci Rep</i> 10, 9427 (2020). https://doi.org/10.1038/s41598-020-66438-3	<i>Euphyllia ancora</i>	Toxinas
131	Shinzato C, Khalturin K, Inoue J, Zayasu Y, Kanda M, Kawamitsu M, Yoshioka Y, Yamashita H, Suzuki G, Satoh N (2020). Eighteen coral genomes reveal the evolutionary origin of Acropora strategies to accommodate environmental changes. Mol Biol Evol. 2020 Sep 2;msaa216. doi: 10.1093/molbev/msaa216. Epub ahead of print. PMID: 32877528.	<i>Acropora acuminata, Acropora awi, Acropora cytherea, Acropora echinata, Acropora florida, Acropora gemmifera, Acropora hyacinthus, Acropora intermedia, Acropora microphthalma, Acropora muricata, Acropora nasa, Acropora selago, Acropora tenuis, Acropora yongei, Astreopora myriophthalma, Montipora cactus e Montipora efflorescens</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse
132	Tong H, Zhou G, Zhang F, Sun J, Zhang W, Huang H, Qian PJ (2020). Nutrient gradients simulate different adjustments of coral-algal symbiosis. DOI: 10.21203/rs.3.rs-17147/v1.	<i>Pocillopora damicornis</i>	Simbiose
133	Tournière Océane, Dolan David, Richards Gemma Sian, Sunagar Kartik, Columbus-Shenkar Yaara Y. , Moran Yehu, Rentzsch Fabian. NvPOU4/Brain3 Functions as a Terminal Selector Gene in the Nervous System of the Cnidarian <i>Nematostella vectensis</i> , Cell Reports, Volume 30, Issue 13, 2020, 4473-4489.e5, ISSN 2211-1247, https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.03.031 .	<i>Nematostella vectensis</i>	Caracterização genômica e transcriptômica
134	Vidal-Dupiol Jeremie, Chaparro Cristian, Pratlong Marine, Pontarotti Pierre, Grunau Christoph, Mitta Guillaume. Sequencing, de novo assembly and annotation of the genome of the scleractinian coral, <i>Pocillopora acuta</i> . bioRxiv 698688; doi: https://doi.org/10.1101/698688	<i>Pocillopora acuta</i>	Caracterização genômica e transcriptômica

135	Vargas S, Zimmer T, Conci N, Lehmann M, Wörheide G (2020). Resilience to climate change in an octocoral involves the transcriptional decoupling of the calcification and stress response toolkits. bioRxiv 2020.07.15.202069; doi: https://doi.org/10.1101/2020.07.15.202069.	<i>Pinnigorgia flava</i>	Respostas a alterações (naturais ou experimentais) e estresse; Calcificação e biomineralização
136	Walters BM, Connelly MT, Young B and Traylor-Knowles N (2020) The Complicated Evolutionary Diversification of the Mpeg-1/Perforin-2 Family in Cnidarians. Front. Immunol. 11:1690. doi: 10.3389/fimmu.2020.01690	<i>Renilla reniformis</i>, <i>Amplexidiscus fenestrafer</i>, <i>Discosoma sp.</i>, <i>Nematostella vectensis</i>, <i>Exaiptasia pallida</i>, <i>Acropora palmata</i>, <i>Acropora cervicornis</i>, <i>Acropora digitifera</i>, <i>Acropora millepora</i>, <i>Acropora tenuis</i>, <i>Galaxea fascicularis</i>, <i>Stylophora pistillata</i>, <i>Pocillopora damicornis</i>, <i>Goniastrea aspera</i>, <i>Montastrea cavernosa</i> e <i>Porites lutea</i>	Imunidade