

RESUMEN

Autor [Salavarría Palma, E.A.](#)
Autor corporativo [Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima \(Peru\). Escuela de Posgrado, Doctorado en Ciencias e Ingeniería Biológicas](#)
Título [Comparación de transcriptoma global de *Macrocystis pyrifera* \(Laminariales\) en la zona intermareal y submareal. San Juan de Marcona. Ica. Perú](#)
Impreso Lima : UNALM, 2018

Copias

Ubicación	Código	Estado
Sala Tesis	M40. S3 - T	USO EN SALA
Descripción	168 p. : 16 fig., 11 tablas, 326 ref. Incluye CD ROM	
Tesis	Tesis (Dr Ph)	
Bibliografía	Doctorado : Ciencias e Ingeniería Biológicas	
Sumario	Sumarios (En, Es)	
Materia	MACROCYSTIS PYRIFERA ALGAS MARINAS VARIACION GENETICA MARCADORES GENETICOS ADAPTACION ESTRES METODOS ESTADISTICAS EVALUACION PERU ALGAS PARDAS SAN JUAN DE MARCONA (DIST) ICA (DPTO)	
Nº estándar	PE2018000583 B / M EUVZ M40; F30	

La transcriptómica de macroalgas pardas para el estudio comparativo de los genes involucrados en su regulación bajo condiciones naturales de inmersión y emersión por efecto de las mareas, ha sido escasamente investigada. Debido a la importancia económica de *Macrocystis pyrifera* se caracterizó su transcriptoma global, mediante tecnología RNA seq (Illumina NextSeq 500), e identificó los genes que se expresan durante el estrés abiótico en condiciones intermareal y submareal para el análisis del mapa transcriptómico y las respuestas adaptativas frente a cambios tan variables de su entorno natural. Al mismo tiempo, para relacionar las variables ambientales, se realizó el análisis químico de las muestras de agua de mar colectadas en el área de estudio a 0 m (T2A) y 10 m de profundidad (T2B) o condición control. Se realizó análisis químicos proximales, como el rendimiento de la biomasa y gel de alginato de sodio extraído de plantas enteras de *Macrocystis pyrifera*, colectadas en San Juan de Marcona, centro de Perú; así como también se realizó pruebas de viscosidad para ambas profundidades. Además se realizaron análisis en Microcopia Electrónica de Barrido MEB en las muestras de las frondas colectadas para los estudios transcriptómicos y microanálisis de dispersión de energía EDX. El análisis de RNA-seq produjo 101,468 unigenes no redundantes con un promedio de 827pb. Se identificaron 30,559 transcritos funcionales con regiones codificantes (30.1%). Los transcritos fueron anotados usando la base de datos de NCBI y el programa BLAST 2.2.31, mediante la comparación con las secuencias de proteínas conocidas del alga parda *Ectocarpus siliculosus* con un E value <10⁻⁵ se obtuvo 96,997 unigenes. Se identificaron 34 unigenes para la síntesis de polisacáridos de pared. El análisis de ontología de genes identificó 9,331 genes y 8,429 unigenes involucrados en 50 vías metabólicas conocidas.

Basado en los valores obtenidos de la lectura por kilobase por millón (RPKM), se determinaron 9,519 (9.4%) unigenes expresados diferencialmente entre los tratamientos de 0 metros y 10 metros de profundidad; estos incluían 4,556 unigenes inducidos y 4,963 unigenes reprimidos, sugiriendo que existe expresión diferencial de genes asociados a condiciones de desecación. Al realizar la caracterización del perfil transcriptómico de *M. pyrifera* la respuesta, durante la desecación, consistió en la activación de las proteínas de tolerancia al estrés térmico; por ejemplo Heat shock protein (Hsp 70) y la represión de las vías de síntesis de acuaporinas. Al mismo tiempo, indujo una respuesta diferencial en los procesos de biosíntesis de polisacáridos de pared como el alginato; activó los sistemas de desintoxicación ROS como el Vanadio dependiente bromoperoxidasa y procesos metabólicos primarios como la producción de Piruvato fotosintético. Finalmente, observamos la presencia de importantes vías como L-ascorbato (Smirnoff-Wheeler pathway), síntesis de Aprataxina, fitohormonas y la represión de genes implicados en la asimilación de nitrógeno. Los análisis de la calidad de agua de mar coincidieron con los resultados obtenidos a nivel molecular y permitieron comparar información importante para comprender mejor la respuesta de *M. pyrifera* frente a condiciones de estrés. Los análisis químicos proximales, reportó mayor rendimiento del gel de alginato de sodio en el tratamiento T2B, esto concuerda con el perfil transcripcional de *M. pyrifera* en la condición de 10 metros de profundidad (T2B) en donde se halla una sobre expresión de los genes para la síntesis de alginatos. Al comparar la viscosidad de una muestra comercial de alginato de sodio marca Sigma-AldrichR con el tratamiento T2B, los resultados del alginato de sodio del Perú tienen una calidad equivalente al 50% en relación al alginato comercial, a una concentración del 70%. En los análisis de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB) de las muestras colectadas a 10 metros (T2B) se observó la presencia de polisacáridos en las paredes celulares, a manera de estructuras esponjosas. Los análisis de EDX, indican mayor porcentaje en la composición atómica y peso de elementos como carbono (C) en la pared celular, en relación al parénquima, en la condición T2B. El mapa transcriptómico de novo de *M. pyrifera* evidenció una amplia respuesta adaptativa frente a cambios tan variables a su entorno natural. Consecuentemente, *M. pyrifera*, presentó una gran capacidad de tolerancia a los efectos del estrés abiótico. La presencia de polisacáridos de pared, como el alginato de sodio, presentó un rol importante en la regulación iónica para la adaptación de *Macrocystis* al estrés por efecto de la desecación y en la respuesta al estrés en general.

Abstract

The transcriptomics of brown macroalgae for the comparative study of the genes involved in their regulation under natural conditions of immersion and emersion by the effect of the tides has been scarcely investigated. Due to the economic importance of *Macrocystis pyrifera*, its global transcriptome was characterized, using RNA seq technology (Illumina NextSeq 500), and identified the genes that are expressed during abiotic stress in intertidal and subtidal conditions for transcriptomic map analysis and adaptive responses in the face of such variable changes in its natural environment. At the same time, to relate the environmental variables, the chemical analysis of the seawater samples collected in the study area was carried out at 0 m (T2A) and 10 m deep (T2B) or control condition.

Proximal chemical analyzes were carried out, such as biomass yield and sodium alginate gel extracted from whole plants of *Macrocystis pyrifera*, collected in San Juan de Marcona, central Peru; as well as viscosity tests were carried out for both depths. In addition, scanning electron microbial MEB analyzes were performed on the samples of the fronds collected for transcriptomic studies and EDX energy dispersion microanalysis. The analysis of RNA-seq produced 101,468 non-redundant unigenes with an average of 827 bp. 30,559 functional transcripts with coding regions (30.1%) were identified. The transcripts were annotated using the NCBI database and the BLAST program 2.2.31, by comparing with the known protein sequences of the brown algae *Ectocarpus siliculosus* with an E value $<10^{-5}$, 96,997 unigenes were obtained. We identified 34 unigenes for the synthesis of wall polysaccharides. The gene ontology analysis identified 9,331 genes and 8,429 unigenes involved in 50 known metabolic pathways. Based on the values obtained from the reading per kilobase per million (RPKM), 9,519 (9.4%) unigenes differentially expressed between the treatments of 0 meters and 10 meters deep were determined; these included 4,556 induced unigenes and 4,963 repressed unigenes, suggesting that there is differential expression of genes associated with dry conditions. When carrying out the characterization of the transcriptomic profile of *M. pyrifera*, the response, during the desiccation, consisted in the activation of the thermal stress tolerance proteins; for example Heat shock protein (Hsp 90) and repression of aquaporin synthesis pathways. At the same time, it induced a differential response in the biosynthesis processes of wall polysaccharides such as alginate; Actactivated ROS detoxification systems such as the Vanadium-dependent bromoperoxidase and primary metabolic processes such as the production of photosynthetic pyruvate. Finally, we observed the presence of important pathways such as L-ascorbate (Smirnoff-Wheeler pathway), synthesis of Aprataxin, phytohormones and the repression of genes involved in the assimilation of nitrogen. Seawater quality analyzes coincided with the results obtained at the molecular level and allowed comparing important information to better understand the response of *M. pyrifera* to stress conditions. The proximal chemical analyzes reported higher performance of the sodium alginate gel in the T2B treatment, this agrees with the transcriptional profile of *M. pyrifera* in the condition of 10 meters of depth (T2B) where there is an over expression of the genes for the synthesis of alginates. When comparing the viscosity of a commercial sample of Sigma-Aldrich® brand sodium alginate with the T2B treatment, the results of the Peruvian alginate have a quality equivalent to 50% in relation to the commercial alginate, at a concentration of 70%. In the Scanning Electron Microscopy (SEM) analyzes of the samples collected at 10 meters (T2B), the presence of polysaccharides was observed in the cell walls, in the form of spongy structures. The EDX analyzes indicate a higher percentage of the atomic composition and weight of elements such as carbon (C) in the cell wall, in relation to the parenchyma, in the T2B condition. The de novo transcriptomic map of *M. pyrifera* showed a wide adaptive response to changes so variable in its natural environment. Consequently, *M. pyrifera* presented a great capacity for tolerance to the effects of abiotic stress. The presence of wall polysaccharides, such as sodium alginate, presented an

important role in the ionic regulation for the adaptation of *Macrocystis* to stress due to the effect of drying and in the response to stress in general.