



**Centro de Investigación y de Estudios Avanzados  
del Instituto Politécnico Nacional  
Unidad Mérida**

**Departamento de Recursos del Mar**

**Valoración nutracéutica de metabolitos con capacidad  
antioxidante en las macroalgas rojas *Solieria filiformis* y  
*Gracilaria cornea* bajo diferentes condiciones de luz en  
cultivo**

Tesis que presenta:

**Enrique Gilberto Zepeda Lupio**

Para obtener el grado de:

**Doctor en Ciencias**

En la especialidad de:

**Ciencias Marinas**

Director de la Tesis:

**Dr. Daniel Robledo Ramírez**

**Dra. Yolanda Freile Pelegrín**

## Resumen

Esta tesis doctoral exploró el efecto de la irradiancia y la calidad de luz sobre el crecimiento, la fotosíntesis, el perfil de pigmentos, la síntesis de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de extractos de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis*. Se encontró que la calidad de la luz puede estimular la síntesis de ciertos pigmentos y compuestos, y sugiere que la primera semana de cultivo suele ser el momento óptimo de cosecha en términos de biomasa, excepto cuando se utiliza luz azul. La combinación de luz blanca y azul promovió el crecimiento y la actividad antioxidante de los extractos de *G. cornea*, mientras que la luz blanca fue óptima para la síntesis de carotenoides y para la actividad antioxidante en extractos de *S. filiformis*. La luz verde aumentó la síntesis de clorofila *a* en *S. filiformis* y la producción de ficoeritrina y ficocianina en *G. cornea*. En general, se encontró que la intensidad de luz media ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) favoreció la síntesis de pigmentos, fenoles, aminoácidos tipo micosporina y carragenato en *S. filiformis*, mientras que la irradiancia baja ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) mejoró la fotosíntesis máxima, la cantidad de pigmentos y la capacidad antioxidante en *G. cornea*. En este estudio, se llevó a cabo una caracterización de las micosporinas en *S. filiformis* y se demostró que las diferentes condiciones de luz probadas pueden inducir la síntesis de estos antioxidantes. La irradiancia alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) aumentó la fotosíntesis máxima y la actividad antioxidante en *S. filiformis*. Además, se presentó el primer análisis transcriptómico de *S. filiformis* revelando que la irradiancia media con luz blanca (L350+B) y con adición de luz azul (L350+A) estimuló la expresión de genes importantes para la fotosíntesis, la producción de pigmentos y su capacidad antioxidante. El tratamiento L350+A indujo la mayoría de los genes que participan en la síntesis de carragenato. Los resultados sugieren que *S. filiformis* tiene una mayor capacidad de aclimatación y resistencia a factores abióticos, y que la irradiancia y la calidad de luz pueden desempeñar roles diferentes pero complementarios en la fisiología de *S. filiformis* y *G. cornea*, proporcionando información útil para la producción de biomasa y compuestos bioactivos.

## Abstract

This doctoral thesis examines how the irradiance and light quality impact the growth, photosynthesis, pigment profile, synthesis of bioactive compounds, and antioxidant activity of extracts from *Gracilaria cornea* and *Solieria filiformis*. The study discovered that light quality could stimulate the synthesis of certain pigments and compounds. The first week of cultivation was usually the best time for harvesting in terms of biomass, except when blue light was used. The combination of white and blue light promoted growth and antioxidant activity of *G. cornea* extracts, while white light was best for the synthesis of carotenoids and antioxidant inhibition capacity in *S. filiformis* extracts. Green light enhanced chlorophyll *a* synthesis in *S. filiformis* and production of phycobiliproteins (phycocyanin and phycoerythrin) in *G. cornea*. Overall, moderate light intensity ( $\sim 350 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) was favorable for pigments, phenols, mycosporine-like amino acids, and carrageenan synthesis in *S. filiformis*, while low irradiance ( $\sim 100 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) improved maximum photosynthesis, pigment content, and antioxidant capacity in *G. cornea*. This study also characterized mycosporines in *S. filiformis* and showed that this benthic alga can induce the synthesis of these antioxidants. High irradiance ( $\sim 700 \mu\text{mol photons m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) increased maximum photosynthesis and antioxidant activity in *S. filiformis*. Additionally, this first transcriptomic analysis of *S. filiformis* showed that moderate irradiance with white light (L350+B) and blue light addition (L350+A) induced essential genes for photosynthesis, pigment production, and the antioxidant system. The L350+A treatment stimulates most of the genes involved in carrageenan synthesis. Results also indicate that *S. filiformis* is highly adaptable and resilient to biotic and abiotic factors. Irradiance and light quality had different but complementary roles in the physiology of the edible seaweeds *S. filiformis* and *G. cornea*, providing valuable information for producing biomass and bioactive compounds.

## Agradecimientos

A mis directores de tesis, Dr. Daniel Robledo y Dra. Yolanda Freile, por confiar y creer en mí, por siempre permitirme dar más de lo que pensaba que podía lograr. Por las frecuentes juntas, las pláticas, el aprendizaje, por ser un gran apoyo y los facilitadores para llevar a cabo lo que les proponía, concluyendo en reforzar mi pasión por el mundo de las macroalgas. A mi comité de tesis: Dr. José Quinatzín García Maldonado, Dr. Miguel Ángel Olvera Novoa, Dr. José Iván Velázquez Abunader y Dr. Félix Diego López Figueroa (Universidad de Málaga) por sus consejos a lo largo de este trabajo de tesis, lo que permitió un trabajo más fino. Al CONACYT por otorgar una beca con CVU 615458 para lograr la obtención del grado de Doctor en Ciencias Marinas en el CINVESTAV Unidad Mérida. Al Departamento de Recursos del Mar por aceptarme en el programa de Doctorado.

A la Dra. Nathalie Bourgougnon que me recibió en el LBCM en la Université Bretagne Sud en la ciudad de Vannes, Francia para una estancia de investigación. Por su apoyo desde mi llegada a la ciudad y al laboratorio, por facilitarme lo que necesitaba para realizar mi trabajo e invitarme a participar en los eventos de su laboratorio. También por sus charlas acerca del cine francés y sus recomendaciones. Al Dr. Gilles Bedoux y Dr. Kevin Hardouin por su asesoramiento en el análisis e identificación de las micosporinas. Al Dr. Hugo Pliego por su ayuda en la manipulación del HPLC, tanto en el análisis de pigmentos como de micosporinas y por las conversaciones en español a lo largo de mis tres meses de estancia.

A ISblue project, Interdisciplinary graduate school for the blue planet (ANR-17-EURE-0015) y al gobierno francés por la beca recibida en el programa “Investissements d’Avenir” bajo Francia 2030 para solventar los gastos durante mi estadía en Vannes. Al programa de Becas Elisa Acuña del CINVESTAV por la oportunidad de participar en uno de los congresos más importantes (ISS2019) de mi área en la ciudad de Jeju, Corea del Sur.

A todos los colegas de laboratorio en la UBS, Francia; Dra. Silke Lehmann por sus sugerencias en el laboratorio y por las charlas en la oficina. A la Dra. Laura Rieusset por su apoyo en el HPLC con las muestras de MAAs y el posterior procesamiento de los datos. A Mélanie Lebon y Mathilde Lesgourgues por apoyarme con los espacios y el material del laboratorio. A todos los anteriores por tolerar mi “manera de ser extrovertida” en el laboratorio. A mis colegas de laboratorio en CINVESTAV: Erika Vázquez y Román Vázquez por su apoyo en laboratorio, la escritura de esta tesis y de los artículos, además por las largas pláticas acerca de política, películas, vida diaria, etc. en la sala de estudiantes y en las salidas a campo. A mis dos compañeros de doctorado: Adrián Fagundo y

Montserrat López y a las excompañeras: Ana Peñuela y Rayo. A Paulina Ortega de CIBNOR por compartir tiempo en el laboratorio y por sus consejos para el viaje a Francia.

A mi buen amigo Erik Díaz por estar siempre ahí, por su apoyo en el análisis transcriptómico de esta tesis y por las incontables reuniones para finiquitar este trabajo. Gracias por las pláticas largas y tendidas de películas, videojuegos, música, etc. A la Tec. Lab. Guadalupe Mireles, del Laboratorio de Servicios Genómicos del LANGEBIO por la secuenciación de RNA de mis muestras y por las facilidades para la manipulación y recolección de los datos.

A la Q.I. Crescencia Chávez por su apoyo en el Laboratorio de Ficología Aplicada y Ficoquímica Marina con el análisis de polisacáridos, por enseñarme las técnicas de extracción de pigmentos y por la liofilización del material procesado durante mi estancia. Al Dr. Edgar Caamal por ayudarme con los análisis antioxidantes de las muestras. Al técnico Víctor Ávila por su apoyo en la elaboración de los sistemas de cultivo y el mantenimiento de las algas, principalmente en tiempos de pandemia.

A Mercedes Quintanilla, Alejandra Cañizares y Carlos Puch del Laboratorio de Ecotoxicología Acuática por su apoyo en la extracción de RNA y todo lo que conlleva. Gracias por las clases personales en el laboratorio y por la ayuda en la gestión del envío de las muestras para la secuenciación, que tantos dolores de cabeza dio. A Alonso de la Garza por apoyarme en su laboratorio con las primeras pruebas de extracción de RNA. Al Q. César Puerto, técnico del Laboratorio de Nutrición Acuícola por su apoyo en el análisis de carbono/nitrógeno.

A Marisa Baqueiro, Mireya Montero y Soledad Teudosio por el apoyo en todo lo referente a burocracia y papeleo de salidas de campo, becas, inscripciones, etc.

A Miguel Sandoval (Asher), Christian Rodríguez (Folkensio), Sergio Del Valle (Tierra), Manuel Tenedor y Adrián Estrada (Adro) por tanto tiempo de diversión, risas, videojuegos y por acompañarme de fondo en el tiempo de escritura de esta tesis. Fun Allowed!

A mi familia que siempre ha apoyado mi carrera profesional y mi estancia en Mérida para la obtención de este nuevo logro. A mi compañera de vida, Gabriela Huerta, por su apoyo, paciencia y cariño a lo largo de estos años de trabajo de tesis. Gracias por estar conmigo y por compartir tantos momentos.

**Dedicatoria**



Para Gabi

# Contenido

Resumen .....	ii
Abstract .....	iii
Agradecimientos.....	iv
Lista de tablas.....	x
Lista de figuras .....	xi
<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....</b>	<b>1</b>
1.1 Importancia económica y compuestos químicos de las macroalgas .....	2
1.1.1 Polisacáridos .....	2
1.1.2 Compuestos fenólicos.....	3
1.1.3 Aminoácidos tipo micosporina.....	4
1.1.4 Pigmentos .....	4
1.2 Estrés oxidativo y bioactividad de los compuestos macroalgales .....	10
1.3 Importancia de las algas rojas .....	12
1.4 Análisis transcriptómico como herramienta para el conocimiento biológico .....	13
1.5 Descripción de especies de estudio: <i>Solieria filiformis</i> y <i>Gracilaria cornea</i> .....	16
<b>2. ANTECEDENTES .....</b>	<b>18</b>
2.1 Influencia de la luz en la síntesis de metabolitos en algas rojas.....	18
2.1.1 Irradiancia .....	18
2.1.2 Calidad de luz .....	19
2.2 Caracterización transcriptómica de algas rojas bajo inducción lumínica.....	21
<b>3. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>23</b>
<b>4. HIPÓTESIS.....</b>	<b>25</b>
<b>5. OBJETIVOS .....</b>	<b>25</b>
5.1 Objetivo general .....	26
5.2 Objetivos específicos .....	26
<b>6. CAPÍTULO I. Evaluación del efecto de la calidad de luz en el crecimiento, el perfil de pigmentos y la actividad antioxidante de <i>Solieria filiformis</i> y <i>Gracilaria cornea</i> (Rhodophyta) .....</b>	<b>27</b>
6.1 Introducción.....	27
6.2 Materiales y métodos .....	29

6.2.1	Diseño experimental .....	29
6.2.2	Tasa de crecimiento.....	31
6.2.3	Análisis de pigmentos.....	31
6.2.4	Análisis de carbono y nitrógeno total.....	32
6.2.5	Actividad antioxidante .....	32
6.2.6	Análisis estadístico.....	33
6.3	Resultados.....	33
6.3.1	Tasa de crecimiento.....	33
6.3.2	Análisis de pigmentos.....	34
6.3.3	Análisis de C: N .....	35
6.3.4	Actividad antioxidante .....	37
6.4	Discusión .....	37
6.5	Conclusiones .....	42
<b>7.</b>	<b>CAPÍTULO II. Evaluación del efecto de la irradiancia y la calidad de luz en los parámetros fisiológicos, bioquímicos y antioxidantes de <i>Gracilaria cornea</i> y <i>Solieria filiformis</i> .....</b>	<b>44</b>
7.1	Introducción.....	45
7.2	Materiales y métodos .....	47
7.2.1	Diseño experimental .....	48
7.2.2	Fisiología algal .....	51
7.2.3	Análisis de pigmentos.....	53
7.2.4	Contenido de C y N .....	54
7.2.5	Análisis de fenoles .....	54
7.2.6	Capacidad antioxidante .....	55
7.2.7	Análisis de micosporinas .....	56
7.2.8	Análisis químico de polisacáridos.....	57
7.2.9	Análisis estadístico.....	58
7.3	Resultados.....	59
7.3.1	Fisiología algal .....	59
7.3.2	Contenido de pigmentos .....	62
7.3.3	Contenido de C y N .....	66
7.3.4	Contenido de fenoles .....	66
7.3.5	Capacidad antioxidante .....	67
7.3.6	Contenido de micosporinas .....	70
7.3.7	Análisis químico de polisacáridos.....	72
7.4	Discusión .....	73
7.4.1	Fisiología algal y fotosíntesis .....	73
7.4.2	Sistema antioxidante.....	80
7.4.3	Síntesis de polisacáridos.....	83
7.5	Conclusiones .....	86



<b>8. CAPÍTULO III. Identificación de cambios transcriptómicos, genes responsivos y rutas específicas de transducción en la síntesis de pigmentos y otros productos con capacidad antioxidante en <i>S. filiformis</i> en respuesta a inducción lumínica .....</b>	<b>87</b>
8.1 Introducción.....	87
8.2 Materiales y métodos .....	90
8.2.1 Diseño experimental .....	90
8.2.2 Extracción de RNA, preparación de librerías y secuenciación .....	90
8.2.3 Bioinformática – Ensamble <i>de novo</i> y anotación funcional.....	91
8.2.4 Mapeo de lecturas, cuantificación de abundancia de transcritos y análisis de expresión diferencial .....	92
8.2.5 Análisis estadístico de los resultados transcriptómicos .....	93
8.3 Resultados.....	93
8.3.1 Perfil general transcriptómico en respuesta a la irradiancia y la calidad de luz.....	93
8.3.2 Funciones biológicas enriquecidas asociadas a la respuesta de los tratamientos lumínicos	97
8.3.3 Análisis metabólico y transcriptómico general de <i>S. filiformis</i> en respuesta a los tratamientos lumínicos.....	99
8.3.4 Respuesta fotosintética a la irradiancia y la calidad de luz .....	101
8.3.5 Respuesta antioxidante a la irradiancia y la calidad de luz .....	102
8.3.6 Modulación de la síntesis de polisacáridos por la irradiancia y la calidad de luz .....	103
8.4 Discusión .....	103
8.4.1 Efecto de las condiciones de luz en el aparato fotosintético y los pigmentos.....	106
8.4.2 Efecto de las condiciones de luz en el sistema antioxidante .....	107
8.4.3 Efecto de las condiciones de luz en la producción de carragenato .....	108
8.5 Conclusiones .....	109
<b>9. CONCLUSIÓN GENERAL .....</b>	<b>110</b>
<b>10. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>113</b>
<b>11. APÉNDICES .....</b>	<b>133</b>

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Principales pigmentos en los grupos de macroalgas.....	5
<b>Tabla 2.</b> Coloración de ficobiliproteínas en algas rojas. Modificado de Bryant (1982). .....	8
<b>Tabla 3.</b> Composición de pigmentos y relación C: N de <i>Solieria filiformis</i> (Sf) y <i>Gracilaria cornea</i> (Gc) bajo el efecto individual de la calidad de luz blanca (LB), azul (LA), verde (LV) y roja (LR) durante el experimento.....	36
<b>Tabla 4.</b> Composición de pigmentos y relación C: N de <i>Solieria filiformis</i> (Sf) y <i>Gracilaria cornea</i> (Gc) bajo el efecto combinado de luz blanca + azul (LB+A) durante el experimento. ....	36
<b>Tabla 5.</b> Capacidad antioxidante de <i>Solieria filiformis</i> y <i>Gracilaria cornea</i> presentada como porcentaje de inhibición con DPPH y ABTS tras el efecto individual de la calidad de luz (blanca, LB; azul, LA; verde, LV; roja, LR) y la combinación de luz blanca + azul (LB+A) en el día 21 de experimentación.....	37
<b>Tabla 6.</b> Gradiente de solventes en HPLC para análisis de pigmentos. (A) acetato de amonio (175 g L <sup>-1</sup> ), (B) metanol, (C) acetonitrilo, (D) acetato de etilo. ....	54
<b>Tabla 7.</b> Gradiente de solventes en HPLC para análisis de micospoínas. (A) agua Milli-Q con ácido acético 1%, (B) metanol 100%. ....	57
<b>Tabla 8.</b> Descriptores fotosintéticos obtenidos a partir de las curvas P-I en los talos de <i>Gracilaria cornea</i> (Gc) y <i>Solieria filiformis</i> (Sf) expuestas a la irradiancia control (C100) en T0 y luz blanca a 700 $\mu\text{mol fotonos m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (L700, aclimatación) en T1.....	61
<b>Tabla 9.</b> Resultados de respiración medida después de la exposición de luz en los talos de <i>Gracilaria cornea</i> y <i>Solieria filiformis</i> en los tratamientos a lo largo del tiempo de cultivo. ....	61
<b>Tabla 10.</b> Contenido de ficocianina (Fc), luteína (Lut), zeaxantina (Zea), $\beta$ - caroteno ( $\beta$ -car) y relación Chl a/Fe de <i>Gracilaria cornea</i> (Gc) y <i>Solieria filiformis</i> (Sf) en los tratamientos experimentales en las diferentes condiciones de luz.....	64
<b>Tabla 11.</b> Contenido de carbono, nitrógeno y relación C: N de <i>Gracilaria cornea</i> y <i>Solieria filiformis</i> en los tratamientos experimentales en las diferentes condiciones de luz. ....	66
<b>Tabla 12.</b> Controles BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado) y estándar de clorofila a resuspendidos en metanol; R-Ficoeritrina y C-Ficocianina en buffer de fosfatos. ....	70
<b>Tabla 13.</b> Tiempo de retención y absorbancias máximas de los seis picos de micospoínas identificados por HPLC a 334 nm en <i>Solieria filiformis</i> . ....	71
<b>Tabla 14.</b> Diseño del experimento de secuenciación por síntesis (2x150) en <i>Solieria filiformis</i> . ....	91

## Lista de figuras

<b>Figura 1.</b> Estructura química de la clorofila <i>a</i> .....	6
<b>Figura 2.</b> Estructura química de la astaxantina .....	7
<b>Figura 3.</b> Estructura química del $\beta$ -caroteno .....	7
<b>Figura 4.</b> Estructura de la R-ficocianina. Tomada de Dumay et al. (2014).....	9
<b>Figura 5.</b> Estructura de la R-ficoeritrina. Tomada de Dumay et al. (2014).....	10
<b>Figura 6.</b> Método general para los análisis de transcriptómica – modificado de Beaulieu (2019). ....	15
<b>Figura 7.</b> <i>Solieria filiformis</i> (Foto Enrique Zepeda). ....	16
<b>Figura 8.</b> <i>Gracilaria cornea</i> (Foto Enrique Zepeda).....	17
<b>Figura 9.</b> Diseño experimental para los tratamientos de luz individual (A) y combinación de luz (B). Morfología de los especímenes utilizados en ambos experimentos (C): <i>Gracilaria cornea</i> (imagen superior) y <i>Solieria filiformis</i> (imagen inferior). Diseño y funcionamiento de los biorreactores embebidos en el bloque de poliestireno para regular la temperatura y la luz (D).....	30
<b>Figura 10.</b> Tasa de crecimiento diario de <i>S. filiformis</i> (A) y <i>G. cornea</i> (B) expuestas al efecto individual de luz (n = 5) blanca (LB), azul (LA), verde (LV), roja (LR) y a la combinación de luz blanca + azul (n = 7) (LB+A) durante las tres semanas de cultivo.....	34
<b>Figura 11.</b> Espectros de absorción de las lámparas utilizadas en el experimento.....	49
<b>Figura 12.</b> Eficiencia fotoquímica máxima en el periodo de mantenimiento (control) a una irradiancia de 100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ en <i>Gracilaria cornea</i> (A) y <i>Solieria filiformis</i> (B).....	50
<b>Figura 13.</b> Montaje experimental para el sistema de biorreactores utilizado en los ensayos con diferentes condiciones de luz del capítulo II.....	50
<b>Figura 14.</b> Diseño experimental de <i>Gracilaria cornea</i> y <i>Solieria filiformis</i> con los cinco tratamientos experimentales. ....	51
<b>Figura 15.</b> Curvas P-I de <i>Solieria filiformis</i> y <i>Gracilaria cornea</i> en la condición inicial (control – 100 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) e irradiancia de 700 $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ (L700+B) en período de aclimatación. ....	59
<b>Figura 16.</b> Fotosíntesis máxima ( $F_{\text{max}}$ ) en barras grises y eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) en diagrama de puntos de <i>Gracilaria cornea</i> (A) y <i>Solieria filiformis</i> (B) expuesta a diferentes condiciones de luz. ....	62
<b>Figura 17.</b> Contenido de ficoeritrina, clorofila <i>a</i> y carotenoides totales de <i>Gracilaria cornea</i> (A) y <i>Solieria filiformis</i> (B) en las diferentes condiciones de luz en cultivo. ....	63

<b>Figura 18.</b> Espectros de absorción del extracto acetónico (A) y de buffer de fosfatos en <i>Gracilaria cornea</i> (izquierda) y <i>Solieria filiformis</i> (derecha) bajo las condiciones de cultivo experimentales. ....	65
<b>Figura 19.</b> Capacidad antioxidante de los extractos metánolicos de <i>Gracilaria cornea</i> (A) y <i>Solieria filiformis</i> (B) en los tratamientos experimentales; contenido total de fenoles en barras grises y ABTS en diagrama de puntos (arriba); FRAP (medio); DPPH (abajo). ....	67
<b>Figura 20.</b> Capacidad antioxidante de los extractos con buffer de fosfatos en <i>Gracilaria cornea</i> (A) y <i>Solieria filiformis</i> (B) en los tratamientos experimentales; contenido de ficoeritrina en barras grises y FRAP en diagrama de puntos (arriba); ABTS (medio); DPPH (abajo). ....	69
<b>Figura 21.</b> Cromatograma de HPLC de las micosporinas identificadas a 334 nm. ....	71
<b>Figura 22.</b> Contenido de los aminoácidos tipo micosporinas de <i>Solieria filiformis</i> : palythine, asterine y shinorine en los tratamientos de luz experimental. ....	72
<b>Figura 23.</b> Rendimiento de agar en <i>Gracilaria cornea</i> (A) y de carragenato en <i>Solieria filiformis</i> (B) y sus correspondientes contenidos de 3,6 anhidrogalactosa (3,6 AG) y sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ). ....	73
<b>Figura 24.</b> El análisis transcripcional del genoma completo de <i>Solieria filiformis</i> reveló un papel significativo tanto de la irradiancia como la calidad de luz en los cambios en la abundancia de transcritos. ....	95
<b>Figura 25.</b> Los genes asociados con procesos biológicos enriquecidos en <i>Solieria filiformis</i> exhiben patrones de agrupamiento claros. ....	98
<b>Figura 26.</b> Los genes anotados con función específica muestran una clara respuesta de <i>Solieria filiformis</i> a la irradiancia y calidad de luz. ....	100

# 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

Las algas son organismos fotosintéticos polifiléticos que habitan una gran variedad de ecosistemas alrededor del mundo, tanto en cuerpos de agua dulce como salada. El término alga se refiere tanto a las macroalgas como a los organismos microscópicos conocidos como microalgas (Barsanti y Gualtieri, 2014). Presentan una gran variedad de tamaños, desde el picoplancton que mide de 0.2 a 2  $\mu\text{m}$  hasta los 'kelp' gigantes de hasta 60 m de longitud. La infinidad de orígenes evolutivos, tanto en algas procariotas y eucariotas ha generado una amplia diversidad de estructuras celulares, niveles de organización e historias de vida, morfologías, pigmentos fotosintéticos y sustancias de reserva. Las algas representan la producción primaria en el océano, se encargan de producir una gran parte del oxígeno en el planeta y son alimento del zooplancton (p.e. rotíferos, copépodos, artemia), de algunas larvas de peces, de moluscos y equinodermos, beneficiando en última instancia a los depredadores tope (Brodie y Lewis, 2007).

La clasificación de las algas ha cambiado a lo largo de los últimos 30 años en gran medida por los estudios de filogenética molecular, por ello, no existe un esquema de clasificación universal aceptado por la mayoría de los ficólogos y con base en la clasificación propuesta se pueden agrupar de cinco a 16 divisiones. Los grupos principales se dividen por la naturaleza química de sus productos fotosintéticos, por la estructura química de su pared celular o con base a su pigmentación. De acuerdo con lo anterior, se clasifican en tres grupos principales (Guiry, 2012): Chlorophyta (algas verdes), Ochrophyta (algas cafés) y Rhodophyta (algas rojas).

Las macroalgas componen la mayor fracción de biomasa en ecosistemas costeros, tienen un rol ecológico muy importante, ya que algunas especies son hábitat y sustrato de una gran cantidad de peces e invertebrados (Graham et al., 2007). Además, protegen la línea de costa de los fenómenos de erosión y juegan un papel importante en el ciclo de carbono en el océano (Vásquez et al., 2014). Aunado a su importancia ecológica, las algas son consumidas como alimento alrededor del mundo.

*Porphyra/Pyropia* (nori) es utilizada en Japón en la preparación de sushi y *Undaria pinnatifida* (wakame) en ensaladas y sopas (Yamanaka y Akiyama, 1993). En Irlanda es común el consumo de *Palmaria palmata* (dulce) y en Chile de *Durvillaea antarctica* o cochayuyo (Brodie y Lewis, 2007) debido a que son una fuente importante de proteínas, lípidos, minerales y vitaminas (Gupta y Abu-Ghannam, 2011). Por último, *Ulva*, género con una amplia distribución alrededor del mundo, despierta gran interés por su composición química, en Asia ya es utilizada como condimento y en Francia y Chile como suplemento nutricional (Peña-Rodríguez et al., 2011).

## 1.1 Importancia económica y compuestos químicos de las macroalgas

La producción comercial de macroalgas se concentra principalmente en países asiáticos como China, Japón y Corea del Sur, y en Latinoamérica en Argentina, Brasil, Chile, Perú y México (Rebours et al., 2014). En estos últimos tres países son cosechadas del medio natural; sin embargo, en Chile y Brasil una proporción de la producción proviene de cultivos controlados (Pereira y Yarish, 2008). En la actualidad, aproximadamente el 83% de la producción mundial de macroalgas se utiliza para consumo humano y el 17% restante es utilizado para la fabricación de fertilizantes agrícolas, aditivos en la alimentación animal y en aplicaciones farmacéuticas y biotecnológicas (Craigie, 2011). Se estima que el 98% de la producción (extracción y cultivo) de algas está compuesta principalmente por cinco géneros: *Pyropia*, *Undaria*, *Gracilaria*, *Kappaphycus* y *Saccharina* (Pereira y Yarish, 2008).

En las zonas tropicales del sureste asiático, la producción se concentra en algas rojas fuente importante de carragenato y agar, lo que ha fomentado su cultivo desde el año 2000. Desde el 2004, la producción mediante cultivo en esta región ha estado dominada por los géneros *Kappaphycus* y *Euclima* (Hurtado et al., 2014). Debido a la creciente demanda de productos derivados de algas, se ha experimentado con el cultivo de nuevas especies de algas pardas de los géneros *Sargassum* y *Costaria*, y verdes de los géneros *Enteromorpha* y *Caulerpa* (Kim y Lee, 1996; Hwang et al., 2006; Fu et al., 2010; Guo et al., 2015). Su importancia está asociada principalmente a la actividad antioxidante, antiviral, antibacteriana y antiinflamatoria que presentan y que es aprovechada por la industria cosmética, farmacéutica y recientemente en la nutraceutica.

Los nutraceuticos son compuestos químicos naturales que presentan algún tipo de bioactividad y son utilizados para promover la salud, prevenir enfermedades y con fines medicinales. Este tipo de productos se han vuelto más populares con el tiempo y hoy día es muy común encontrarlos en supermercados en forma de suplementos como la astaxantina o algunos polifenoles (Espín et al., 2007). Entre los principales metabolitos con importancia económica sintetizados por las macroalgas se pueden mencionar los polisacáridos, polifenoles, aminoácidos tipo micosporina (MAAs, por sus siglas en inglés) y pigmentos como las clorofilas, carotenoides y ficobiliproteínas.

### 1.1.1 Polisacáridos

Las células macroalgales poseen una pared compuesta por una gran cantidad de polisacáridos. Esta pared representa aproximadamente la mitad del peso seco en macroalgas y se considera un depósito importante del carbono fijado fotosintéticamente. Los polisacáridos, también llamados glicanos, que

componen la pared celular presentan diferentes estructuras dependiendo de la especie, la región del talo y es influenciada por factores ambientales como la estacionalidad y el lugar donde habitan las algas. Estos compuestos pueden ser clasificados por el grado de sulfatación, el peso molecular, esterificación e incluso por el arreglo en los azúcares residuales.

Las algas también pueden ser clasificadas de acuerdo con los polisacáridos que sintetizan, comúnmente conocidos como hidrocoloides o “ficocoloides” (Holdt y Kraan, 2011). Dependiendo del ficocoloide que posean se agrupan en productoras de alginatos presentes en las algas caféas (alginofitas); mientras que las que producen carragenatos y agar se les conoce como carragenofitas y agarofitas respectivamente, presentes en las algas rojas. Las algas verdes también poseen ficocoloides complejos, entre los más estudiados se encuentran los ulvanos (Kloareg y Quatrano, 1988; Stengel et al., 2011).

Los alginatos se utilizan como aditivo en alimentos como estabilizadores o espesantes, y forman parte de los ingredientes que se pueden encontrar en helados, jugos y un sinnúmero de productos congelados. Están compuestos de polímeros divididos en unidades del ácido D-manurónico y L-gulurónico o la combinación de ambos. Por otro lado, los carragenatos poligalactanos con una mezcla de unidades de 3,6-anhidrogalactosa y galactosa sulfatada. A nivel comercial se conocen los kappa-carragenato, iota-carragenato y lambda-carragenato. Los dos primeros crean geles rígidos o semirrígidos, mientras que los últimos solo funcionan como espesantes. Estos compuestos se encuentran en productos como salsas, gelatinas e incluso alimentos para mascotas. Las algas rojas también producen agar, mezcla de agarosa y agarpectina, que son solubles a altas temperaturas, razón por la cual se utilizan en productos cárnicos enlatados y para la elaboración de geles de electroforesis (Glicksman, 1987).

### 1.1.2 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios que protegen a las algas de los rayos ultravioleta (UV), previenen el fotodaño y funcionan como antioxidantes en presencia de radicales libres. Son sustancias aromáticas que cuentan por los menos con un anillo de benceno ligado a uno o tres grupos hidroxilo y se clasifican como polifenoles o fenoles de acuerdo con el número de unidades en su estructura química. Su presencia no solo está relacionada con la irradiación sino también con variables ambientales como la salinidad y nutrientes, pero también se relaciona con factores bióticos como la edad de los talos y con el tipo de tejido. Los polifenoles de algas caféas son conocidos como florataninos,

sustancias hidrofílicas derivadas de unidades de floroglucinol con diferentes grados de polimerización. Dentro de los grupos algales, las cafées son las que sintetizan mayor cantidad de polifenoles, los que les confiere un gran potencial bioactivo (Kim et al., 2005), sin embargo, también las algas verdes y rojas los sintetizan, aunque en menor concentración (Jung et al., 2009).

### 1.1.3 Aminoácidos tipo micosporina

Los aminoácidos tipo micosporina (MAAs) son metabolitos secundarios solubles en agua. Son los fotoprotectores más potentes que se conocen en la naturaleza y están relacionados con altas intensidades de luz y radiación UV. Tienen propiedades antioxidantes conocidas y presentan características osmorreguladoras en presencia de estrés ambiental (de la Coba et al., 2009; Wada et al., 2015; Pliego-Cortés et al., 2019). Se componen de un anillo de ciclohexanona o ciclohexenimina que está substituido por ácidos o grupos alcohólicos, se pueden diferenciar con base a la posición de los substitutos en los carbonos cíclicos C3 y C1. Los MAAs contienen un grupo imina o cetona unido con un enlace doble y la mayoría en macroalgas son derivados imino que contienen un anillo de ciclohexenimina unido a un aminoácido (La Barre et al., 2014).

Se ha encontrado que las rutas metabólicas relacionadas con la producción de micosporinas en algas son inducidas por diferentes longitudes de onda y su síntesis y acumulación en la naturaleza es altamente impredecible, variando entre especies y debido a su hábitat. Hasta la fecha no se conocen parámetros comunes para inducir su síntesis y en la mayoría de los casos sus contenidos son muy bajos, principalmente en algas verdes y cafées. Solo 11 de las micosporinas conocidas pertenecen al grupo de algas rojas (Lalegerie et al., 2019). Entre las más abundantes se encuentran la asterina-330, palythine, porphyra-334 y la shinorine, esta última presente en la mayoría de las especies de algas rojas (Huovinen et al., 2004). Cada micosporina se diferencia por su pico de absorción máxima (290-360 nm), su peso molecular y su coeficiente molar de extinción. Los MAAs tienen diversas aplicaciones en la industria cosmética, principalmente en la fabricación de protectores solares, mejorando su factor de protección (Hoyer et al., 2002).

### 1.1.4 Pigmentos

Aunque todas las algas producen clorofila *a* y el pigmento accesorio  $\beta$ -caroteno (Gallardo, 2015), de manera general se pueden encontrar tres clases de pigmentos: las clorofilas, los carotenoides y las ficobiliproteínas. Los pigmentos encargados de la fotosíntesis (clorofilas y carotenoides) se localizan



en un sistema de membranas en forma de vesículas aplanadas llamadas tilacoides. Los tilacoides se encuentran libres en el estroma, de forma individual o agrupados en dos o más, lo que se conoce como lamelas. En algas rojas, los tilacoides no están agrupados y se asocian a los ficobilisomas, donde se encuentran las ficobiliproteínas. En las algas pardas, los tilacoides se agrupan en conjuntos de tres, los cuales pueden estar rodeados por una banda de tres tilacoides o dispuestos en una banda lamelar, mientras que en las algas verdes como en las plantas terrestres, presentan grupos de tilacoides interconectados que forman asociaciones compactas llamadas grana.

Los pigmentos característicos de las tres divisiones principales de macroalgas se enlistan en la Tabla 1. Las Phaeophyceae, conocidas como macroalgas cafés, se caracterizan por un color amarillento casi negro, generado por la presencia de fucoxantina, la cual enmascara a los demás pigmentos. Las algas verdes además de contener clorofila *a* presentan clorofila *b*, y algunas especies pueden producir carotenos y algunas xantofilas (Kraan, 2013). En algas rojas los pigmentos dominantes son las ficobiliproteínas, principalmente la ficoeritrina, que puede llegar a niveles de hasta 1.2% del peso seco del organismo. También contienen clorofila *d* y algunos carotenoides como el  $\beta$ -caroteno y la luteína. La función de estos pigmentos juega un papel muy importante en el crecimiento y en su capacidad fotosintética, principalmente en términos de la eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ). Esto relacionado con la habilidad de ciertos pigmentos para captar los fotones en longitudes específicas y con esto poner en marcha la maquinaria fotosintética (Wang, 2002).

**Tabla 1.** Principales pigmentos en los grupos de macroalgas.

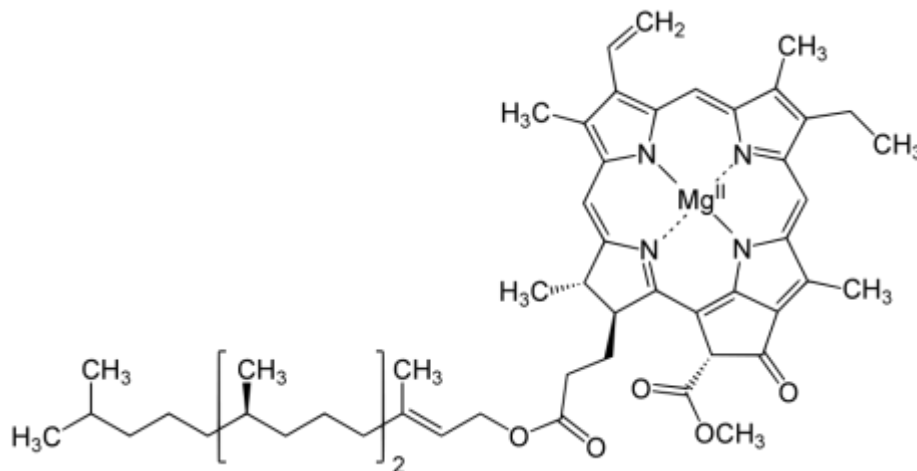
Filo	Clorofilas	Ficobilinas	Carotenos	Xantofilas
<b>Rhodophyta</b>	<i>a, d</i>	Aloficocianina, ficoeritrina, ficocianina	$\alpha$ -, $\beta$ -caroteno	Luteína
<b>Phaeophyceae</b>	<i>a, c</i>	Ausente	$\alpha$ -, $\beta$ -caroteno	Fuco-, -viola, -diadino, -hetero-xantina
<b>Chlorophyta</b>	<i>a, b</i>	Ausente	$\alpha$ -, $\beta$ -caroteno	Luteína, prasinoxantina

### Clorofilas

Las clorofilas son pigmentos verdes liposolubles, compuestos por un anillo porfirínico o núcleo tetrapirrólico unido a un núcleo central de magnesio con una “cola” hidrocarbonada (Fig. 1). La clorofila *a* que está presente en todas las algas tiene un papel importante en el centro de reacción de

los tilacoides, ya que transporta la energía lumínica a los fotosistemas donde se lleva a cabo la fotosíntesis, esta clorofila presenta su máxima absorción en longitudes de onda de 430 y 660 nm. La clorofila *c* es exclusiva de las algas caféas marinas mientras que la *d* está presente en macroalgas rojas que habitan aguas profundas, y se encarga de captar ondas de la luz roja. Las clorofilas *b*, *c* y *d* contribuyen en la absorción de la luz en otras longitudes de onda, contribuyendo con la clorofila *a* en los procesos fotosintéticos. La clorofila *b* presenta su máxima absorción a los 450 y 640 nm, la *c* en entre 447-453 nm y la *d* en 458 y 691 nm (Rasmussen y Morrissey, 2007)

La clorofila se descompone en derivados como la feofitina, la pirofeofitina y la feofoforbida en la ruta de transferencia de electrones del fotosistema II (PSII, por sus siglas en inglés). Estos productos funcionan como acarreadores de electrones y presentan efectos antimutagénicos con relevancia en la prevención de cáncer (Chernomorsky et al., 1999). Estos pigmentos son utilizados en la industria alimenticia en combinación con otros para la obtención de colores específicos (Eastaugh et al., 2004).



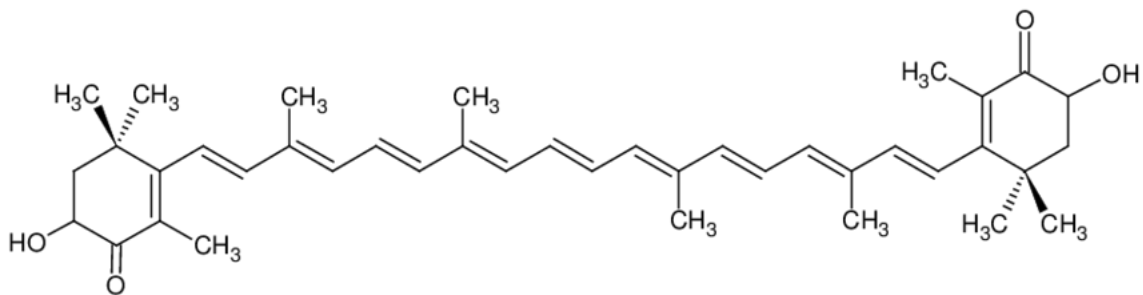
**Figura 1.** Estructura química de la clorofila *a*.

## Carotenoides

Los carotenoides son pigmentos liposolubles isoprenoides con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos, su estructura está formada por 40 átomos de carbono. Las dobles ligaduras en la estructura química de los carotenoides son responsables de la gran variedad de colores que van del amarillo al rojo y definen su capacidad de absorción de luz en longitudes de onda específicas, entre los 400 y 480 nm (Morais et al., 2006).

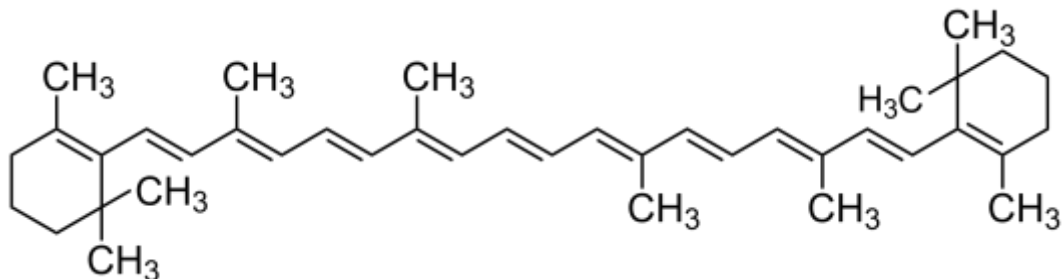
Los carotenoides comprenden una diversa gama de compuestos orgánicos que pueden encontrarse en organismos como las algas, bacterias, hongos y hasta en organismos más complejos como peces y crustáceos, acumulados debido a su dieta (Schiedt, 1998; Sasso et al., 2012). Existe una gran variedad de carotenoides algales, algunos se encuentran únicamente en algunas divisiones o clases; por lo tanto, al igual que las clorofilas, los carotenoides pueden usarse como marcadores quimiotaxonómicos. Los pigmentos carotenoides se pueden dividir en:

- Xantofilas: contienen en sus anillos terminales átomos de oxígeno (Fig. 2), como la luteína (452 nm), zeaxantina (463 nm), fucoxantina (450 nm), astaxantina (490 nm). Las xantofilas son moléculas relativamente hidrofóbicas, por tanto, están asociadas con membranas o ligadas a proteínas específicas. Regularmente se encuentran en las membranas de los tilacoides.



**Figura 2.** Estructura química de la astaxantina.

- Carotenos: aquellos que no contienen oxígeno y se consideran hidrocarburos puros (Fig. 3), como el  $\alpha$ - y  $\beta$ -caroteno (465 nm) (Guedes et al., 2011).



**Figura 3.** Estructura química del  $\beta$ -caroteno.

De acuerdo con su función, los carotenoides se pueden clasificar en primarios y secundarios. Los carotenoides que participan directamente en el proceso de fotosíntesis se conocen como carotenoides primarios (xantofilas), son estructurales y componentes funcionales del aparato fotosintético. En cambio, los carotenoides secundarios son producidos por la célula cuando se encuentra en una condición estresante de luz y son almacenadas en vesículas lipídicas, tanto en el estroma como en el citosol. En el proceso de fotosíntesis, los carotenoides primarios pueden tener varias funciones, una de ellas es la absorción de fotones en longitudes de onda diferentes a los que absorbe la clorofila, lo cual amplía el rango de captación de la luz, ya que la energía de estos fotones es transferida a las moléculas de clorofila y posteriormente transportada a los centros de reacción de los fotosistemas (Goodwin, 1980).

Los carotenoides protegen a las algas de la radiación solar, la formación de radicales libres, y al igual que las clorofilas pueden actuar como antioxidantes. Se ha probado que pueden reducir el riesgo de aparición de algunos tipos de cáncer y enfermedades degenerativas en seres humanos, además son precursores de la vitamina A (Dufossé et al., 2005). Uno de los carotenoides con mayor interés comercial es el  $\beta$ -caroteno, el cual es empleado como colorante o aditivo alimenticio. Se utiliza en la industria farmacéutica y cosmética debido a los beneficios que puede aportar a la salud humana. A pesar de que es producido de manera sintética a un menor costo, se ha demostrado que su contraparte natural presenta una capacidad antioxidante mayor y más eficiente (Spolaore et al., 2006).

### Ficobiliproteínas

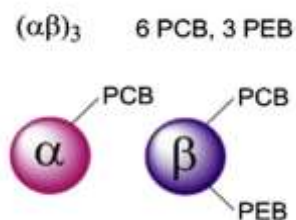
Las ficobiliproteínas son los únicos pigmentos hidrosolubles presentes en algas y aportan el color característico a las algas rojas. Se constituyen de una proteína enlazada por un enlace covalente a un grupo prostético, llamado cromóforo. La mayoría de biliproteínas son oligómeros formados por un monómero  $\alpha\beta$ , los cuales son cadenas de polipéptidos diferentes constituidos por residuos de entre 160 y 180 aminoácidos. Las ficobiliproteínas se dividen en cuatro grupos principales de acuerdo con sus propiedades espectrales (Glazer et al., 1976): ficocianina, ficoeritrina, aloficocianina y ficoeritrocianina (Tabla 2).

**Tabla 2.** Coloración de ficobiliproteínas en algas rojas. Modificado de Bryant (1982).

Ficobiliproteínas	Color	Máxima absorción (nm)
<b>Ficocianina</b>	Azul	555/617
<b>Ficoeritrina</b>	Rosa	565/540
<b>Aloficocianina</b>	Azul	618/671
<b>Ficoeritrocianina</b>	Naranja	568/570

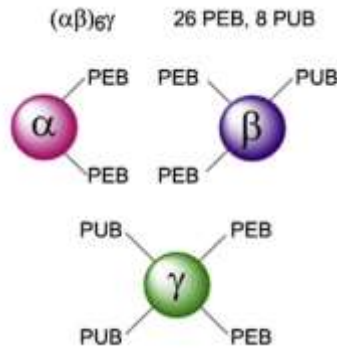
Las ficoeritrinas son los pigmentos principales del fotosistema II y forman parte de hasta el 50% de las proteínas hidrosolubles en algas rojas. Estas biliproteínas se agrupan en los ficobilisomas, que se encuentran en la superficie exterior de las membranas de los tilacoides. Su función principal es optimizar los procesos de captación de la luz, al igual que algunos carotenoides (Gantt y Lipschultz, 1974). En macroalgas podemos encontrar principalmente:

- Ficocianina: presenta una coloración verdeazulada. La subunidad  $\alpha$  de esta molécula posee un cromóforo de ficocianobilina, mientras que la  $\beta$  posee 2 cromóforos (Fig. 4). La conformación de esta proteína puede cambiar de acuerdo con el pH, siendo hexamérica  $(\alpha\beta)_6$  a pH 5-6 y trimérica  $(\alpha\beta)_3$  en 7. La ficocianina puede clasificarse en dos tipos, C-ficocianina y R-ficocianina, la primera y más extendida está presente en cianobacterias y la última en macroalgas rojas (Dumay et al., 2014).



**Figura 4.** Estructura de la R-ficocianina. Tomada de Dumay et al. (2014).

- Ficoeritrina: esta proteína presenta complejos de conformación hexamérica  $(\alpha\beta)_6$  pero a diferencia de la ficocianina presenta una subunidad gama o  $\gamma$  (Fig. 5). Es uno de los pigmentos principales en algas rojas, pero puede encontrarse también en cianobacterias (Sun et al., 2004).



**Figura 5.** Estructura de la R-ficoeritrina. Tomada de Dumay et al. (2014).

En condiciones de cultivo, la disponibilidad de nutrientes y la luz principalmente modulan el contenido de las ficobiliproteínas. Se ha demostrado que la concentración de cloruros y nitratos en el medio de cultivo puede regular la producción de ficoeritrina (Kathiresan et al., 2007). Son ampliamente utilizadas como marcadores y tintes en técnicas de fluorescencia, esta aplicación requiere una separación y purificación costosa por cromatografía, por lo que pueden alcanzar precios de hasta 5000 dólares por gramo (Radmer, 1996). También son utilizadas como colorante en alimentos y tintes naturales. De manera general, la ficocianina es empleada en la industria alimenticia, y la ficoeritrina es utilizada principalmente en el rubro de la cosmética (Sekar y Chandramohan, 2008). Diversos estudios han puesto a prueba las capacidades y propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antivirales de estos pigmentos (O'Sullivan et al., 2011).

## 1.2 Estrés oxidativo y bioactividad de los compuestos macroalgales

El estrés oxidativo se presenta cuando las especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) formadas por los procesos metabólicos básicos en la célula son mayores que la cantidad de antioxidantes disponibles en el organismo. Las ROS incluyen iones de oxígeno, peróxidos y radicales libres, las cuales producen peroxidación de lípidos, degradación del ácido desoxirribonucleico (DNA, por sus siglas en inglés) y reducción de otras biomoléculas presentes en las algas. La formación de radicales libres es causado por el proceso natural de respiración en la mitocondria, originando radicales superóxidos ( $O_2^-$ ), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), radicales hidróxidos (HO) y óxido nítrico (NO). Los radicales libres provocan daño al encontrar otra molécula y un electrón libre para acoplarse. El electrón no apareado del radical libre promueve el desacoplamiento de un electrón

en la molécula contigua, lo cual genera un comportamiento de radical libre y genera una reacción en cadena.

Las ROS están asociadas con la aparición y desarrollo de enfermedades como cáncer, diabetes, hipertensión, artritis y en procesos naturales como el envejecimiento (Liou y Storz, 2010; Davalli et al., 2016). Por esto, el estudio y obtención de compuestos antioxidantes es cada día más relevante, y se promueve la utilización de estos en dietas o como suplementos. Las macroalgas destacan debido a sus propiedades antioxidantes derivadas de la producción de compuestos como las vitaminas, fenoles y carotenoides. Estos metabolitos son producidos por las algas para protegerse de las condiciones extremas y dinámicas en las que habitan. La radiación UV es un factor estresor que promueve la formación de las ROS en algas, pero estas cuentan con los mecanismos para combatir los daños causados por la oxidación (Freile-Pelegrín y Robledo, 2013).

La capacidad antioxidante de algunos pigmentos permite reducir los efectos negativos causados por estos radicales libres, ya que tienen la capacidad de donar electrones (Mandal et al., 2009; Freile-Pelegrín y Robledo, 2013). Por ejemplo, se ha encontrado que la fucoxantina tiene propiedades que permiten contrarrestar la aparición de ciertos tipos de cáncer y administrados en dosis únicas o repetidas no genera algún tipo de toxicidad o alteración. Este pigmento inclusive puede utilizarse como agente quimioterapéutico y ser utilizado en tratamientos contra el cáncer (Beppu et al., 2009). Los carotenoides al ser pigmentos lipofílicos presentan propiedades antioxidantes debido al arreglo de sus moléculas y su capacidad de interactuar con las membranas biológicas. Pueden disminuir la hipertensión e inclusive presentan propiedades antiinflamatorias por lo que pueden ser utilizados para el tratamiento de enfermedades cardiovasculares ya que tienen la capacidad de regular los niveles de colesterol y triglicéridos (Seifried et al., 2007; McNulty et al., 2008).

Pigmentos como el  $\beta$ -caroteno son utilizados en productos cosméticos antiarrugas por su actividad provitamina A o la astaxantina por sus capacidades antioxidantes por encima de los presentados por el tocoferol (Terao, 1989; Raposo et al., 2013). En el rubro de las ficobiliproteínas, la R-ficoeritrina tiene un gran número de aplicaciones en las industrias alimentarias y de salud, puede ser utilizada como agente fluorescente, antioxidante, antitumoral y antidiabético (Guillard et al., 2015). Se ha reportado que ficobiliproteínas (ficoeritrina y ficocianina) presentes en cianobacterias presentan actividad antioxidante *in vivo* e *in vitro*, los que les confiere la capacidad de ser utilizadas; mediante su purificación; en el desarrollo de productos rejuvenecedores (Sonani et al., 2014; Punampalam et al., 2018; Pan-utai y Iamtham, 2019). Otros pigmentos son utilizados por sus propiedades sensoriales en alimentos como colorantes o como ingredientes por sus propiedades nutraceuticas.

La presencia de compuestos fenólicos muestra una correlación positiva con la actividad antioxidante de algunas macroalgas (Huovinen et al., 2004; Kim et al., 2005). Específicamente, los florotaninos de algas rojas y cafés presentan actividad antioxidante, la cual se correlaciona con un efecto inhibitorio en líneas celulares cancerígenas (Narasimhan et al., 2013). También se ha observado que estos compuestos protegen a las células expuestas a radiación en tratamientos contra el cáncer (Shin et al., 2014). El floroglucinol encontrado en algas cafés tiene efectos supresores en células cancerígenas, evitando la formación de tumores (Kim et al., 2015).

Se ha observado que extractos metanólicos de algas cafés y rojas que contienen fenoles tienen la capacidad de aminorar reacciones alérgicas en la piel y por lo tanto ser benéficos para tratar enfermedades alérgicas como la dermatitis (Na et al., 2005). Los polifenoles de macroalgas, incluyendo los flavonoides, ácidos fenólicos y taninos, presentan propiedades atenuantes para enfermedades vasculares. Estos extractos han demostrado efectividad contra la diabetes en experimentos con ratones (Lin et al., 2018). Algunos de los fenoles presentes en algas no se encuentran en plantas terrestres, como es el caso de los florataninos.

La industria cosmética ha mostrado interés en compuestos algales como los aminoácidos tipo micosporina debido a su alta protección contra los rayos UVB y UVA, convirtiéndolos en componentes antioxidantes esenciales en la elaboración de protectores solares (Losantos et al., 2017). Adicionalmente, también algunos de los polisacáridos algales mencionados anteriormente han demostrado propiedades biológicas activas de acuerdo con diversos estudios científicos. Dentro de los polisacáridos, los que presentan sulfatación tienen una mayor bioactividad y por consecuencia han sido los más estudiados (Usman et al., 2017). Además, se ha demostrado que estas moléculas cuentan con propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antivirales (Rodríguez et al., 2014; Morán-Santibañez et al., 2016).

### **1.3 Importancia de las algas rojas**

Las Rhodophyta se caracterizan por tener un desarrollo y evolución que han generado un sinnúmero de modificaciones a nivel celular y morfológico. Una de las diferencias más relevantes, con respecto a otras algas, es la ausencia de flagelos y centriolos a lo largo de su historia de vida, lo que pone en desventaja la dispersión de sus gametos debido a la ausencia o restricción de movimiento. Por otro lado, a diferencia de las algas verdes, la acumulación de las sustancias de reserva (almidón floridano) se produce en el citoplasma, no en los cloroplastos (Ragan y Gutell, 1995; Kim y Lee, 1996). Como se ha



mencionado anteriormente, la pared de estas algas, además de estar compuesta por celulosa y pectina presenta esteres polisulfatados (Kumar y Singh, 1979). Las algas rojas son el grupo con una mayor diversidad y abundancia de metabolitos secundarios, sumando más de 1,500 compuestos que comprenden una amplia gama de productos naturales (Brunet et al., 2015).

La viabilidad en cultivo de algunas especies de algas rojas ha permitido el estudio y manipulación de variables en cultivo para la producción de sustancias bioactivas, lo cual ha promovido que la industria farmacéutica y nutracéutica las catalogue como un recurso valioso. El término nutracéutico se refiere a cualquier alimento o ingrediente alimentario con sustancias biológicamente activas que benefician la salud, promoviendo una acción fisiológica benéfica más allá de su valor nutritivo tradicional. Se considera nutracéutico a un nutriente natural, ya sea aislado o purificado, con presentación de medicamento o suplemento alimentario, en forma de polvo o tableta (Palthur et al., 2010).

Uno de los retos para el cultivo y extracción de algas rojas es diversificar sus aplicaciones a todos los ámbitos posibles, lo cual está ligado al descubrimiento de nuevos productos bioactivos (Rebours et al., 2014; Bux y Chisti, 2016). Por consiguiente, es de vital importancia conocer las variables fisicoquímicas que inducen la producción de estos metabolitos. Algunas de las variables que pueden optimizar la producción de estos compuestos en cultivos controlados son la irradiancia, la calidad de luz, la temperatura, el estrés osmótico y la disponibilidad de nutrientes (Gupta y Abu-Ghannam, 2011).

#### **1.4 Análisis transcriptómico como herramienta para el conocimiento biológico**

La transcriptómica se encarga de catalogar todas las variedades de un transcrito, es decir de la molécula del ácido ribonucleico (RNA, por sus siglas en inglés) que se obtiene inmediatamente después de la transcripción, con el objetivo de determinar la estructura de los genes y detectar cambios en los niveles de expresión durante el desarrollo de un sistema biológico expuesto a condiciones específicas (Wang et al., 2009). De acuerdo con el dogma central de la biología molecular, la transcripción es el paso clave inicial en la expresión génica, su alcance es a nivel del RNA, lo que genera una gran cantidad de información de la estructura y función de los genes, por ende, es posible identificar mecanismos moleculares que participan en procesos biológicos específicos (Dong y Chen, 2013).

La transcriptómica comparativa tiene el poder de revelar la información ubicua, temporal o espacial de la expresión de los genes y puede ser explorada a través del aislamiento, clonación y

validación funcional. La abundancia del RNA mensajero (mRNA, por sus siglas en inglés) refleja el nivel de la expresión génica en un tiempo específico y además sugiere el rol que tomará en una determinada condición. Los análisis transcriptómicos juegan un papel importante en la biología molecular ya que permiten identificar la regulación al alza y a la baja de diferentes genes en ambientes particulares (Tanna y Mishra, 2020). El estudio del transcriptoma es uno de los campos más desarrollados en la era post genómica, fundamentalmente porque refleja la dinámica de la expresión génica, respalda la investigación proteómica y expande el alcance de la transcriptómica (Lockart y Winzeler, 2000).

Uno de los objetivos principales de la transcriptómica es revelar los genes expresados diferencialmente en condiciones fisiológicas particulares o bajo variables fisicoquímicas específicas. Para esto se han desarrollado un gran número de tecnologías como los métodos basados en marcadores de secuencia expresada (EST, por sus siglas en inglés), los microarreglos basados en hibridación y la secuenciación de RNA (RNA-seq, por sus siglas en inglés), comúnmente llamada secuenciación de próxima generación (NGS, por sus siglas en inglés). Estas técnicas han permitido estudiar el transcriptoma de manera más rápida y precisa (Lashkari et al., 1997).

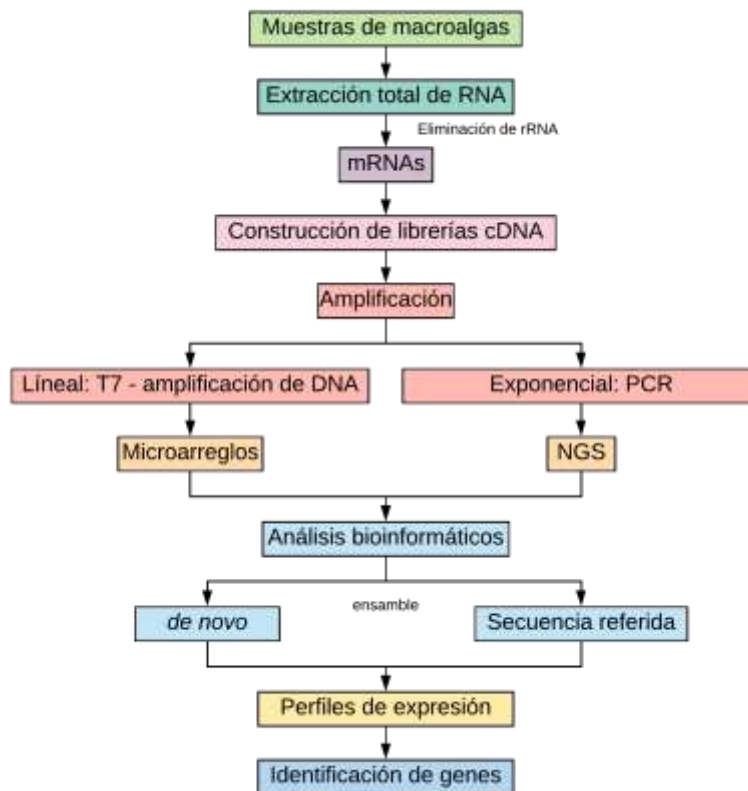
La conjunción de la bioquímica tradicional, las tecnologías de la biología molecular y la NGS han permitido la observación de eventos transcripcionales a un nivel más preciso. Medir la expresión génica de un organismo nos ayuda a inferir las funciones de genes no anotados previamente (Ozsolak y Milos, 2011). Con el tiempo, los costos de secuenciación han disminuido y la cantidad de genomas secuenciados en organismos no modelo ha ido en aumento. La RNA-seq y el ensamble *de novo* han permitido generar información del número y estructura de los transcritos en genomas no secuenciados, lo que facilita posteriormente su secuenciación (Grabherr et al., 2011).

La RNA-seq combina metodologías de secuenciación de alta eficiencia con métodos computacionales que permiten capturar y cuantificar los transcritos presentes en un extracto de RNA (Ozsolak y Milos, 2011). Proporciona ventajas significativas respecto a otras metodologías y es considerada como una revolución en el análisis de transcriptomas en organismos eucariotas desde el año 2006. Esta tecnología permite analizar millones de marcadores debido a su secuenciación masiva en paralelo, por lo tanto, es posible analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente.

Otra de las ventajas de la RNA-seq es que no requiere conocer *a priori* la información genómica del organismo. Debido a su resolución de bases individuales, esta técnica permite disminuir el nivel de ruido de fondo en comparación con las tecnologías de hibridación (Wang et al., 2009). La integración de los datos obtenidos de la RNA-seq en tejidos se ha utilizado para mejorar la anotación de genes

funcionales en organismos con alto valor comercial y también puede ser utilizada para identificar regiones desconocidas que codifican a proteínas en secuencias genómicas ya conocidas (Li et al., 2011).

Los análisis transcriptómicos tienen una estructura definida que involucra una gran cantidad de tecnologías y metodologías que han sido desarrolladas y mejoradas con el tiempo (Fig. 6). Un análisis típico de la información generada requiere los siguientes pasos: (1) El control de calidad de los datos crudos, en este paso se eliminan los marcadores de secuencia de baja calidad producidos en la construcción de las librerías o en el proceso de secuenciación a través de software; (2) para análisis con genoma de referencia, se mapean millones de lecturas cortas y se determina la posición de cada transcrito de RNA (por ejemplo, alineación con Tophat2,); (3) se calcula el nivel de expresión de cada transcrito (cuantificación); y (4) finalmente se ubica la expresión diferencial de genes (DEG, por sus siglas en inglés) entre las muestras. Esta ubicación de DEGs se lleva a cabo con software especializado como Cuffdiff2, EdgeR, kallisto o Bowtie2+HTseq (Langmead et al., 2009). Finalmente, para cada estrategia de análisis se recomienda construir un diseño experimental con base en el organismo de interés y en los objetivos y alcance de la investigación.



**Figura 6.** Método general para los análisis de transcriptómica – modificado de Beaulieu (2019).

## 1.5 Descripción de especies de estudio: *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea*

*Solieria filiformis* (Kützinger) Gabrielson es un alga roja tropical de talo carnoso, firme y resbaladizo con ápices puntiagudos (Burlot et al., 2023). Mide entre 5 y 24 cm, presenta una coloración de rojo a rosa (Fig. 7). Puede encontrarse adheridas a rocas, corales o en fondos arenosos entre 10 y 30 m de profundidad. En América se distribuye desde las costas de Florida hasta el Golfo de México incluyendo la península de Yucatán, también se encuentra en el mar Mediterráneo (Littler y Littler, 2000). Es un alga comestible que puede ser añadida a sopas u otros platillos (Pereira, 2016) y se emplea principalmente para extracción de carragenatos (Araújo et al., 2011); además cuenta con propiedades antiinflamatorias, anticoagulantes (Araújo et al., 2012) y antivirales (Morán-Santibañez et al., 2016; Boulho et al., 2017; Peñuela et al., 2018, 2021). Recientemente se reveló su capacidad para ser incorporada en cultivos multitróficos integrados con peces y pepinos de mar debido a su capacidad de biofiltración, lo cual mejora su crecimiento bajo condiciones específicas (Felaco et al., 2020).

### Clasificación

Filo: Rhodophyta

Clase: Florideophyceae

Orden: Gigartinales

Familia: Solieriaceae



**Figura 7.** *Solieria filiformis* (Foto Enrique Zepeda).

*Gracilaria cornea* J. Agardh es un alga de climas tropicales que alcanza hasta 50 cm de largo; su talo cartilaginoso (usualmente entre rojo y púrpura) puede ser cilíndrico, ligeramente comprimido o irregularmente articulado (Fig. 8). Se distribuye desde el Mar Caribe hasta Brasil, comúnmente habitan profundidades de 2 a 4 m, donde llegan a formar parches de hasta 4 m de diámetro (Pereira, 2016).

Sus poblaciones naturales en la costa de Yucatán han sido estudiadas por sus aspectos ecológicos y fisiológicos. En diferentes trabajos (Orduña-Rojas y Robledo, 1999; Orduña-Rojas et al., 2002) se observó que estas poblaciones presentan una marcada estacionalidad en su capacidad fotosintética y bioquímica, al contrario de las que habitan en los Cayos de la Florida (Dawes et al., 1999). Se concluyó que es factible utilizarla con propósitos comerciales debido a su disponibilidad continua en la costa norte de Yucatán (Orduña-Rojas et al., 2002b). Adicionalmente ha sido estudiada como alimento y/o en la producción de agar (Freile-Pelegrín y Robledo, 1997; Freile-Pelegrín et al., 2002; Pereira-Pacheco et al., 2007), por lo cual se ha considerado como candidata idónea para desarrollar su cultivo. Por último, se ha demostrado que los extractos de esta especie presentan actividad antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral e inmunológica (Zubia et al., 2007; Coura et al., 2012; Álvarez-Gómez et al., 2019).

#### Clasificación

Filo: Rhodophyta

Clase: Florideophyceae

Orden: Gracilariales

Familia: Gracilariaceae



**Figura 8.** *Gracilaria cornea* (Foto Enrique Zepeda).

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Influencia de la luz en la síntesis de metabolitos en algas rojas

#### 2.1.1 Irradiancia

Las algas presentan diversos patrones de absorción de luz de acuerdo con su especie o al ambiente en el que habitan. La irradiancia modula la mayoría de sus procesos metabólicos y promueve la absorción de los nutrientes a nivel celular. La cantidad de luz en exceso puede provocar fotoinhibición y como consecuencia daño en el organismo, causado por una reducción en la actividad de las proteínas fotosintéticas y los mecanismos de fotoprotección (Bischof y Rautenberger, 2012). El crecimiento, la actividad fotosintética y el contenido de pigmentos de la mayoría de las algas rojas presenta una correlación significativa con la irradiancia y calidad de luz en el cultivo (Leukart y Lüning, 1994). Larkum y Weyrauch (1977) estudiaron el espectro de acción fotosintética del alga roja *Griffithsia monilis* bajo diferentes irradiancias y demostraron que intensidades de luz bajas promovían la síntesis de ficobiliproteínas, mientras que luz alta, la producción de clorofila *a* y carotenoides; esto debido a la saturación de las biliproteínas por el efecto de la luz. En algunos géneros de algas rojas, como *Gracilaria*, la tasa de crecimiento aumenta cuando la irradiancia se intensifica. Sin embargo, en el medio natural es complicado encontrarla expuesta a irradiancias elevadas, salvo en la época de verano (Wedchaparn et al., 2015).

La combinación de factores ambientales tales como la irradiancia y la salinidad también inducen la concentración de pigmentos. Se ha demostrado que la clorofila *a* y la ficoeritrina tienden a disminuir cuando se combinan irradiancias altas y salinidades bajas en cultivos de *Rhododymenia pseudopalmata* bajo deficiencia de nutrientes (Pliego-Cortés et al., 2017). Otro estudio realizado con *Porphyra umbicalis* demostró que una irradiancia de 110  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  optimizaba el crecimiento bajo un fotoperiodo 12:12 (Green y Neefus, 2016). Por su parte, Zubia et al. (2014) observaron que al someter a *Gracilariopsis tenuifrons* a dos intensidades de luz (100 y 1000  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) no presentó diferencias en la cantidad de clorofila *a*, sin embargo, encontraron un incremento de los carotenoides en los tratamientos con intensidad de luz alta, mientras que la producción de ficobiliproteínas aumento en irradiancias bajas.

También se ha observado que el crecimiento y la concentración de clorofilas y carotenoides de *G. tenuifrons* mostraron un cambio en irradiancias de 1000  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Se observó una variación en la coloración de los talos pasando de rojo a amarillo, lo que provocó un deterioro en los procesos

de fotosíntesis y como consecuencia en el crecimiento. En este mismo experimento se encontró que la cantidad de  $\beta$ -caroteno y clorofila *a* disminuía al aumentar la cantidad de irradiancia. Por otro lado, la zeaxantina se incrementó 20%, lo que puede indicar que funge como fotoprotector (Torres et al., 2015).

Pliego-Cortés et al. (2019) encontraron que altas irradiancias incrementaban hasta en un 20% la cantidad de compuestos fenólicos y el contenido de MAAs en *R. pseudopalmata* bajo acuicultura multitrófica integrada (IMTA, por sus siglas en inglés), cinco veces más con respecto a lo encontrado en poblaciones naturales. En laboratorio también se observó que las irradiancias altas aumentaban el contenido de fenoles totales y por ende la capacidad antioxidante en la misma especie (Pliego-Cortés et al., 2017).

A pesar de que la producción de micosporinas tiene una importante relación con altas irradiancias y a la radiación UV, constatando su papel como antioxidantes (Vega et al., 2021), realmente no se conoce un patrón que determine la síntesis de estos compuestos. Sin embargo, se ha encontrado mayor contenido de MAAs en los meses de invierno, a menor radiación de rayos UVB en poblaciones naturales de algas rojas, y concentraciones bajas durante el verano (Diehl et al., 2019). Otro estudio demostró las diferencias en la síntesis de MAAs con relación a la cantidad de luz en cultivo (Álvarez-Gómez et al., 2017). No obstante, no solamente la luz tiene un efecto sobre estos compuestos ya que se ha descrito que su producción está regulada por la radiación UV en combinación con la disponibilidad de nitrógeno inorgánico (Korbee et al., 2010).

### 2.1.2 Calidad de luz

Las regiones de luz visible, principalmente la azul y roja, tienen un rol importante en la distribución de las algas marinas sublitorales. En el océano observamos una disminución en la cantidad de luz y un cambio significativo en su calidad a mayor profundidad, ya que los espectros de luz disponibles para los procesos fotosintéticos no penetran a profundidades mayores. La radiación fotosintéticamente activa (PAR, por sus siglas en inglés) es el espectro de luz (400-700 nm), en su mayoría visible, que los organismos autótrofos aprovechan para la fotosíntesis. A profundidades mayores de 10 m solo penetra el 10% de la luz verde-azulada, necesaria para los procesos de la mayoría de los organismos fotosintéticos y en el caso de la luz roja solo penetra alrededor del 1%.

Las algas rojas tienen la capacidad de fotosintetizar a profundidades de hasta 100 m, en condiciones oceánicas específicas relacionadas con la disponibilidad de nutrientes y la turbidez, ya que

tienen la habilidad de sintetizar pigmentos accesorios, como la ficoeritrina que absorbe la luz azul. Lo anterior permite que las algas rojas puedan crecer y sobrevivir a estas profundidades, donde otros grupos de algas no podrían (Kumar y Singh, 1979).

Godínez-Ortega et al. (2008) concluyeron que la calidad de luz en cultivo define la composición de pigmentos en la Rhodophyta *Halymenia floresii*. Ellos encontraron que la luz roja y azul inducía la síntesis de ficobiliproteínas, mientras que la luz verde promovió el crecimiento y la aparición de luteína. Por otro lado, Bonomi Barufi et al. (2015) observaron este mismo efecto en las ficobiliproteínas de *Gracilaria birdiae* y en *Porphyra leucosticta* irradiadas con luz azul (Korbee et al., 2005).

Al comparar el efecto de la luz azul y roja en el crecimiento y síntesis pigmentaria de *Porphyra* sp., se encontró que la luz roja mejoró las tasas de crecimiento de la especie (Figueroa et al., 1995). En cuanto a los pigmentos, los autores reportaron que no hubo diferencias significativas en la producción de clorofila *a* entre los tratamientos, y que la producción de ficobiliproteínas fue mayor bajo luz azul. Asimismo, Nguyen et al. (2017) observaron un mejor crecimiento de *Gracilaria fisheri* bajo luz roja y un aumento en el contenido de clorofila *a* con luz verde. Mientras que, López-Figueroa y Niell (1989) encontraron que la síntesis de clorofila se estimulaba con luz roja en el alga *Porphyra umbilicalis*.

La gama de pigmentos encontrados en los complejos de absorción de luz y sus respectivos arreglos en los fotosistemas regulan la eficiencia fotosintética en las algas, modulando la actividad fotosintética en las diferentes condiciones lumínicas de la columna de agua. Por ejemplo, la luz verde produce tasas fotosintéticas más eficientes en algas rojas, debido a que esta energía es absorbida por las ficobilinas en la antena del fotosistema II, desde donde es transportada eficientemente hacia los centros de reacción (Larkum, 2003).

Por otro lado, se ha observado que la síntesis de MAAs puede ser modulada en relación con la calidad de luz en el cultivo. Korbee et al. (2005) encontraron que la luz blanca, azul y verde, estimulaba la producción de MAAs en *P. leucosticta*, pero fue en luz azul donde se obtuvieron los valores mayores y en luz roja los menores. En otro trabajo se observó el mismo patrón con luz azul y roja en la macroalga *Chondrus crispus* (Franklin et al., 2001). La calidad de luz también tiene un efecto en la producción de polisacáridos, ya que en talos de *Gelidium sesquipedale* irradiados con luz azul, roja y amarilla se observó un mayor rendimiento que en los expuestos solo a luz blanca. Además, se encontró que la luz azul promovía la síntesis de galactanos en esta alga (Carmona et al., 1998).



## 2.2 Caracterización transcriptómica de algas rojas bajo inducción lumínica

Los avances en las tecnologías y la disminución de los costos de secuenciación han permitido la expansión de los estudios transcriptómicos en macroalgas, permitiendo evaluar con mayor precisión las respuestas a señales externas en condiciones específicas. Hasta la fecha, un gran número de estudios han evaluado la expresión génica en macroalgas con interés económico, principalmente en algas cafés. Esta información aunada al estudio de los metabolitos bioactivos en y la ingeniería genética permitirán desarrollar técnicas y mejoras en el cultivo comercial de algas en un futuro próximo (Wu et al., 2014).

La transcriptómica en algas ha permitido elucidar la expresión génica bajo condiciones específicas de cultivo, y el análisis de estos datos permite complementar la información de los compuestos bioactivos y los genes relacionados que podrían ser utilizados como marcadores confiables para su síntesis. Estos marcadores podrían ser diagnosticados con PCR cuantitativa (qPCR, por sus siglas en inglés) y servirían como herramienta para predecir la síntesis de metabolitos en algas cultivadas bajo condiciones específicas de luz, salinidad, temperatura, nutrientes, etc. Lo anterior optimizaría los tiempos y costos, omitiendo la separación y cuantificación preliminar de estos compuestos. Los datos generados a partir de la secuenciación también pueden ser utilizados para crear filogenias, medir selección natural y conocer la evolución de genes entre especies (Dong y Chen, 2013).

En los primeros análisis transcriptómicos en algas rojas, con *Gracilaria changii* se realizó un perfil del transcriptoma en talos expuestos a obscuridad y 30  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Ho et al., 2009). La mayoría de los transcritos encontrados se relacionan con procesos de captación de luz, fijación del carbono y estrés oxidativo. Un gran número de los transcritos regulados al alza (en obscuridad) estaban relacionados con la síntesis de la vanadio-cloroperoxidasa, tiorredoxina y el nicotinamida adenina dinucleótido (NADH, por sus siglas en inglés) mientras que los genes regulados a la baja con proteínas de captación de energía lumínica (LHPs, por sus siglas en inglés) y la vanadio bromoperoxidasa.

En otro trabajo, Yang et al. (2011) construyeron el primer perfil transcriptómico en el género *Pyropia* donde se expusieron esporofitos y gametofitos de *Pyropia yezoensis* a la interacción de temperatura, irradiancia y nutrientes en función del tiempo. Cientos de los genes ensamblados se relacionan con funciones de tolerancia al estrés como desecación, irradiancias altas, síntesis de flavonoides y ROS.

El análisis transcriptómico realizado por Collén et al. (2007) con *Chondrus crispus* sirvió para entender a mayor detalle los efectos del estrés abiótico en algas rojas. Se comparó la expresión génica

de emulando condiciones de estrés que experimentan en la zona intermareal, como alta luz, temperatura y salinidad en el espacio de tiempo correspondiente a un ciclo de marea. Se identificaron genes que codifican en condiciones extremas y marcadores para estresores específicos. Los estresores que promovieron el mayor número de DEGs fueron la alta irradiancia y temperatura. La mayoría de los genes regulados al alza correspondían con procesos de captación de luz, mientras que los regulados a la baja eran codificantes en procesos de hidrólisis de azúcares. El análisis de clúster sugirió que el estrés osmótico modula la expresión génica en el medio natural en condiciones de estrés puntuales.

Por último, en un artículo más reciente, se observó que la exposición a luz azul en la macroalga roja *Gracilariopsis lemaneiformis* promovía la acumulación de agar. La luz azul permite dirigir todos los procesos metabólicos hacia la síntesis de metabolitos de interés agrupados en cuatro grupos: fotosíntesis, sistema antioxidante, metabolismo energético y síntesis de carbohidratos. Se encontró que los genes que codifican para pigmentos fotosintéticos y ficobiliproteínas incrementaron de manera importante cuando se exponía a la especie a luz azul (Zhang et al., 2022).

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad se han identificado aproximadamente 36,000 especies de algas, pero únicamente entre 10 y 20 especies son cultivadas comercialmente, en su mayoría macroalgas. Por ende, resulta importante la identificación, el estudio fisiológico y la caracterización de metabolitos de un mayor número de especies, no solo de algas cafés que hoy en día son las más estudiadas. Las algas rojas de regiones tropicales cobran relevante importancia ya que se encuentran aclimatadas a las condiciones locales extremas, además que su producción no compite por zonas empleadas para la agricultura. Las macroalgas utilizadas en este trabajo son productoras de pigmentos carotenoides, ficobiliproteínas y otros compuestos con propiedades antioxidantes importantes. Esto aunado a su relativa facilidad de manejo en cultivo y la eficiencia en la producción de biomasa tanto en cultivos en laboratorio como al exterior les confiere un potencial biotecnológico importante.

Las macroalgas *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* han sido cultivadas por nuestro grupo de trabajo en laboratorio y sistemas IMTA al exterior con el objetivo de producir moléculas químicas como es el caso de polisacáridos. No se cuenta con una caracterización del perfil de pigmentos bajo condiciones específicas de calidad de luz, ni de su capacidad antioxidante, conferida principalmente por las ficobiliproteínas y otros compuestos como fenoles y aminoácidos tipo micosporinas. Estos metabolitos son importantes para la industria nutraceutica y son utilizados en la elaboración de productos que tienen un alto valor en el mercado. El entendimiento de estos procesos contribuiría a la tecnificación y estandarización de la producción de compuestos bioactivos. La posibilidad de manipular la producción de estas moléculas mediante la modulación de parámetros de cultivo como la luz, las convierte en candidatas idóneas para la producción de nutraceuticos.

Con la finalidad de optimizar la respuesta fisiológica de macroalgas rojas y caracterizar los genes que participan en la producción de pigmentos y otras moléculas fotoprotectoras se utilizó como modelo a *S. filiformis* para estudiar con mayor detalle su respuesta ante la exposición a diferentes condiciones de luz. El análisis transcriptómico, como herramienta complementaria, nos permitirá conocer la perspectiva estructural de los genes, su expresión y dinámica específica para la síntesis de metabolitos. En particular para conocer como la irradiancia está ligada con la síntesis de compuestos de interés y como estas respuestas están relacionadas con su expresión génica.

La identificación de genes clave podría facilitar la creación de marcadores confiables que, mediante diagnóstico con qPCR, funcionen como herramientas predictivas en cultivos controlados. Esto permitiría agilizar el proceso de síntesis de antioxidantes y el control de su producción al evitar

los protocolos laboriosos, la estandarización de técnicas y el consumo considerable de tiempo asociados con su identificación y cuantificación. Además, los datos generados a partir de la secuenciación de RNA de *S. filiformis* podrían ser utilizados en futuros trabajos para crear filogenias, medir selección natural (fenotipo-ambiente) y entender la evolución de sus genes con relación a otras especies de macroalgas rojas.

Finalmente, conocer estos mecanismos resulta relevante en términos de adaptación y mejoramiento de las condiciones de cultivo en especies productoras de metabolitos de interés, en particular aquellas con potencial nutracéutico como *S. filiformis*.

## 4. HIPÓTESIS

1. Los cambios en la calidad de luz regularán el crecimiento, la síntesis de pigmentos y la capacidad antioxidante de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* en cultivos controlados en laboratorio.
2. Las irradiancias altas incrementarán la producción de compuestos antioxidantes y el rendimiento de la actividad fotosintética en *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* bajo condiciones de cultivo interior en un sistema controlado.
3. Las diferencias en la eficiencia fotosintética, la acumulación de pigmentos y otros compuestos antioxidantes en *S. filiformis* podrán ser explicadas en función de la expresión de los genes que participan en las rutas relacionadas con sus procesos metabólicos.

## 5. OBJETIVOS

## 5.1 Objetivo general

Determinar el efecto de la calidad de luz y la irradiancia sobre el crecimiento, la actividad fotosintética y la producción de metabolitos con capacidad antioxidante en las macroalgas rojas *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* en cultivos de laboratorio.

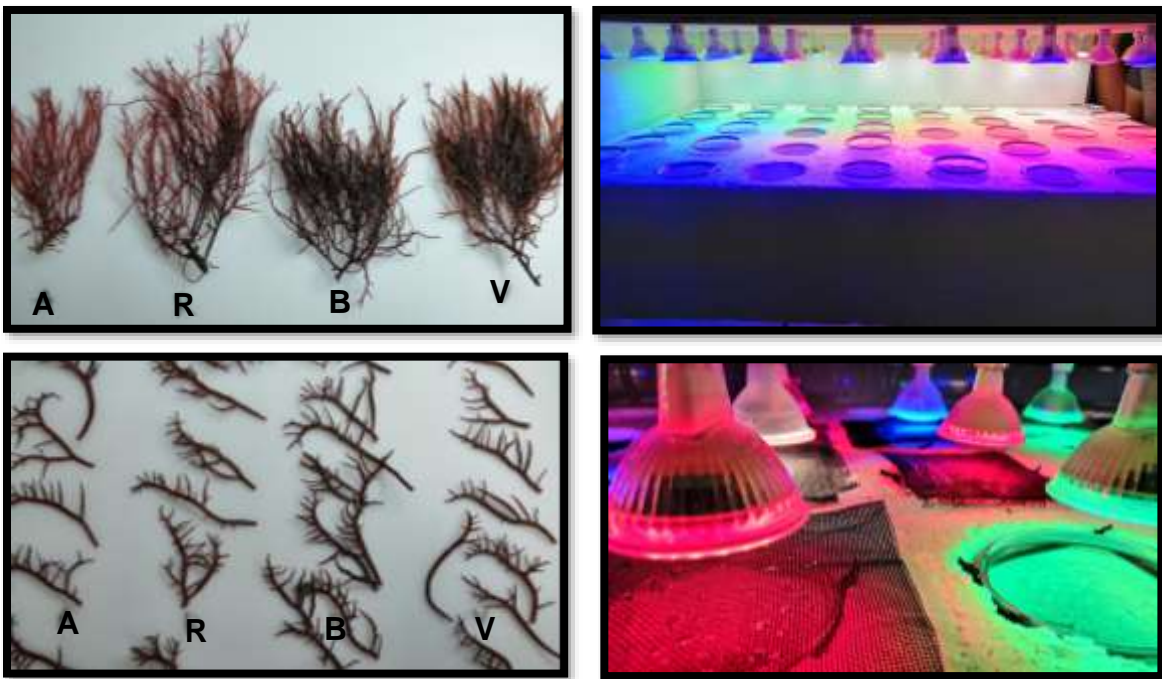
## 5.2 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de la calidad de luz en el crecimiento, el perfil de pigmentos y la actividad antioxidante en las macroalgas rojas de estudio.
2. Evaluar el efecto de la calidad de luz y la irradiancia en parámetros fisiológicos, bioquímicos y antioxidantes como la eficiencia fotosintética, la fotosíntesis máxima y la producción de compuestos como pigmentos, micosporinas, compuestos fenólicos y ficocoloides en ambas macroalgas.
3. Identificar los cambios transcriptómicos relevantes y los genes responsivos de transducción en la síntesis de pigmentos y otros productos con capacidad antioxidante en *S. filiformis* expuesta a diferentes condiciones experimentales de cultivo.

## 6. CAPÍTULO I. Evaluación del efecto de la calidad de luz en el crecimiento, el perfil de pigmentos y la actividad antioxidante de *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* (Rhodophyta)

Los resultados de este capítulo están publicados en la revista *Journal of Applied Phycology* (factor de impacto: 3.215).

DOI: 10.1007/s10811-019-02023-0



Material biológico de *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* al finalizar la exposición a luz azul (A), roja (R), blanca (B) y verde (V). Detalles del sistema experimental de lámparas con diferente calidad de luz.

### 6.1 Introducción

La capacidad antioxidante en las algas es el resultado de la síntesis de sustancias enzimáticas y no enzimáticas, entre ellas los fenoles y los pigmentos como carotenoides y ficobiliproteínas. Estos compuestos tienen un gran valor en la industria nutracéutica por su actividad biológica y su capacidad de disminuir el estrés oxidativo (Holdt y Kraan, 2011). Las macroalgas rojas producen antioxidantes como estrategia para sobrevivir en ambientes dinámicos y en condiciones de luz escasa (Freile-Pelegrín y Robledo, 2013).

La luz tiene un efecto importante en la morfología, el arreglo de los tilacoides y el contenido de pigmentos en las macroalgas (Figuerola et al., 1995). Por ejemplo, la calidad lumínica puede modular el crecimiento y la concentración de ciertos pigmentos accesorios como los carotenoides. La síntesis de ficobiliproteínas; pigmentos responsables de la absorción del espectro azul; les confieren a las algas rojas la habilidad para sobrevivir y desarrollarse en profundidades oceánicas (Kumar y Singh, 1979). La presencia de estos pigmentos en los fotosistemas define su eficiencia de absorción de luz y regula su actividad fotosintética en la gama de calidad de luz a lo largo de la columna de agua (Larkum, 2003).

Diversos estudios han demostrado el efecto del espectro lumínico en el crecimiento y el perfil pigmentario en macroalgas rojas tropicales. La síntesis de ciertos pigmentos es promovida por la calidad de luz, pero varía entre especies y el ambiente en el que habitan (López-Figuerola y Niell, 1989; Bonomi Barufi et al., 2015; Nguyen et al., 2017). En la actualidad, se ha reportado que los diodos de emisión de luz (LED, por sus siglas en inglés) con espectros de luz específicos mejoran el crecimiento de algunas especies de plantas superiores (Hogewoning et al., 2010; de Keyser et al., 2019). El uso de LEDs ha ido incrementado debido a su eficiencia energética y a su bajo costo (Sharakshane, 2017). En el caso particular de las macroalgas, este efecto ha sido corroborado por Kim et al. (2015), quienes expusieron a una macroalga roja a luz LED monocromática y a la combinación de ciertos espectros lumínicos. Estos autores demostraron que la combinación de luz azul y verde optimizaba las tasas de crecimiento y la producción de pigmentos cuando se comparó con el uso de luz blanca fluorescente.

Hasta la fecha no existen estudios sobre el efecto de la calidad de luz y el uso de lámparas LED en la actividad antioxidante de las macroalgas *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea*. Conocer la respuesta que tienen estas especies al contrastar las variables mencionadas permitiría una manipulación más rigurosa en la síntesis de pigmentos y en su calidad nutracéutica bajo condiciones controladas en cultivo. Por lo tanto, el objetivo de este estudio consistió en evaluar el efecto de la calidad de luz en el crecimiento, el perfil de pigmentos y la actividad antioxidante de los extractos metanólicos en ambas macroalgas bajo un esquema de cultivo en laboratorio.



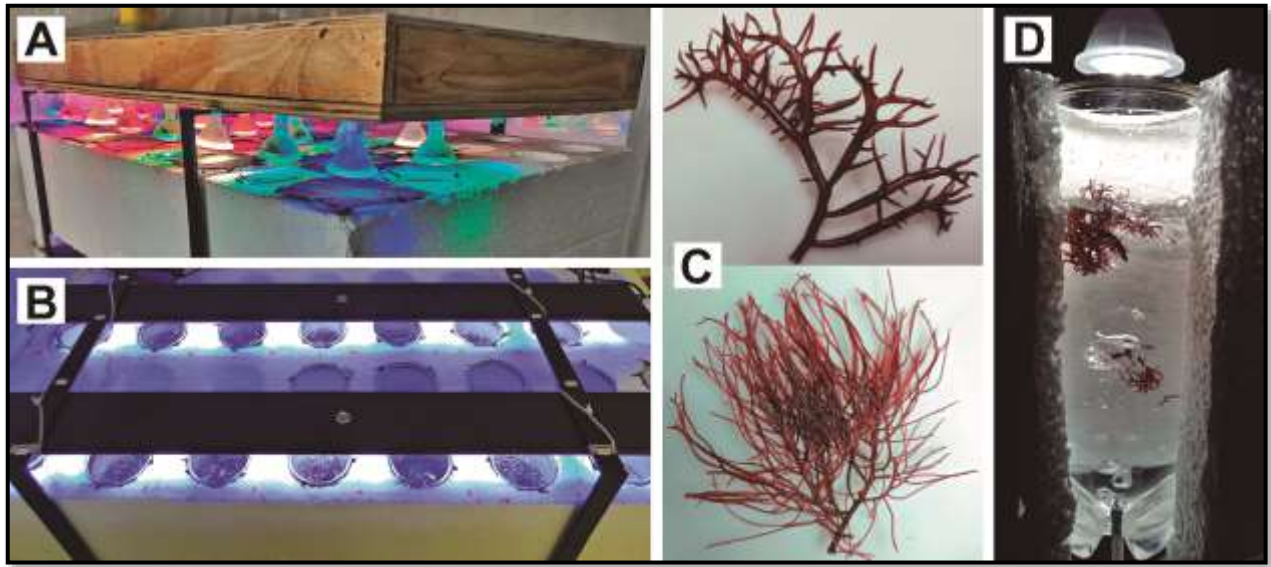
## 6.2 Materiales y métodos

Los talos de *S. filiformis* y *G. cornea* fueron colectados de un sistema de cultivo IMTA en la Estación Marina del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (CINVESTAV) ubicada en el Puerto de Telchac, Yucatán, México (21°20'28"N, 89°18'25"O). Se midieron las condiciones ambientales durante la cosecha de los organismos, la PAR en la superficie del tanque varió entre 630 y 680  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , la temperatura del agua osciló entre 23 y 26.7 °C, la salinidad fue de 36 a 38 unidades prácticas de salinidad (UPS) y el pH de 8.1 a 8.2. Material vegetativo saludable fue seleccionado, cepillado y enjuagado con agua de mar estéril al llegar al Laboratorio de Cultivo en la Unidad de CINVESTAV Mérida.

Los talos de ambas especies fueron colocados en biorreactores de cultivo cilíndricos con un volumen de 15 L para su aclimatación. Se utilizó agua de mar estéril y enriquecida con medio Provasoli y se mantuvieron en aireación constante para asegurar la homogenización de los nutrientes y la luz de cultivo. La irradiancia durante la aclimatación fue de  $37 \pm 6.4 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , la temperatura del agua se mantuvo a 23 °C, la salinidad a 30 UPS y el pH de  $8.7 \pm 0.12$ . La luz fue suministrada por lámparas fluorescentes blancas frías y se utilizó un fotoperiodo 12:12. El tiempo de aclimatación fue diferente entre los experimentos, para el experimento de luz individual fue de 15 días en ambas especies y en el experimento de luz blanca y azul combinadas fueron 30 días para *G. cornea* y 50 días para *S. filiformis*.

### 6.2.1 Diseño experimental

*S. filiformis* y *G. cornea* fueron cultivadas en cinco diferentes calidades de luz: blanca (LB), azul (LA), verde (LV) y roja (LR). Al terminar los experimentos de luz individual se evaluó el efecto con la combinación de luz blanca + azul (LB+A). Todos los experimentos tuvieron una duración de tres semanas y se llevaron a cabo en recipientes cilíndricos de polietileno con un volumen de 700 mL, los cuales fueron colocados en un bloque de poliestireno expandido con el fin de mantener constante la temperatura del agua de mar y evitar luz incidente entre tratamientos (Fig. 9). Se utilizaron cinco réplicas por tratamiento para cada especie en los experimentos de luz individual y siete réplicas para el de luz combinada. Cada unidad experimental contaba con aireación constante suministrado desde el fondo de los recipientes. Se utilizó agua de mar esterilizada con UV a 31 UPS y enriquecida con medio Provasoli.



**Figura 9.** Diseño experimental para los tratamientos de luz individual (A) y combinación de luz (B). Morfología de los especímenes utilizados en ambos experimentos (C): *Gracilaria cornea* (imagen superior) y *Solieria filiformis* (imagen inferior). Diseño y funcionamiento de los biorreactores embebidos en el bloque de poliestireno para regular la temperatura y la luz (D).

La densidad inicial para cada especie se determinó con base en su morfología, esto con el propósito de evitar el autosombreado en los biorreactores y promover el movimiento de los talos durante el cultivo. Como *S. filiformis* cuenta con un morfotipo con ramificaciones más delgadas y finas se utilizó una densidad de  $3 \text{ g L}^{-1}$  por biorreactor ( $\sim 2.1 \text{ g}$  de talos apicales); mientras que para *G. cornea* se inició el experimento con  $5 \text{ g L}^{-1}$  ( $\sim 3.5 \text{ g}$  de ápices) debido a que presenta ramificaciones más gruesas. El agua de mar con nutrientes se renovó cada semana, los cultivos se mantuvieron a  $\sim 22 \text{ }^\circ\text{C}$  y pH de  $\sim 8.6$ .

La irradiancia fue de  $100 \text{ } \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para el experimento de luz individual y  $110 \pm 5 \text{ } \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para el ensayo con la combinación de LB+A. En ambos experimentos se utilizó un ciclo oscuridad: luz de 12:12. Para el experimento monocromático se utilizaron lámparas LED MR16 con las siguientes características: LB cálida (400-700 nm, TecnoLite 3000 K, 3W), LA (465-470 nm, TecnoLite 3 W), LV (515-520 nm, SAGLite 3 W) y LR (625-630, SAGLite 3 W). En el ensayo con LB+A se utilizó una relación del 50% para cada tipo de luz, esto se logró con lámparas LED Current Orbit IC Pro-Dual (Blanco frío 400-700 nm, 6500-10,000 K; Azul, 445-460 nm, 36 W). La aireación desde el fondo de los recipientes permitió que la luz instalada en la parte superior se distribuyera de

manera homogénea en todos los tratamientos. Se verificó regularmente la irradiancia con un irradiómetro universal (WALZ ULM-500) acoplado a un sensor microesférico (US-SQS).

Las algas se pesaron y se tomaron muestras para los análisis correspondientes cada semana a lo largo del experimento. Las muestras para los análisis de actividad antioxidante se congelaron a -20 °C para ser procesadas en el corto plazo. Se analizó el contenido de pigmentos, la actividad antioxidante y la relación C: N en talos colectados del cultivo IMTA en la estación de Telchac y en talos después del período de aclimatación. Estos valores se utilizaron como referencia y son mencionados en el trabajo como valores iniciales y de aclimatación, respectivamente.

### 6.2.2 Tasa de crecimiento

El crecimiento fue evaluado utilizando el peso semanal y se calculó utilizando la siguiente ecuación (Yong et al., 2013):

$$\text{TCD (\%dia)} = \left[ (P_t/P_0)^{1/t} - 1 \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

donde  $P_0$  corresponde al peso fresco inicial,  $P_t$  es el peso fresco final y  $t$  se refiere a los días de cultivo.

Los valores calculados fueron expresados como tasa de crecimiento diario (TCD), que corresponde al incremento en peso fresco diario expresado en porcentaje.

### 6.2.3 Análisis de pigmentos

Para evaluar los pigmentos se colectaron porciones de 100 mg de la región apical y estos fueron pulverizados con la ayuda de un mortero y pistilo en presencia de nitrógeno líquido. Se utilizó acetona 80% para la extracción de clorofila *a* (Chl *a*) y carotenoides totales (Car); para las ficobiliproteínas: ficoeritrina (Fe) y ficocianina (Fc) se utilizó un buffer de fosfato de sodio (0.1M). Todas las extracciones se hicieron en condiciones de oscuridad. Los extractos fueron centrifugados a 3000 rpm por 15 min a una temperatura de 10 °C y se recuperó el sobrenadante.

Para determinar la concentración de pigmentos, se leyó la absorción a 663 nm para la Chl *a*, 480 y 510 nm para Car y para las ficobiliproteínas: 565 para Fe y 592, 618 y 645 nm para Fc en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1800 (Japón). El contenido de clorofila *a* se calculó utilizando los coeficientes de absorción descritos por Smith y Benitez (1955), para carotenoides totales se utilizaron

los de Parsons et al. (1984) y para ficobiliproteínas los de O'Carra (1965). La concentración de pigmentos se calculó utilizando las fórmulas publicadas por Dawes (1998). Los datos se expresaron en miligramos por gramo de peso seco (PS) para Chl *a*, Car y Fe; y en microgramos para la Fc.

#### 6.2.4 Análisis de carbono y nitrógeno total

Los contenidos de carbono (C) y nitrógeno (N) se analizaron semanalmente por combustión completa en muestras de 10 mg de peso seco para ambas especies utilizando un analizador FlashEA 1112 (Thermo, Italia).

#### 6.2.5 Actividad antioxidante

Al finalizar el experimento (día 21), se colectaron 500 mg de peso fresco (PF) de cada una de las especies por tratamiento y se hizo una doble extracción con metanol al 100% por 48h. Se recuperó el sobrenadante y se evaporó en un rotavapor de vacío R-205 (Buchi, Suiza), el extracto resultante se utilizó para los análisis de actividad antioxidante. Los extractos fueron resuspendidos en metanol a una concentración de 5 mg mL<sup>-1</sup> y posteriormente se determinó la capacidad antioxidante con el método 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH, por sus siglas en inglés) con algunas modificaciones para microplaca (Brand-Williams et al., 1995).

Como método complementario se utilizó el protocolo con ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico (ABTS, por sus siglas en inglés) descrito por Arnao et al. (2001) con modificaciones. La reacción para el DPPH se realizó a temperatura ambiente (22 °C) en condiciones de obscuridad por una hora mientras que para ABTS el tiempo fue de 10 min. La absorbancia se midió a 515 nm para DPPH y 734 nm para ABTS en un espectrofotómetro Multiskan Go (Thermo Scientific). Se utilizaron como controles positivos butilhidroxitolueno (BHT, por sus siglas en inglés) y hidroxibutilanisol (BHA, por sus siglas en inglés). Los resultados de ambas técnicas se expresaron como porcentaje de inhibición (%AA) y se calculó utilizando la siguiente ecuación matemática:

$$\%AA = (Abs_{ctrl\ neg} - Abs_{muestra}) / (Abs_{ctrl\ neg}) \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

donde %AA se refiere el porcentaje de inhibición o actividad antioxidante,  $Abs_{ctrl\ neg}$  corresponde a la absorbancia del control negativo y  $Abs_{muestra}$  a la absorbancia de la muestra.

## 6.2.6 Análisis estadístico

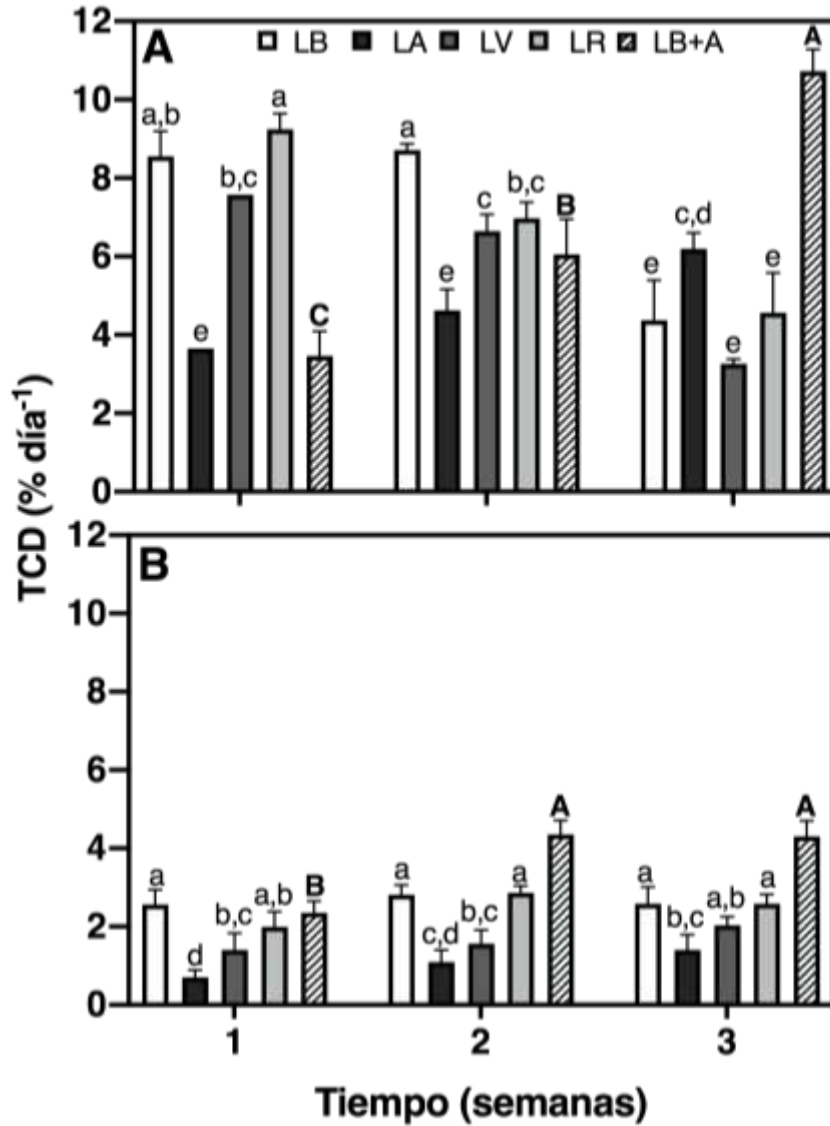
Los datos de TCD, pigmentos y relación C: N para el experimento de luz individual fueron evaluados estadísticamente utilizando un análisis de varianza (ANOVA, por sus siglas en inglés) de dos vías con un nivel de significancia del 0.05; mientras que para el experimento de combinación de LB+A y los datos de actividad antioxidante se utilizaron ANOVAs de una vía. Para evaluar la normalidad y la igualdad de varianzas de los datos se utilizaron las pruebas de Shapiro-Wilk y Levene, respectivamente. Cuando se encontraron diferencias significativas entre tratamientos se utilizó la prueba *a posteriori* de Tukey. Los datos se presentan con la media y la desviación estándar de cinco (experimento individual) o siete (LB+A) réplicas. Todos los análisis estadísticos se hicieron en el programa estadístico Jamovi versión 1.0 y las gráficas se diseñaron en el paquete informático GraphPad Prism 8.

## 6.3 Resultados

### 6.3.1 Tasa de crecimiento

El crecimiento de *S. filiformis* varió entre  $3.2 \pm 0.12$  (LV) y  $10.7 \pm 0.55$  (LB+A) % al día. Se observó un doble incremento del crecimiento en LB+A para la tercera semana si se compara con LB (control) en el mismo periodo. De manera general, se encontró un efecto altamente significativo en el crecimiento al interactuar la calidad de luz ( $F = 34.1, p < 0.001$ ) y el tiempo de cultivo ( $F = 33.8, p < 0.001$ ) en todos los tratamientos de luz individual. El crecimiento disminuyó en la tercera semana en los tratamientos de LB, LV y LR. Solo los tratamientos de LA y de combinación LB+A mostraron un incremento en la tasa de crecimiento (Fig. 10). El tiempo de cultivo tuvo un efecto ( $F = 78.1, p < 0.001$ ) en el crecimiento de *S. filiformis*, por lo tanto, las TCD mostraron diferencias significativas entre las semanas de experimentación, principalmente en la segunda y tercera semana. El mismo efecto ( $F = 80.4, p < 0.001$ ) fue observado en el tratamiento de LB+A.

En *G. cornea*, la TCD más alta ( $4.3 \pm 0.36\%$  día<sup>-1</sup>) se encontró en la segunda semana de cultivo en LB+A (Fig. 10), sin embargo, no tuvo diferencia significativa ( $p = 0.985$ ) con el valor obtenido en la semana tres ( $4.3 \pm 0.39\%$  día<sup>-1</sup>). El crecimiento más bajo se observó en LA para las semanas uno y dos ( $p = 0.749$ ) con una TCD de  $0.7 \pm 0.19\%$  y  $1.1 \pm 0.30\%$  día<sup>-1</sup>, respectivamente. La calidad de luz y el tiempo mostraron un efecto significativo ( $p < 0.001$ ) en la TCD en *G. cornea* para todos los tratamientos, inclusive se observó al evaluar la interacción de ambas variables ( $F = 2.57, p = 0.031$ ). El crecimiento en esta alga se incrementó en los tratamientos de LA y LB+A a lo largo del tiempo de cultivo.



**Figura 10.** Tasa de crecimiento diario de *S. filiformis* (A) y *G. cornea* (B) expuestas al efecto individual de luz ( $n = 5$ ) blanca (LB), azul (LA), verde (LV), roja (LR) y a la combinación de luz blanca + azul ( $n = 7$ ) (LB+A) durante las tres semanas de cultivo. Letras minúsculas disimiles indican diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ) en los tratamientos de luz individual y letras mayúsculas en negritas denotan diferencias a lo largo del tiempo en el tratamiento combinado de LB+A. Los valores representan la media  $\pm$  desviación estándar.

### 6.3.2 Análisis de pigmentos

Los valores de pigmentos mostraron diferencias significativas (ANOVA,  $p < 0.001$ ) entre los tratamientos de *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* cuando fueron expuestas a diferentes espectros de luz y al tiempo de cultivo, lo mismo se observó con el efecto combinado de estas variables. La concentración más alta de Chl *a* en *S. filiformis* se encontró con LV en los días 14 ( $2.5 \pm 0.05 \text{ mg g}^{-1}$

PS) y 21 ( $2.9 \pm 0.13 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). Se observó una tendencia de incremento en la Chl *a* a lo largo del tiempo en el tratamiento de LV (Tabla 3).

En el caso de *G. cornea*, la concentración varió entre  $0.9 \pm 0.03$  y  $1.7 \pm 0.06 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$  al día 14 en LR y LV, respectivamente. Sin embargo, la Chl *a* no presentó diferencias en LB+A ( $1.7 \pm 0.08 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) al compararlo con el valor mayor observado (LV) en la semana dos ni en la primera semana ( $1.6 \pm 0.05 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ;  $p = 0.977$ ). Durante la primera semana se incrementó el contenido de carotenoides totales con relación al valor inicial en el tratamiento de LB+A tanto en *G. cornea* como *S. filiformis*, los valores observados fueron de  $0.5 \pm 0.00$  y  $0.7 \pm 0.10 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ , respectivamente (Tabla 4). No se encontraron diferencias en la síntesis de Car al transcurrir el tiempo en el experimento de LB+A con *S. filiformis* y en *G. cornea* se observó un decremento para el día 21.

*S. filiformis* mostró la mayor concentración de ficoeritrina ( $4.0 \pm 0.08 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) durante el experimento con LA en la segunda semana, este valor es tres veces mayor que el encontrado en los talos sembrados ( $1.2 \pm 0.15 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). El contenido de Fe aumentó en todos los tratamientos de *S. filiformis* durante la segunda semana de cultivo y disminuyó en la tercera semana, excepto en LB+A donde se mantuvo sin cambios. En *G. cornea* el valor más alto de Fe ( $1.4 \pm 0.07 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) se observó en LB+A en el día 14 y se mantuvo sin cambios para la semana tres ( $1.3 \pm 0.03 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ). Sin embargo, los mayores incrementos de Fe se observaron en los tratamientos de LV ( $1.3 \pm 0.05 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) y LA ( $1.2 \pm 0.01 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ) para el día 21, cuatro veces mayores con respecto al valor inicial ( $0.2 \pm 0.02 \text{ mg g}^{-1} \text{ PS}$ ).

La ficocianina en *S. filiformis* fue mayor en los tratamientos individuales de LB y LA ( $13.7 \pm 1.43$  y  $13.2 \pm 1.30 \mu\text{g g}^{-1}$ , respectivamente) en el día 14, incrementándose al triple si se comparan con el valor inicial ( $1.7 \pm 0.08 \mu\text{g g}^{-1} \text{ PS}$ ). En *G. cornea*, la mayor concentración de Fc se encontró en LV para la última semana de cultivo con un valor de  $5.5 \pm 0.20 \mu\text{g g}^{-1} \text{ PS}$  (Tabla 3).

### 6.3.3 Análisis de C: N

La calidad de luz no tuvo efecto ( $F = 0.455$ ,  $p = 0.715$ ) en la relación C: N en *S. filiformis*, sin embargo, se encontró un efecto ( $F = 131.7$ ,  $p < 0.001$ ) derivado del tiempo de cultivo en el experimento de luz individual para todos los tratamientos. Los valores más altos de C: N se observaron en LR ( $8.6 \pm 0.30$ ) y LV ( $8.4 \pm 0.14$ ) ( $p = 1.000$ ) para el día siete y los más bajos en el tratamiento de LB+A. Se encontró una disminución del C: N a través del tiempo en todos los tratamientos individuales de luz en *S. filiformis* (Tabla 3). En *G. cornea*, las relaciones de C: N oscilaron entre  $5.0 \pm 0.17$  (LA en el día siete) y  $8.1 \pm$

**Tabla 3.** Composición de pigmentos y relación C: N de *Solieria filiformis* (Sf) y *Gracilaria cornea* (Gc) bajo el efecto individual de la calidad de luz blanca (LB), azul (LA), verde (LV) y roja (LR) durante el experimento.

	Chl a (mg g <sup>-1</sup> PS)		Car (mg g <sup>-1</sup> PS)		Fe (mg g <sup>-1</sup> PS)		Fc (µg g <sup>-1</sup> PS)		C: N	
	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc
<b>Aclimatación</b>	1.3 ± 0.04	1.4 ± 0.11	0.4 ± 0.00	0.1 ± 0.02	1.5 ± 0.12	1.3 ± 0.10	5.4 ± 0.26	4.8 ± 0.37	7.1 ± 0.34	5.8 ± 0.13
<b>Tiempo inicial</b>	1.6 ± 0.02	0.9 ± 0.05	0.4 ± 0.03	0.2 ± 0.01	1.2 ± 0.15	0.2 ± 0.02	4.3 ± 0.31	2.5 ± 0.10	6.8 ± 0.12	6.0 ± 0.35
<b>Día 7</b>										
LB	2.4 ± 0.17 <sup>bc</sup>	1.4 ± 0.09 <sup>bc</sup>	0.5 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.9 ± 0.08 <sup>e</sup>	0.8 ± 0.10 <sup>d</sup>	4.1 ± 0.16 <sup>c</sup>	3.5 ± 0.14 <sup>de</sup>	7.9 ± 0.31 <sup>b</sup>	5.3 ± 0.05 <sup>d</sup>
LA	1.4 ± 0.28 <sup>e</sup>	1.1 ± 0.07 <sup>de</sup>	0.2 ± 0.02 <sup>cd</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.1 ± 0.15 <sup>de</sup>	0.8 ± 0.02 <sup>d</sup>	4.4 ± 0.29 <sup>c</sup>	3.0 ± 0.09 <sup>e</sup>	7.4 ± 0.14 <sup>b</sup>	5.0 ± 0.17 <sup>d</sup>
LV	1.6 ± 0.18 <sup>de</sup>	1.2 ± 0.05 <sup>de</sup>	0.2 ± 0.03 <sup>bc</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.02 <sup>d</sup>	0.7 ± 0.11 <sup>de</sup>	4.2 ± 0.11 <sup>c</sup>	3.9 ± 0.27 <sup>d</sup>	8.4 ± 0.14 <sup>a</sup>	5.0 ± 0.10 <sup>d</sup>
LR	1.6 ± 0.05 <sup>de</sup>	1.0 ± 0.03 <sup>e</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>bc</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>b</sup>	1.0 ± 0.05 <sup>de</sup>	0.7 ± 0.06 <sup>de</sup>	4.2 ± 0.10 <sup>c</sup>	3.8 ± 0.19 <sup>d</sup>	8.6 ± 0.30 <sup>a</sup>	5.7 ± 1.06 <sup>cd</sup>
<b>Día 14</b>										
LB	2.3 ± 0.16 <sup>bc</sup>	1.5 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.5 ± 0.09 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.01 <sup>a</sup>	3.3 ± 0.25 <sup>b</sup>	0.8 ± 0.03 <sup>de</sup>	13.7 ± 1.43 <sup>a</sup>	3.5 ± 0.27 <sup>de</sup>	6.1 ± 0.22 <sup>cd</sup>	5.9 ± 0.21 <sup>c</sup>
LA	2.2 ± 0.05 <sup>c</sup>	1.4 ± 0.03 <sup>bc</sup>	0.2 ± 0.08 <sup>cd</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>b</sup>	4.0 ± 0.08 <sup>a</sup>	1.1 ± 0.11 <sup>ab</sup>	13.2 ± 1.30 <sup>a</sup>	3.7 ± 0.15 <sup>d</sup>	7.1 ± 1.13 <sup>bc</sup>	5.3 ± 0.10 <sup>d</sup>
LV	2.5 ± 0.05 <sup>ab</sup>	1.7 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.03 <sup>bc</sup>	0.4 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.3 ± 0.15 <sup>c</sup>	0.7 ± 0.08 <sup>de</sup>	8.7 ± 0.18 <sup>b</sup>	3.2 ± 0.16 <sup>de</sup>	6.3 ± 0.11 <sup>cd</sup>	5.4 ± 0.17 <sup>d</sup>
LR	1.8 ± 0.06 <sup>de</sup>	0.9 ± 0.03 <sup>f</sup>	0.07 ± 0.00 <sup>e</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>c</sup>	2.5 ± 0.06 <sup>c</sup>	0.6 ± 0.06 <sup>e</sup>	8.4 ± 0.15 <sup>b</sup>	2.9 ± 0.43 <sup>e</sup>	6.2 ± 0.10 <sup>cd</sup>	5.6 ± 0.22 <sup>cd</sup>
<b>Día 21</b>										
LB	2.4 ± 0.19 <sup>bc</sup>	1.6 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.4 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.14 <sup>d</sup>	1.1 ± 0.08 <sup>bc</sup>	4.4 ± 0.13 <sup>c</sup>	4.4 ± 0.27 <sup>c</sup>	6.0 ± 0.98 <sup>d</sup>	7.7 ± 0.16 <sup>a</sup>
LA	1.9 ± 0.11 <sup>cd</sup>	1.2 ± 0.02 <sup>cd</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>c</sup>	0.2 ± 0.00 <sup>c</sup>	2.3 ± 0.25 <sup>c</sup>	1.2 ± 0.01 <sup>ab</sup>	4.5 ± 0.35 <sup>c</sup>	4.2 ± 0.25 <sup>c</sup>	5.6 ± 0.09 <sup>d</sup>	7.1 ± 0.06 <sup>b</sup>
LV	2.9 ± 0.13 <sup>a</sup>	1.5 ± 0.03 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.3 ± 0.00 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.03 <sup>d</sup>	1.3 ± 0.05 <sup>a</sup>	4.3 ± 0.19 <sup>c</sup>	5.5 ± 0.20 <sup>a</sup>	5.8 ± 0.24 <sup>d</sup>	7.7 ± 0.16 <sup>a</sup>
LR	1.7 ± 0.02 <sup>de</sup>	1.3 ± 0.01 <sup>cd</sup>	0.1 ± 0.01 <sup>d</sup>	0.3 ± 0.01 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.06 <sup>de</sup>	0.9 ± 0.02 <sup>cd</sup>	2.8 ± 0.13 <sup>d</sup>	4.8 ± 0.09 <sup>b</sup>	5.6 ± 0.11 <sup>d</sup>	5.3 ± 0.09 <sup>d</sup>

Letras distintas indican diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media ± DE (n = 5).

**Tabla 4.** Composición de pigmentos y relación C: N de *Solieria filiformis* (Sf) y *Gracilaria cornea* (Gc) bajo el efecto combinado de luz blanca + azul (LB+A) durante el experimento.

	Chl a (mg g <sup>-1</sup> PS)		Car (mg g <sup>-1</sup> PS)		Fe (mg g <sup>-1</sup> PS)		Fc (µg g <sup>-1</sup> PS)		C: N	
	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf	Gc
<b>Tiempo inicial</b>	2.6 ± 0.19	1.4 ± 0.06	0.6 ± 0.08	0.3 ± 0.02	2.1 ± 0.40	0.9 ± 0.37	7.1 ± 1.38	3.0 ± 0.67	5.5 ± 0.04	7.5 ± 0.13
<b>Día 7</b>	2.5 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.6 ± 0.05 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.00 <sup>a</sup>	2.6 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.6 ± 0.06 <sup>b</sup>	7.5 ± 0.29 <sup>b</sup>	2.4 ± 0.17 <sup>b</sup>	5.1 ± 0.27 <sup>a</sup>	7.8 ± 0.22 <sup>a</sup>
<b>Día 14</b>	2.5 ± 0.10 <sup>a</sup>	1.7 ± 0.08 <sup>a</sup>	0.7 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.5 ± 0.00 <sup>a</sup>	3.2 ± 0.16 <sup>a</sup>	1.4 ± 0.07 <sup>a</sup>	9.4 ± 0.31 <sup>a</sup>	3.9 ± 0.16 <sup>a</sup>	5.1 ± 0.19 <sup>a</sup>	8.1 ± 0.42 <sup>a</sup>
<b>Día 21</b>	2.3 ± 0.02 <sup>a</sup>	1.2 ± 0.15 <sup>b</sup>	0.7 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.04 <sup>b</sup>	3.1 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.3 ± 0.03 <sup>a</sup>	8.5 ± 0.72 <sup>ab</sup>	3.6 ± 0.19 <sup>a</sup>	5.2 ± 0.07 <sup>a</sup>	7.9 ± 0.83 <sup>a</sup>

Letras distintas indican diferencias significativas entre el tiempo de cultivo (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media ± DE (n = 7).



0.42 (LB+A en el día 14). Se observó que tanto la calidad de luz, el tiempo ( $p < 0.001$ ), y su interacción ( $F = 24.3, p < 0.001$ ) tuvieron un efecto en el C: N en esta especie. Además, la relación C:N incrementó en la mayoría de los tratamientos monocromáticos para la semana tres excepto en LR.

### 6.3.4 Actividad antioxidante

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.001$ ) en la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *S. filiformis* y *G. cornea* entre los tratamientos de luz individual con el método ABTS, sin embargo, solo se observaron diferencias en los resultados de DPPH en *S. filiformis* (Tabla 5). En todos los tratamientos para ambas especies se observaron valores mayores de inhibición con el método ABTS que con el DPPH. Los valores más altos de actividad antioxidante para *S. filiformis* se obtuvieron en el tratamiento con LB, por otro lado, no hubo diferencias ( $p = 0.309$ ) entre los tratamientos al utilizar DPPH en *G. cornea*. Todos los tratamientos de luz individual en esta especie tuvieron valores de %AA más altos que los valores iniciales de ambos métodos antioxidantes. Se observó lo mismo en *S. filiformis* cuando los talos fueron expuestos a LB. Por último, el mayor incremento en la actividad antioxidante de *G. cornea* se encontró con el método ABTS en el experimento de LB+A.

**Tabla 5.** Capacidad antioxidante de *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* presentada como porcentaje (%) de inhibición con DPPH y ABTS tras el efecto individual de la calidad de luz (blanca, LB; azul, LA; verde, LV; roja, LR) y la combinación de luz blanca + azul (LB+A) en el día 21 de experimentación.

	<i>S. filiformis</i>		<i>G. cornea</i>	
	DPPH	ABTS	DPPH	ABTS
<b>Aclimatación</b>	37.5 ± 3.62	67.4 ± 2.53	50.8 ± 5.45	76.7 ± 3.14
<b>Tiempo inicial</b>	38.3 ± 5.86	72.4 ± 0.71	36.5 ± 1.65	55.6 ± 0.71
LB	56.5 ± 5.09 <sup>a</sup>	79.2 ± 3.02 <sup>a</sup>	51.4 ± 2.87 <sup>a</sup>	59.1 ± 3.41 <sup>b</sup>
LA	17.9 ± 0.35 <sup>c</sup>	42.6 ± 3.72 <sup>c</sup>	46.1 ± 2.76 <sup>a</sup>	72.9 ± 2.15 <sup>a</sup>
LV	39.0 ± 5.49 <sup>b</sup>	63.3 ± 4.88 <sup>b</sup>	44.5 ± 5.52 <sup>a</sup>	77.6 ± 2.11 <sup>a</sup>
LR	28.9 ± 4.92 <sup>bc</sup>	58.9 ± 0.93 <sup>b</sup>	49.4 ± 4.26 <sup>a</sup>	71.9 ± 4.74 <sup>a</sup>
<b>Tiempo inicial</b>	52.2 ± 1.77	77.3 ± 0.25	25.5 ± 0.72	41.9 ± 1.94
LB+A	40.5 ± 2.96	64.2 ± 2.73	39.6 ± 2.52	62.4 ± 3.07

Extractos metanólicos (5 mg mL<sup>-1</sup>). Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media ± DE (n = 5). Control positivo DPPH: 1 mg mL<sup>-1</sup> BHT (77.3 ± 0.35% de inhibición) y 0.4 mg mL<sup>-1</sup> BHA (71.9 ± 0.77% de inhibición). Control positivo ABTS: 0.25 mg mL<sup>-1</sup> BHA (82.6 ± 0.28% de inhibición).

## 6.4 Discusión

La calidad de luz y el tiempo en cultivo tuvieron un efecto en el crecimiento y en la síntesis de pigmentos en las macroalgas rojas *S. filiformis* y *G. cornea*. La exposición a espectros de luz promovió

patrones diferentes de actividad antioxidante en los extractos metanólicos de las especies estudiadas. La mayoría de las respuestas observadas en ambos experimentos están relacionadas con el hábitat donde estas algas pueden ser encontradas. La TCD, la fotosíntesis y el contenido de pigmentos están relacionados con la calidad de luz utilizada en cultivo o a la que se exponen en el medio natural, esta relación se ha demostrado en diversas algas rojas (Leukart y Lüning, 1994). Es importante mencionar que el experimento combinado con LB+A fue propuesto después de realizar el de luz individual, ya que se observó un incremento en el crecimiento con LB y en la síntesis de ficobiliproteínas con la exposición a LA. Por lo tanto, se consideró importante evaluar el efecto combinado en ambas especies.

La TCD máxima observada en *S. filiformis* fue del doble que la encontrada en *G. cornea* en el tratamiento de LB+A. Durante este experimento la TCD en *S. filiformis* fue ~50% más alta que en el control (LB). En diversos trabajos se ha observado que el crecimiento tiende a aumentar con luz blanca en rodofitas como *Porphyra leucosticta* (Korbee et al., 2005), *Gracilaria tikvahiae* (Kim et al., 2015), *Gracilaria birdiae* (Bonomi Barufi et al., 2015) y *Gracilaria* sp (Beer y Levy, 1983). Otros autores han encontrado una respuesta similar al utilizar luz LED en *Pyropia haitanensis* (Wu, 2016), con luz blanca y azul en *Gracilaria fisheri* (Nguyen et al., 2017) y con blanca a 55  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *Palmaria palmata* (Parjikolaei et al., 2013).

Los valores máximos de TCD encontrados en *S. filiformis* fueron mayores que en la mayoría de los estudios mencionados, sin embargo, en *G. cornea* fueron similares o inclusive menores a otras especies de *Gracilaria*. Recientemente, Peñuela et al. (2018) encontraron una TCD similar en cultivos IMTA de *S. filiformis*. Por otro lado, se ha encontrado que la luz azul disminuye el crecimiento en algas rojas (Godínez-Ortega et al., 2008), esto debido a que la actividad fotosintética decrece, lo que se traduce en una baja eficiencia en el transporte de electrones dentro de los fotosistemas (Lüning y Dring, 1985).

En la tercera semana de cultivo, se observó una disminución en el crecimiento de *S. filiformis* en el experimento de luz individual, posiblemente debido al agotamiento de los nutrientes en el medio; sin embargo, este comportamiento no se observó en el tratamiento con LA ni en el experimento de luz combinada (LB+A). Los patrones de crecimiento se mantuvieron estables a través del tiempo en los experimentos con *G. cornea*. La tasa de crecimiento de *S. filiformis* en LR fue similar que, en la primera semana para LB, probablemente debido a las características de la luz blanca cálida utilizada, ya que emite una mayor proporción de luz en el espectro rojo.

Además, se ha reportado que el crecimiento en términos del contenido de carbono tiende a incrementar con luz roja (Figuroa et al., 1995). Es importante enfatizar que la turbulencia, los

nutrientes, la calidad de luz e irradiancia a la que fueron expuestas ambas especies son muy diferentes a las del ambiente en que se desarrollan en el medio natural. Estas algas viven adheridas al sustrato, donde la luz disponible es principalmente azulosa-verdosa y la irradiancia puede ser inclusive menor que la utilizada en los experimentos ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ).

La concentración de pigmentos en *S. filiformis* fue mayor que en *G. cornea*:  $\sim 41\%$  más Chl *a*,  $\sim 37\%$  más Car,  $\sim 64\%$  más Fe y  $\sim 66\%$  más Fc. La síntesis de Chl *a* aumentó respecto al valor inicial en condiciones de LV en ambas especies, un  $4\sim 8$  y  $\sim 52\%$  en *S. filiformis* y *G. cornea*, respectivamente. El mismo efecto se ha reportado en algas rojas del género *Gracilaria* al utilizar luz LED (Bonomi Barufi et al., 2015; Kim et al., 2015). Godínez-Ortega et al. (2008) encontraron también una mayor producción de Chl *a* y Car al exponer a *Halymenia floresii* a condiciones de luz verde.

La producción de Car en las dos algas fue mayor en el tratamiento con LB, para *S. filiformis* hubo un aumento del  $\sim 37\%$  y para *G. cornea* del  $\sim 49\%$  al compararlas con el valor de inicio. Este incremento con LB podría ser una respuesta de autoprotección a un espectro de luz específico o inclusive para optimizar la captura de fotones y promover el crecimiento algal (Andersson et al., 2006). Resultaría interesante realizar un análisis de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC, por sus siglas en inglés) para identificar los carotenoides presentes en ambas algas y explicar con mayor detalle algún comportamiento de fotoprotección.

Por otro lado, el efecto de la calidad de luz en la síntesis de carotenoides se ha reportado en pocas algas rojas y en algunos casos, no se han encontrado diferencias en la producción de Car al exponerlas a distintos espectros de luz (Kim et al., 2015; Wu, 2016; Nguyen et al., 2017). La Fe y la Fc tuvieron el mayor incremento ( $\sim 74\%$ ) en *S. filiformis* en los tratamientos con LA para el día 14. La mayoría de los autores mencionados con anterioridad encontraron una respuesta similar con la exposición a luz azul en la síntesis de ficobiliproteínas.

Se ha demostrado que la luz azul promueve la producción de compuestos nitrogenados en algas debido a una disminución en la densidad del flujo de fotones en el espectro de absorción en la ficoeritrina (Figuerola et al., 1995). Sin embargo, con el experimento de *G. cornea* se observó una mayor síntesis de Fe y Fc con el tratamiento de LV. Este mismo efecto fue encontrado por López-Figuerola y Niell (1989) en la especie *Porphyra umbilicalis* y donde se aprecia un incremento en las ficobiliproteínas con LA y LV en *G. birdiae* (Bonomi Barufi et al., 2015) y *P. leucosticta* (Tsekos et al., 2002). Esta tendencia en la síntesis de ficobiliproteínas se explica debido a que las algas rojas necesitan mejorar su absorción energética para transferir esta energía a las moléculas de clorofila *a* y poder compensar la ausencia de longitudes de onda distintas a las absorbidas por las clorofilas.

Además, se observó un incremento significativo en las ficobiliproteínas de *S. filiformis* en la semana dos, seguido de un decremento para la siguiente semana en los experimentos de luz individual. Este desempeño se relaciona a la falta de nutrientes discutida con anterioridad, ya que se observó la misma tendencia en el crecimiento y la relación C: N en los tejidos de *S. filiformis*. Los resultados en *G. cornea* mostraron un incremento en el contenido de ficobiliproteínas para la tercera semana en la mayoría de los tratamientos, excepto de Fe con la exposición a LA.

La composición de pigmentos en estas especies está muy relacionada con su hábitat, las algas rojas sublitorales producen grandes cantidades de ficobiliproteínas para optimizar la absorción de la luz azul, la cual prevalece en zonas profundas. Aunado a lo anterior, está el hecho de que cada especie ha desarrollado características específicas de captación de luz relacionadas con su morfología y al arreglo de sus sistemas fotosintéticos; esto se ha demostrado con algas sublitorales (Larkum et al., 1967; Leukart y Lüning, 1994).

En general, el contenido de pigmentos determinado en este trabajo fue mayor en *S. filiformis*, lo que podría estar relacionado con las condiciones iniciales de cultivo, su historia de luz previa y a la especie en sí. Sin embargo, los mayores incrementos cuando se comparan con el valor inicial fueron con *G. cornea*. Las concentraciones de Chl *a* y Car en *S. filiformis* fueron mayores en un ~71 y ~34% que las reportadas por Godínez-Ortega et al. (2008) en *H. floresii*. Los valores de Fe encontrados en este trabajo fueron mayores en un ~61% que los reportados por Nguyen et al. (2017) en *G. fisheri* y por López-Figueroa y Niell (1989) en *Porphyra umbilicalis*. Es importante remarcar que en estos trabajos se evaluó el efecto de la calidad de luz en cultivo, pero con irradiancias menores (20 y 80  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y en periodos de tiempo distintos (40 días y 6 h).

Orduña-Rojas et al. (2002a) y Dawes et al. (1999) encontraron valores menores de Fe en talos de *G. cornea* recolectados en la costa de Yucatán y en los cayos de Florida, respectivamente. Por otro lado, la concentración de carotenoides observada en este trabajo fue muy similar a la reportada en *P. haitanensis* por (Wu, 2016). Con los datos anteriores se puede concluir que, si el objetivo es inducir a la síntesis de pigmentos como carotenoides y/o ficobiliproteínas en *S. filiformis*, lo más conveniente es cosechar el material en la primera semana del cultivo, mientras que para optimizar la síntesis de Chl *a* sería en la segunda semana bajo las condiciones utilizadas en este trabajo. El mayor incremento en las ficobiliproteínas se encontró en la semana tres con la especie *G. cornea* en condiciones de luz individual. La combinación de LB+A no tuvo un efecto positivo en la producción de pigmentos en ninguna de las algas estudiadas.

La relación C: N se mantuvo constante a lo largo del cultivo en el experimento combinado de LB+A. El mayor incremento en *S. filiformis* se observó en el día 7 con LR y LV. *S. filiformis* presentó un decremento al día 14 en el experimento de luz individual. *G. cornea* presentó el mayor incremento en C: N (~27%) para el día 21 cuando se expuso a condiciones de LB y LV. Tsekos et al. (2002) reportaron valores mayores de carbono y nitrógeno con LB, debido posiblemente a que contiene todos los espectros de luz. Además, Figueroa et al. (1995) mencionan una mayor incorporación del nitrógeno en la producción de pigmentos, aminoácidos y proteínas solubles utilizando luz azul. Un gran número de estudios que han evaluado la relación de C: N en experimentos de calidad de luz encontraron valores superiores con luz roja. Korbee et al. (2005) y (Figueroa et al. (1995) encontraron un decremento en el C: N a lo largo del tiempo de cultivo en *Porphyra*, a los 7 y 30 días, respectivamente.

Finalmente, se encontró que los extractos metanólicos de *Gracilaria cornea* presentaron mayor actividad antioxidante que los cultivos de *S. filiformis* en condiciones de luz individual. Sin embargo, los mayores incrementos se encontraron en los tratamientos con LB y LB+A para *S. filiformis* y *G. cornea*, respectivamente. Esta respuesta puede explicarse debido al estrés provocado por el aumento de radiación en los experimentos ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  comparado con el periodo de aclimatación ( $\sim 37 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Collén y Davison (1999) han reportado que una respuesta común al estrés es la producción de compuestos antioxidantes y Noctor et al. (2016) mencionan que estos cambios son indicadores de la activación de especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo.

En un trabajo reciente, Le et al. (2018) encontraron en un trabajo reciente, una mayor actividad antioxidante (método DPPH) en los extractos de ulvanos en la macroalga verde *Ulva pertusa* al exponer a LA. Estos autores proponen que la luz azul puede regular la síntesis de polisacáridos, relacionando la alta actividad antioxidante con la presencia de un gran contenido de sulfatos. Para este experimento, los valores de actividad antioxidante fueron  $\sim 79\%$  mayores con la técnica de ABTS que con el protocolo de DPPH. Esa diferencia puede deberse a la complejidad de las reacciones, la cinética, los tiempos del protocolo y los productos contenidos en los extractos metanólicos, de acuerdo con lo propuesto por Rice-Evans et al. (1997). Aunado a lo anterior, Ozgen et al. (2006) observaron que el método DPPH es más eficiente cuando los antioxidantes o extractos evaluados tienen mayor solubilidad en solventes orgánicos.

Kumar et al. (2008) y Souza et al. (2011) encontraron valores similares de %AA con el método DPPH en extractos metanólicos de *Kappaphycus alvarezii* ( $\sim 58\%$ ), *G. birdiae* ( $\sim 55\%$ ) y *G. cornea* a los encontrados en este estudio con *S. filiformis* y *G. cornea*. Por el contrario, estas algas rojas mostraron una mayor actividad antioxidante que en *Rhodymenia pseudopalmata* ( $\sim 15\%$  AA en  $1 \text{ mg mL}^{-1}$ ) por Pliego-

Cortés et al. (2017), *Gracilaria edulis* (~5.20% AA en 1 mg mL<sup>-1</sup>) por Ganesan et al. (2008) y *Acantophora spicifera* (~20% AA en 2 mg mL<sup>-1</sup>) por Zakaria et al. (2011), todos mediante el protocolo DPPH. Sin embargo, Fayaz et al. (2005) reportaron una inhibición de ~80% en extractos metanólicos a una concentración de 1 mg mL<sup>-1</sup> en *K. alvarezii*.

Souza et al. (2012) encontraron ~65% de %AA al evaluar los polisacáridos de *G. birdiae* a una concentración de 2 mg mL<sup>-1</sup> y Sousa et al. (2016) reportaron una actividad de ~90% en los polisacáridos sulfatados (4 mg mL<sup>-1</sup>) de *S. filiformis* usando el método DPPH. Es relevante enfatizar que las macroalgas citadas en estos trabajos son colectadas del medio natural, no son organismos sometidos a condiciones de cultivo.

La capacidad antioxidante de las algas rojas utilizadas para este trabajo podría estar relacionada con los grupos fenólicos presentes en las muestras. Jiménez-Escrig et al. (2001) encontraron una correlación significativa entre el nivel de inhibición en DPPH y la cantidad de compuestos fenólicos en las algas. Esto indicaría que la mayor contribución en la actividad antioxidante proviene de los polifenoles y derivados fenólicos como los aminoácidos tipo micosporina (Devi et al., 2008) y en un menor grado de los antioxidantes hidrofílicos (ficobiliproteínas) e hidrofóbicos (carotenoides) (Chew et al., 2008). Por último, el porcentaje de inhibición fue mayor en los controles positivos (BHT y BHA) que en los extractos metanólicos analizados.

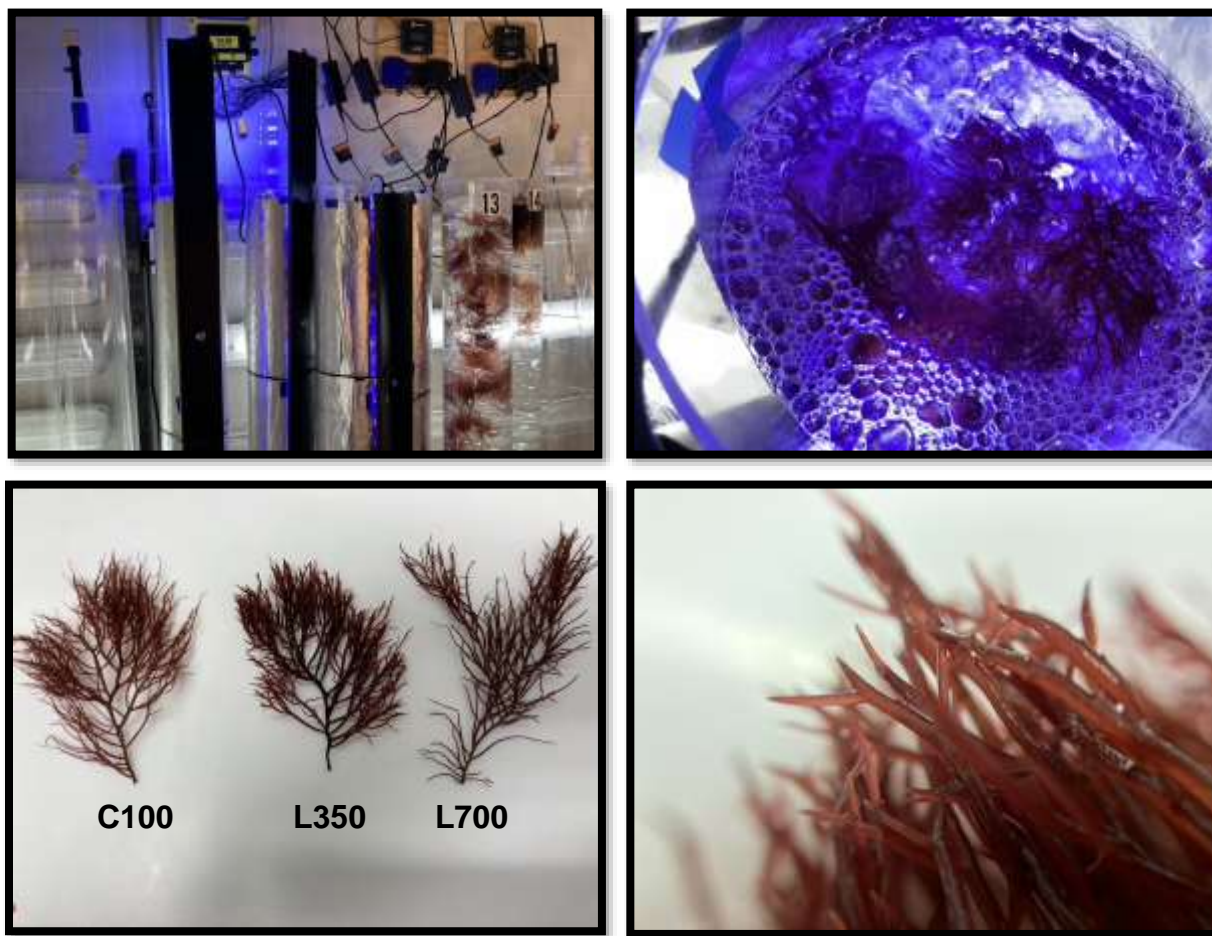
## 6.5 Conclusiones

La calidad de luz puede promover la síntesis de ciertos pigmentos y otros compuestos en las algas rojas tropicales *S. filiformis* y *G. cornea*. Los resultados derivados de los experimentos donde se probaron distintas coloraciones de luz indicaron que el tiempo óptimo de cosecha en términos de biomasa en ambas algas corresponde a la primera semana de cultivo, excepto si se utiliza LA. El experimento con luz combinada LB+A indicó que este tiempo corresponde a la tercera semana para *S. filiformis* y la segunda para *G. cornea*. Los datos obtenidos en este apartado podrían servir de guía para optimizar el uso de estas algas comestibles como productos nutraceuticos, debido principalmente a la capacidad antioxidante encontrada en los extractos metanólicos. Para complementar la información obtenida en términos de su entendimiento fisiológico, es recomendable complementar con evaluaciones fisiológicas y fotosintéticas en las diferentes calidades de luz.

A manera de conclusiones generales del capítulo:

- La LB optimizó la capacidad de inhibición antioxidante en los extractos metanólicos de *S. filiformis* y la síntesis de Car en ambas algas.
- La LV incrementó la síntesis de Chl *a* en *S. filiformis* y la producción de la Fe y Fc en *G. cornea*.
- La LA optimizó la producción de Fe y Fc en *S. filiformis*.
- La combinación LB+A promovió el crecimiento en ambas especies y la actividad antioxidante de los extractos metanólicos de *G. cornea*.
- La macroalga *S. filiformis* alcanzó valores mayores de TDC y concentración de pigmentos que *G. cornea*, sin embargo, esta última mostró un incremento superior en los pigmentos y la capacidad antioxidante en relación con los valores iniciales obtenidos en el período de aclimatación.

## 7. CAPÍTULO II. Evaluación del efecto de la irradiancia y la calidad de luz en los parámetros fisiológicos, bioquímicos y antioxidantes de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis*



Sistema de biorreactores para experimentos de irradiancia, detalle de los talos en movimiento. Diferencias en la morfología de *Solieria filiformis* al finalizar el experimento en luz baja y alta comparada con el control. Detalle de los ápices de *Solieria filiformis*.

\*Parte de los resultados de este capítulo están en formato de artículo científico para ser enviados a la revista *Journal of Applied Phycology* (factor de impacto: 3.215). **Physiology and production of antioxidant compounds of *Gracilaria cornea* (Rhodophyta) by light modulation in controlled systems.**



## 7.1 Introducción

La luz del sol es absorbida de manera eficiente en la superficie del mar, provocando que está sea atenuada rápidamente a través de la profundidad del océano. Solo el 45% de la energía solar penetra a 1 m de profundidad y a 100 m alcanza únicamente el 1%, y no solo se atenúa la irradiancia, sino que se absorben las distintas longitudes de onda. El infrarrojo y el rojo lejano, arriba de los 700 nm, solo penetran a profundidades entre 5 y 6 m, mientras que, la radiación UV es absorbida rápidamente en la columna de agua. No obstante, la radiación UV-B puede penetrar y regular procesos de algunos organismos en los primeros 5 m de profundidad.

Las regiones del espectro electromagnético de la luz en los extremos son las que se atenúan más rápidamente, las longitudes largas son absorbidas primero, siendo la región verde y azul las que logran penetrar a mayor profundidad, inclusive hasta los 200 m en el caso de la azul. Las macroalgas se desarrollan en la región conocida como zona fótica, alrededor de los 130 m de profundidad, donde se encuentra la mayor disponibilidad de la luz para la fotosíntesis (Smith y Tyler, 1976; Bischof et al., 2006; Webb, 2021).

La irradiancia y la calidad de luz, cruciales para desencadenar las respuestas fotosintéticas en algas, son factores que no varían paralelamente en el medio natural. Ambas variables, aunque son reguladas principalmente por la profundidad dependen de otros factores como la turbidez o las partículas suspendidas. Además, los cambios en la irradiancia están regulados por la duración del día, el fotoperiodo, y dan lugar a procesos metabólicos específicos en las algas. Es importante recalcar que estos cambios dependen de la interacción de un gran número de variables ambientales. Por ejemplo, irradiancias altas vienen acompañadas de un aumento en la temperatura, condiciones comunes para las macroalgas expuestas durante la marea baja. También existen factores que interactúan de manera secuencial en el tiempo, tal es el caso de la limitación del nitrógeno en algas rojas que puede promover el consumo de las ficobiliproteínas y en consecuencia reducir la capacidad de captación de luz (Hurd et al., 2014).

La irradiancia regula un gran número de procesos metabólicos en las algas principalmente aquellos relacionados con los procesos de fotosíntesis. Estos organismos cuentan con una capacidad limitada para aceptar energía, ya que la captación de los fotones es modulada por su aparato fotosintético y responde a la especie o grupo algal al que pertenecen. De manera general, las macroalgas expuestas a condiciones limitantes de luz tienden a incrementar sus antenas, aumentando su perfil de pigmentos. Esto les permite eficientizar los procesos de absorción energética, sin embargo, estas

estrategias requieren de una gran inversión energética. Por lo anterior, cuando un organismo que permanece en irradiancias altas es expuesto a intensidades de luz bajas es probable que conlleve a lo que se conoce como “crisis energética”.

En el caso contrario, las macroalgas que permanecen en altas irradiancias tienden a reducir sus antenas para evitar riesgos por sobre excitación en los procesos fotosintéticos (Falkowski y LaRoche, 1991). Una cantidad de luz saturante puede provocar fotoinhibición en los centros de reacción y generar un daño en los organismos como consecuencia de la formación de especies oxidantes. Estos compuestos reducen la actividad de proteínas fotosintéticas encargadas de algunos procesos de fotoprotección (Bischof y Rautenberger, 2012).

La fotosíntesis también es influenciada por los cambios en la composición espectral regulada no solo por la profundidad sino también por los cambios climáticos acontecidos a lo largo del día o por ciclos estacionales. Como ya se ha mencionado, estas condiciones pueden mediar su fotomorfogénesis y el perfil de los pigmentos asociados a sus fotosistemas (Hurd et al., 2014). A pesar de que la calidad de luz juega un papel importante en los procesos metabólicos algales, la irradiancia tiene un mayor efecto en la zonación a lo largo de la columna de agua. Inclusive a pesar de que, en un gran número de zonas, las algas rojas prevalecen y crecen en mayor proporción en profundidades, no necesariamente son el grupo algal dominante a mayor profundidad. Se ha demostrado que la cantidad de pigmentos tiene un mayor efecto en la capacidad fotosintética a irradiancias bajas encontradas en profundidades mayores a 50 m, que los pigmentos como las ficobiliproteínas (Littler et al., 1985).

El crecimiento, la actividad fotosintética, el contenido de pigmentos y la síntesis de otros metabolitos en algas rojas guarda una correlación significativa con la irradiancia y la calidad de luz en cultivo (Leukart y Lüning, 1994). Por ejemplo, las ficobiliproteínas suelen aparecer en condiciones de luz azul mientras que los carotenoides, debido a su capacidad fotoprotectora, se originan bajo irradiancias altas. Lo mismo sucede con los aminoácidos tipo micosporina (MAAs) y los polifenoles, que tienden a sintetizarse con la exposición a luz específica o en condiciones estresantes (Pliego-Cortés et al., 2019). Desde el 2005, Korbee et al. (2005) hablaban sobre el efecto de la luz azul en la acumulación de compuestos nitrogenados, el cual se atribuía a un fotorreceptor no fotosintético relacionado con la síntesis de MAAs.

La gama de pigmentos encontrados en los complejos de absorción de luz y sus respectivos arreglos en los fotosistemas definen su eficiencia fotosintética, modulando su actividad con base en el espectro de luz disponible en la columna de agua (Larkum, 2003). La calidad de luz también tiene un efecto en la producción de polisacáridos. Carmona et al. (1998) observaron un mayor rendimiento de

agar en los talos de *Gelidium sesquipedale* irradiados con luz azul, roja y amarilla que aquellos expuestos a luz blanca. Además, encontraron que la luz azul promueve la síntesis de galactanos en esta especie.

Los pigmentos, MAAs y polisacáridos como el carragenato han demostrado capacidad antioxidante, por ejemplo, algunos carotenoides permiten reducir los efectos negativos causados por radicales libres por su habilidad para donar electrones (Freile-Pelegrín y Robledo, 2013). Polifenoles como los florataninos han mostrado correlación positiva con la actividad antioxidante presente en algunas macroalgas rojas (Kim et al., 2005). De la Coba et al. (2009) reportaron el gran potencial de los MAAs como fotoprotectores debido a su capacidad antioxidante y su protección contra la radiación UV. Además, se ha encontrado que los MAAs imino de *Gracilaria* presentan actividad antioxidante *in vitro* (Torres et al., 2018).

La industria cosmética ha mostrado interés en productos antioxidantes derivados de algas como es el caso de los aminoácidos tipo micosporina, ya que exhiben una protección eficiente contra los rayos UVB y UVA, convirtiéndolos en ingredientes esenciales en la elaboración de protectores solares (Losantos et al., 2017). Estos compuestos presentan una remarcada estabilidad térmica y lumínica, y no producen elementos oxidantes después de la absorción UV. Los MAAs han mostrado propiedades antiinflamatorias y protección del colágeno y elastina presentes en la piel (Vega et al., 2021). Por último, diversos estudios han probado que polisacáridos algales sulfatados como los carragenatos exhiben propiedades biológicas activas (Araújo et al., 2012; Coura et al., 2012; Peñuela et al., 2021; Pliego-Cortés et al., 2022).

De acuerdo con lo anterior se diseñó el experimento descrito a continuación, el cual tiene como objetivo describir los cambios a nivel fisiológico, bioquímico y antioxidante en los talos de *G. cornea* y *S. filiformis* irradiados con diferentes irradiancias. Además, con base en los resultados de la actividad antioxidante de los extractos metanólicos del capítulo anterior se propuso cuantificar algunos de los metabolitos que participan en el entramado antioxidante de estas algas. Esto para complementar la información recabada hasta la fecha y fortalecer su posible utilización en la industria farmacéutica y cosmética.

## **7.2 Materiales y métodos**

Los talos de *G. cornea* fueron colectados el día 21 de octubre de 2020 y los de *S. filiformis* el 4 de mayo de 2021 en la Estación Marina Telchac del CINVESTAV (21°20'28" N, 89°18'25" O) donde se cultivan en tanques al exterior de 1000 L cubiertos con malla sombra, recambio constante de agua y

aireación continua. Las algas se encontraban a una salinidad de 32-34 UPS, temperatura de 28-32 °C e irradiancia de  $\sim 500\text{-}1300 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en la superficie de la columna de agua. El material biológico fue transportado al laboratorio de cultivo de CINVESTAV Mérida, donde se enjuagó con agua marina estéril y cepillado para eliminar epífitos.

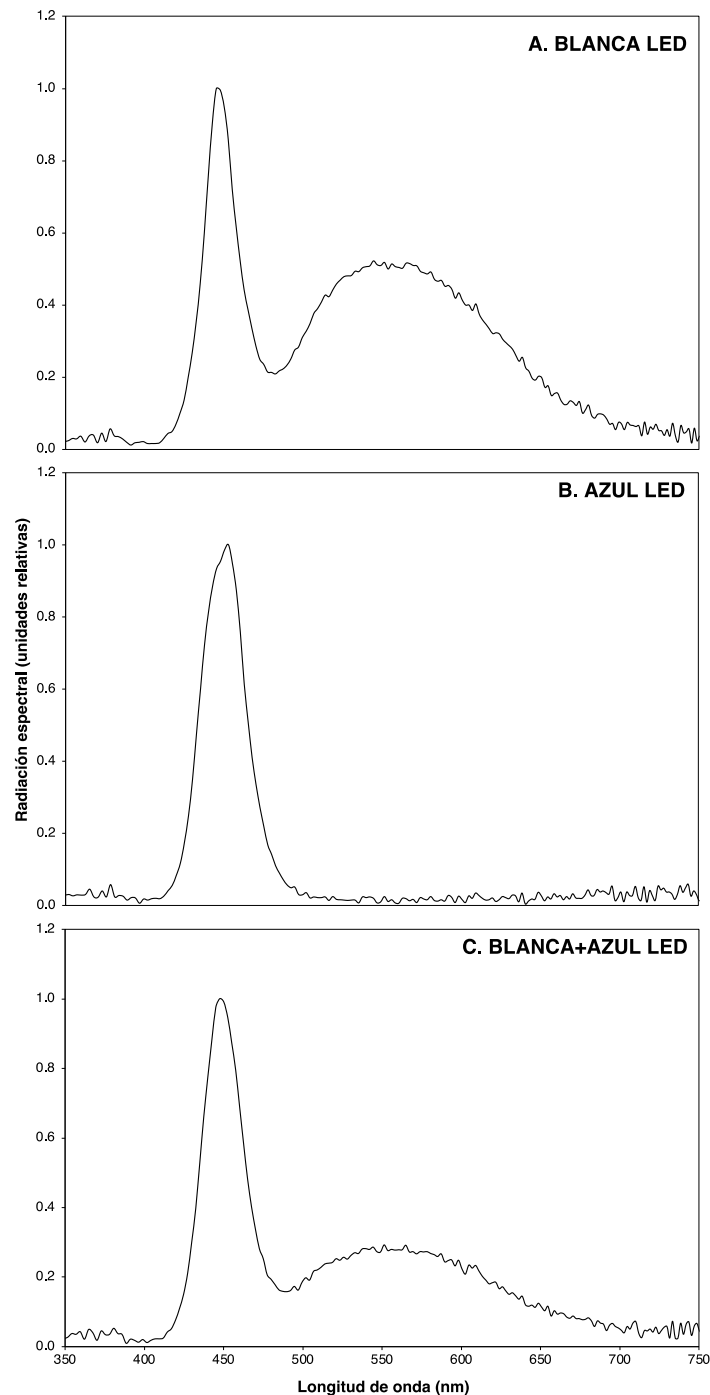
Posteriormente las algas fueron fragmentadas en talos de aproximadamente 3 g, haciendo cortes finos en la región apical. Se mantuvieron a una salinidad de 30 UPS, temperatura de  $21.5 \pm 0.23$  °C, luz blanca a irradiancia de  $111.0 \pm 22.04 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (luz baja) y un fotoperíodo de 12:12 en biorreactores cilíndricos de acrílico con un volumen de 15 L con aireación continua suministrada desde el fondo del recipiente. Los organismos bajo estas condiciones de aclimatación se consideraron control (C100) en el experimento. La irradiancia en el periodo de mantenimiento fue suministrada por lámparas de color blanco Current Orbit IC Pro Duel LED (Blanca fría 400-700 nm, 6500-10,000 K).

El espectro de absorción de las lámparas se midió utilizando un fluorómetro sumergible de pulsos de amplitud modulada Diving Pam II (Walz, Alemania) acoplado con un espectrómetro miniatura Hamamatsu (3.25 cm de diámetro). En la Fig. 11 se muestra la radiación espectral de las lámparas, los valores fueron normalizados en una escala de 0 a 1 tomando como referencia el valor correspondiente al pico máximo. Cada semana se renovó el agua marina (filtrada y esterilizada) sin adición de nutrientes. El tiempo de aclimatación fue de nueve días para *G. cornea* y 28 días para *S. filiformis*, hasta que el valor de eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) permaneció estable con valores entre 0.5 y 0.6 (Fig. 12). La metodología de medición y captura del  $F_v/F_m$  se detalla adelante en el apartado de “Fisiología algal”.

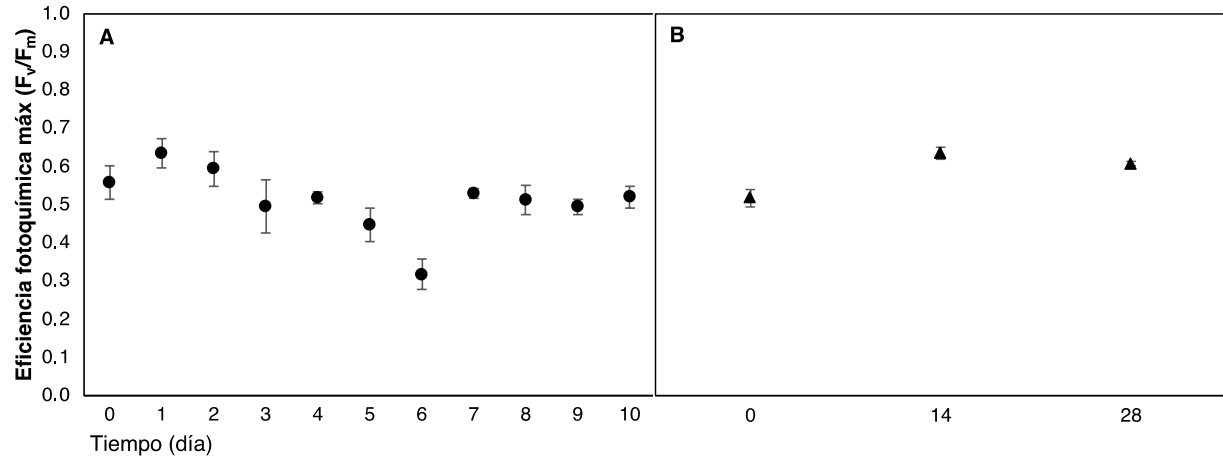
### 7.2.1 Diseño experimental

Los talos fueron colocados en los recipientes ya descritos a una densidad de cultivo de  $\sim 5 \text{ g L}^{-1}$  (aprox. 70 g por biorreactor). Los cilindros transparentes fueron cubiertos con papel aluminio para evitar la luz incidente entre tratamientos y para concentrar la luz y alcanzar las irradiancias utilizadas (Fig. 13). El diseño experimental se dividió en dos irradiancias: luz media de  $325.1 \pm 20.24$  (L350) y luz alta de  $646.3 \pm 22.89$  (L700)  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , las cuales fueron medidas con el irradiómetro descrito en el capítulo anterior. La duración del experimento fue de 14 días para ambas macroalgas. En la primera semana se utilizó luz blanca fría (+B) proporcionada por las lámparas descritas previamente. Este periodo inicial se consideró como la fase de aclimatación en los organismos a las irradiancias de estudio, mayores que las utilizadas para su mantenimiento (C100). En la segunda semana experimental se utilizó una combinación de luz blanca y azul (+A) como en el capítulo I (Fig. 11), debido que en ese

experimento se observó que la luz azul promovió la síntesis de ficobiliproteínas (Tabla 3 en capítulo I).



**Figura 11.** Espectros de absorción de las lámparas utilizadas en el experimento. Luz blanca fría LED 400-700 nm, 6500-10000 K utilizada en el período de mantenimiento (A), luz azul LED 445-460 nm (B) y combinación de luz blanca y azul utilizada durante el experimento (C). La relación espectral fue medida utilizando un Diving PAM II con un micro espectrómetro Hamamatsu (Walz, Alemania).



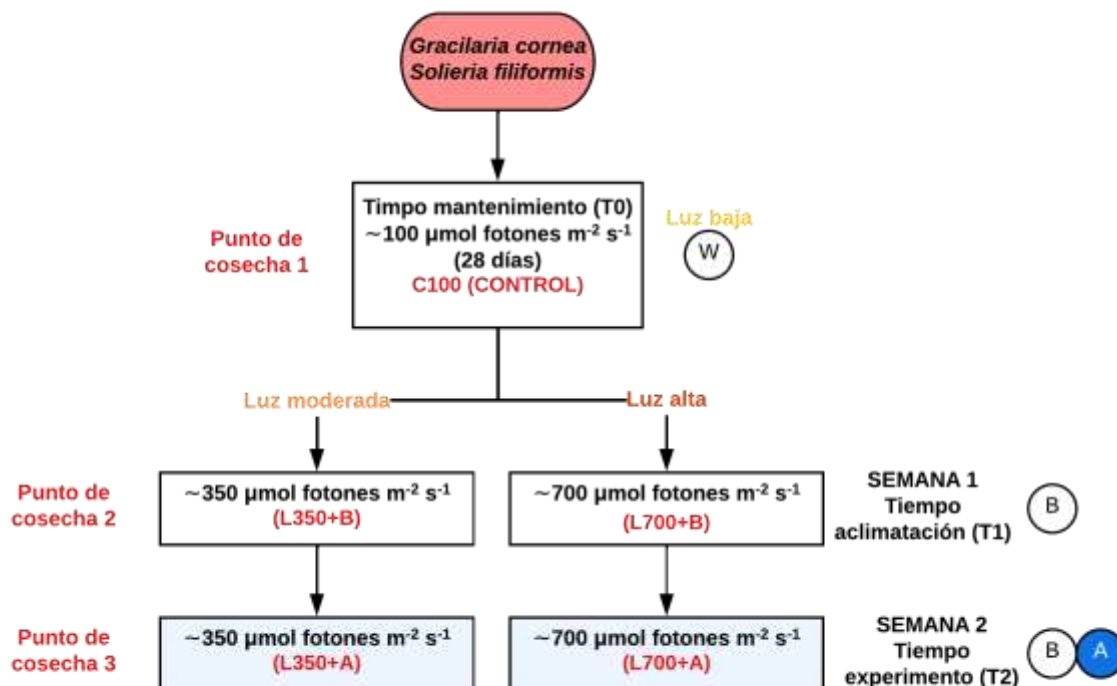
**Figura 12.** Eficiencia fotoquímica máxima en el periodo de mantenimiento (control) a una irradiancia de  $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  en *Gracilaria cornea* (A) y *Solieria filiformis* (B).



**Figura 13.** Montaje experimental para el sistema de biorreactores utilizado en los ensayos con diferentes condiciones de luz del capítulo II. La luz es suministrada a lo largo del cilindro transparente.

La temperatura y la salinidad fueron medidas diariamente; se mantuvieron en  $21.7 \pm 1.28 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $31.7 \pm 0.89 \text{ UPS}$  en el experimento con *G. cornea* y en  $24.1 \pm 1.44 \text{ }^\circ\text{C}$  y  $30.5 \pm 1.49 \text{ UPS}$  para *S. filiformis*. El agua de mar estéril con nutrientes (Provasoli) fue renovada cada semana con el objetivo de evitar contaminación con epifitos y a la vez evitar deficiencia de nitrógeno en el tejido algal. Los epifitos se eliminaron a lo largo del experimento con un cepillo de cerdas suaves en caso de que se detectaran. Se cosecharon talos de *G. cornea* y *S. filiformis* en el día 7 y 14, los cuales se enjuagaron con agua destilada

para eliminar sales, se pesaron y congelaron o liofilizaron para análisis posteriores. Al iniciar el experimento se tomó biomasa y se realizaron los mismos análisis, a esta condición previamente descrita se le denominó control (C100). Se utilizaron cuatro réplicas para las cinco condiciones de luz (Fig. 14): C100 (Tiempo 0 – T0 - mantenimiento), L350+B y L700+B (Tiempo 1 – T1, aclimatación a irradiancias), L350+A y L700+A (Tiempo 2 – T2, fase experimental).



**Figura 14.** Diseño experimental de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* con los cinco tratamientos experimentales: C100, L350+B, L700+B, L350+A, L700+A. Puntos de cosecha 0, 1 y 2 corresponden a los días 0, 7 y 14, cuando se muestrearon los talos para los análisis bioquímicos.

## 7.2.2 Fisiología algal

La tasa de crecimiento diario (TCD) se calculó utilizando las fórmulas presentadas en el capítulo anterior. Se determinó la actividad fotosintética mediante la fluorescencia de la clorofila *a* del fotosistema II (PS II) en términos de eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) utilizando un fluorómetro portátil (PEA Hansatech, UK) acoplado a un clip que permitía colocar la muestra. La  $F_v/F_m$  se evaluó como un indicativo de la “salud” del cultivo, mientras este valor se mantuviera constante o no presentara una disminución abrupta a lo largo del tiempo, los organismos se encontraban con las condiciones idóneas para el experimento. Los talos fueron medidos 30 min después al periodo de luz

cuando se encontraban en oscuridad total. Posteriormente se les incidió luz 100% roja saturante a  $3000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  por 0.1 s con una fuente de luz acoplada al PEA. El valor de  $F_v/F_m$  se midió en cinco talos del material en aclimatación (C100) y en cada una de las réplicas de los tratamientos en los días 7 y 14 del experimento.

Previo a las mediciones puntuales de  $F_{\text{max}}$  y al inicio del experimento se construyeron curvas fotosíntesis-irradiancia con el objetivo de seleccionar las intensidades de luz para el experimento y conocer la respuesta de ambas especies a la exposición lumínica en diferentes irradiancias. Para esto, se evaluó el material inicial de ambas especies (T0,  $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) mediante la incubación en oscuridad (10 min) de los talos para cuantificar la producción de oxígeno a lo largo de un gradiente de irradiancia (períodos de 5-6 min entre  $25\text{-}1500 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en fragmentos de la región apical de entre 100 y 200 mg cortados una hora antes de la medición.

Al finalizar con el gradiente de luz, las muestras permanecieron nuevamente en oscuridad por 10 min para medir la respiración post iluminación. Esto se llevó a cabo en un electrodo polarográfico, el cual cuenta con un electrodo de oxígeno tipo Clark conectado a un sistema de respirometría (DW3-Oxygraph Hansatech, UK) y los datos fueron colectados a través del software Oxyview™. Este sistema utiliza una lámpara Hansatech (LH36/2R LED) para iluminar la cámara respirométrica, donde se colocaron los talos en  $\sim 15$  mL de agua de mar estéril a temperatura constante. Se agregó bicarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ,  $4.5 \mu\text{M}$ ) al medio para eliminar la limitación por carbono.

La fotosíntesis máxima ( $F_{\text{max}}$ ), la pendiente inicial ( $\alpha$ ), la respiración en oscuridad (RO), la respiración en luz (RL) y el índice de luz saturante ( $E_k$ ) se determinaron utilizando las curvas fotosíntesis - irradiancia (P-I) de acuerdo con lo descrito por Vásquez-Elizondo y Enríquez (2016). La  $F_{\text{max}}$ , RO y RL se normalizaron con base en el peso fresco y se expresaron en  $\mu\text{mol O}_2 \text{g PF}^{-1} \text{h}^{-1}$ , mientras que el  $E_k$  se expresó en  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y  $\alpha$  como  $\mu\text{mol O}_2 \text{g PF}^{-1} \text{h}^{-1} (\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1})^{-1}$ .

Con base en los resultados de la curva P-I del periodo de aclimatación (C100) en *S. filiformis* se propusieron las irradiancias para el experimento en ambas algas, la irradiancia nombrada como L350 ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) corresponde a la intensidad de luz donde se observó una inflexión en la curva P-I mientras que L700 ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) es el doble de está irradiancia y el primer punto en la curva donde se observó saturación (Fig. 15). Como referencia y comparación se hicieron las curvas P-I para el tratamiento de luz alta durante la semana de aclimatación (T1 (+B),  $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en las dos especies.

La irradiancia juega un papel importante en los procesos fotosintéticos de las algas, por lo mismo se evaluó la producción de oxígeno en el tejido algal fresco de *G. cornea* y *S. filiformis*. Con esto,



se obtuvo un descriptor adicional para poder explicar la respuesta fisiológica de los organismos. Por motivos de tiempo, solo se midieron los valores de  $F_{\max}$  y RL en una irradiancia puntual (donde se observó el  $F_{\max}$  en las curvas P-I):  $648 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para los organismos del tratamiento L350 y  $944 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  para L700. Estas mediciones se hicieron en el día 7 y 14 del experimento.

### 7.2.3 Análisis de pigmentos

La clorofila *a*, carotenoides totales y ficobiliproteínas (ficoeritrina y ficoeritrocianina) fueron extraídos y cuantificados siguiendo el protocolo descrito en el capítulo I. Los datos de concentración de pigmentos se expresaron como  $\mu\text{g g PS}^{-1}$ . Los carotenoides totales fueron cuantificados espectrofotométricamente como primer indicativo de la producción de pigmentos accesorios. Además, se cuantificaron las ficobiliproteínas, siendo estos pigmentos característicos de las algas rojas, con el objetivo de observar la respuesta de ambas algas bajo diferentes irradiancias.

El arreglo de los ficobilisomas en algas rojas es un indicativo de la fisiología en algas rojas, su estructura en conjunto con su morfología nos ayuda a entender las tácticas utilizadas por estos organismos con relación a sus procesos fotosintéticos. Por ello se calcularon las relaciones de Chl *a*/Fe en cada una de las condiciones experimentales. Por otro lado, con el propósito de contar con un indicativo inicial de las diferencias en la concentración de pigmentos entre los tratamientos experimentales, se leyeron las absorbancias del extracto utilizado para cuantificar la concentración de pigmentos. Para esto, se realizó un barrido espectrofotométrico de 400 a 700 nm en el extracto acetónico y en el buffer de fosfatos para cada uno de los tratamientos.

Con el objetivo de identificar los pigmentos que participan en los procesos de fotoprotección o captación de luz durante el experimento y para complementar la información en términos del perfil pigmentario se realizaron análisis en HPLC. Por lo tanto, para la identificación y cuantificación de los carotenoides en HPLC, las muestras previamente liofilizadas fueron extraídas con una mezcla de acetona 75% y ácido acético 0.5% a una concentración de  $80 \text{ mg PS mL}^{-1}$ . Los extractos fueron puestos en un sonicador con hielo por cinco minutos y posteriormente en agitación a 700 rpm a temperatura ambiente ( $20 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ) por una hora. Posteriormente se centrifugó a 1000 rpm por 10 minutos y el sobrenadante se colocó en un vial para HPLC (Prior et al., 2010).

El análisis se realizó en un UHPLC Dionex UltiMate™ 3000 (Thermo Scientific™) con un protocolo de HPLC modificado de Silkina et al. (2009). Los carotenoides se separaron con una columna NUCLEODUR 100-5 C18ec (250 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Macherey-Nagel) unida a una columna

de guardia. Se inyectaron 100  $\mu\text{L}$  de los extractos en una corrida de 40 min por muestra. El flujo fue de 1.4  $\text{mL min}^{-1}$  y se utilizó el gradiente de solventes descrito en la Tabla 6. Para la detección de los pigmentos se utilizó un detector de arreglo de diodos (DAD-3000) y se leyó a longitudes de onda de 410, 430, 440 y 450 nm, siendo la de 440 donde se detectaron los mayores picos de absorción.

La identificación y cuantificación de cada pigmento carotenoide se basó en la comparación espectral y tiempos utilizando estándares comerciales de: astaxantina (Atx), luteína (Lut),  $\alpha$ -caroteno ( $\alpha$ -car) (Sigma Aldrich, EUA) y  $\beta$ -caroteno ( $\beta$ -car), zeaxantina (Zxt) (DHI, Dinamarca). Los datos fueron expresados en  $\mu\text{g g PS}^{-1}$  y se colectaron utilizando el software Dionex Chromeleon 7.2.10 (Thermo Scientific).

**Tabla 6.** Gradiente de solventes en HPLC para análisis de pigmentos. (A) acetato de amonio ( $175 \text{ g L}^{-1}$ ), (B) metanol, (C) acetonitrilo, (D) acetato de etilo.

Tiempo (min)	%A	%B	%C	%D
0.000	13.0	51.0	36.0	0.0
30.000	60.5	8.5	31.0	58.4
30.000	13.0	51.0	36.0	0.0
40.000	13.0	51.0	36.0	0.0

## 7.2.4 Contenido de C y N

El nitrógeno (N) participa en la producción de proteínas en el tejido y es considerado un recurso limitante en el cultivo algal. Evaluar los valores de N en los talos nos permite relacionarlo con la síntesis de biliproteínas y micosporinas. El contenido de carbono (C) y nitrógeno (N) se cuantificó y analizó mediante combustión completa en muestras de 10 mg de peso seco utilizando un analizador FlashEA 1112 (Thermo, Italia).

## 7.2.5 Análisis de fenoles

Los polifenoles son un elemento clave de la capacidad antioxidante en extractos metanólicos en algas, por lo tanto, su cuantificación añade una pieza más para el entendimiento de la actividad bioactiva en estas especies. Para la determinación de fenoles totales se tomaron 2 g  $\text{PF}^{-1}$  de alga, se efectuaron extracciones con metanol 100% durante 24 horas, se recuperó el sobrenadante y se llevó a cabo una segunda extracción por otras 24 h. Posteriormente los extractos fueron secados utilizando un rotavapor con vacío (Buchi, Suiza) y resuspendidos en metanol 100% a  $5 \text{ mg mL}^{-1}$ .

Los polifenoles totales fueron cuantificados con el ensayo de Folin-Ciocalteu adaptado para microplacas (Zhang et al., 2006). Se tomaron 20  $\mu\text{L}$  del extracto, se agregaron 100  $\mu\text{L}$  del reactivo Folin-Ciocalteu y 80  $\mu\text{L}$  de carbonato de calcio ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) al 7.5%. Finalmente se agitó con ayuda del vórtex, posteriormente se colocó en obscuridad por dos horas y se leyó a 750 nm en el espectrofotómetro para microplacas Multiskan GO UV/Vis (Thermo Fischer Scientific, USA). Previamente se preparó una curva de calibración entre 6.25 y 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de floroglucinol con la que se calculó la concentración en las muestras. El contenido total de fenoles (CTF) fue expresado como miliequivalentes de floroglucinol.

### 7.2.6 Capacidad antioxidante

Diversos estudios han relacionado la capacidad antioxidante de algas con la producción de ficobiliproteínas y polifenoles. La evaluación de los extractos algales en conjunto con los resultados de los metabolitos mencionados nos da una visión general de la capacidad que tienen las algas de estudio para contrarrestar el efecto del proceso de oxidación provocado principalmente por procesos de estrés.

La actividad antioxidante de los extractos metanólicos y buffer de fosfatos (utilizados para el análisis de fenoles y ficobiliproteínas, respectivamente) se determinó utilizando tres metodologías: DPPH (Zubia et al., 2009) modificado por Fukumoto y Mazza (2000) y Turkmen et al. (2007), ABTS (Arnao et al., 2001) con algunas modificaciones y el ensayo de poder reductor antioxidante del ion férrico o FRAP por sus siglas en inglés (Kenny et al., 2015); todas adaptadas para placas de 96 pocillos y leídas en el espectro utilizado para fenoles. Fueron utilizadas tres metodologías ya que cada una responde a los diferentes compuestos y reacciones químicas en los extractos crudos, lo cual amplía el panorama en términos de la respuesta antioxidante.

Para el DPPH se preparó una solución 0.25 mM del reactivo y se disolvió en metanol 100%. De esta preparación, se tomaron 180  $\mu\text{L}$  y se mezclaron con 20  $\mu\text{L}$  de la muestra. La placa se mantuvo en obscuridad total durante una hora y se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm. Para el ABTS se preparó una solución 7mM del reactivo, se tomaron 200  $\mu\text{L}$  y se añadieron 20  $\mu\text{L}$  de la muestra. La reacción se dejó reposar por 10 min en obscuridad y se leyó a 734 nm. La actividad antioxidante de DPPH y ABTS se calculó utilizando la formula descrita en el capítulo I y los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición.

Para el protocolo de FRAP se preparó una solución con buffer de acetato 300 mM, cloruro férrico 20 mM y TPTZ 10 Mm, a la que se le denominó como “solución FRAP”. Para cuantificar las

muestras se preparó una curva utilizando Trolox, con valores que iban de [0 a 480]. La reacción se llevó a cabo tomando 25  $\mu\text{L}$  de la muestra y se mezcló con 175  $\mu\text{L}$  de la solución FRAP. Se utilizó metanol y agua destilada como blanco. La placa se mantuvo a 37 °C en un baño maría por 40 minutos y posteriormente se leyó a 593 nm. Los valores se expresaron en miliequivalentes de Trolox. Como control negativo se utilizó metanol y BHA y BHT como controles positivos. Para complementar, se evaluó la actividad antioxidante en estándares comerciales de Chl *a* (BioChemika), R-Ficoeritrina y C-Ficocianina (Sigma Aldrich) con los tres protocolos descritos.

### 7.2.7 Análisis de micosporinas

Los aminoácidos tipo micosporina son considerados los antioxidantes naturales más potentes conocidos, su síntesis en algas rojas está relacionada con la irradiancia y disposición de nutrientes en el medio, principalmente del nitrógeno. Estos metabolitos son un indicativo importante del potencial antioxidante en especies de algas y no se han caracterizado hasta la fecha en el alga *S. filiformis*. Por lo tanto, se consideró importante realizar un análisis exploratorio y generar información adyacente para explicar los resultados en su conjunto.

Los análisis de MAAs se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología y Química Marina de la Universidad de Bretaña Sur (Campus Tohannic), Francia. Para la extracción de micosporinas se tomaron entre 150-200 mg de alga seca liofilizada ( $n = 2$ ) y se le añadió etanol 70% (1.5-2 mL). Las muestras se agitaron con vórtex y se colocaron en un agitador a 700 RPM por dos horas a 45°C (Bedoux et al., 2020). El extracto se centrifugó a 12,000 RPM por 10 min, se recuperó el sobrenadante y se evaporó en un concentrador Duo miVac (Genevac Limited, Reino Unido) a 40 °C y una presión de 28 mbar. Las muestras secas fueron almacenadas a -20 °C para su análisis posterior. El material fue resuspendido en agua filtrada Milli-Q, metanol al 5% y ácido acético 0.1% a una concentración de 100  $\text{mg mL}^{-1}$ , se agitó y centrifugó nuevamente a 12,000 RPM por 10 min (Hardouin et al., 2022).

El sobrenadante fue recuperado y se colocó en un vial para ser analizado en un UHPLC Dionex UltiMate™ 3000 (Thermo Scientific™) equipado con un detector con arreglo de diodos (DAD-3000). Se utilizó una columna de fase inversa NUCLEODUR 100-5 C<sub>18</sub> (250 x 4.6 mm, 5  $\mu\text{m}$ ; Macherey-Nagel) acoplada a una precolumna. Para el análisis se inyectaron 20  $\mu\text{L}$  del extracto con un flujo de 0.5  $\text{mL min}^{-1}$  en una corrida de 40 min por muestra, donde en la fase móvil se utilizaron agua Milli-Q con 0.1% de ácido acético y metanol 100% (Tabla 7). Los MAAs fueron detectadas a 320, 330, 334, 360 nm y los datos recolectados con el software Dionex Chromeleon 7.2.10 (Thermo Scientific).

Finalmente, los picos individuales fueron identificados con base en el máximo de absorción y el tiempo de retención (Rt) en la longitud de onda de 334 nm de acuerdo con la literatura disponible (Lalegerie et al., 2019). Los datos fueron normalizados y expresados en mUA 100 mg PS<sup>-1</sup> de alga.

**Tabla 7.** Gradiente de solventes en HPLC para análisis de micosporinas. (A) agua Milli-Q con ácido acético 1%, (B) metanol 100%.

Tiempo (min)	%A	%B
0.000	97.5	2.5
22.000	97.5	2.5
27.000	20.0	80.0
30.000	20.0	80.0
32.000	97.5	2.5

### 7.2.8 Análisis químico de polisacáridos

Los polisacáridos de algas han exhibido actividad bioactiva en diferentes niveles, destacando principalmente sus propiedades antioxidantes y antivirales. Las algas rojas producen los ficocoloides agar y carragenato bajo condiciones particulares con el objetivo de lidiar con el estrés ambiental. Los agares de algunas especies de *Gracilaria* combinados con otros compuestos muestran capacidad antioxidante (Rodríguez-Félix et al., 2018; Roy y Rhim, 2019). *Solieria filiformis* puede sintetizar polisacáridos sulfatados que según diversos estudios presentan una actividad significativa y mayor que en otras especies (Sousa et al., 2016; Peñuela et al., 2021). El estudio de estos carbohidratos complejos permite no solo entender más acerca de la capacidad antioxidante en especies algales, sino comprender los mecanismos que han desarrollado estos organismos para sobrevivir en su hábitat.

Para la extracción de agar nativo (*G. cornea*) y carragenato (*S. filiformis*) se utilizó la técnica asistida por microondas (MAE, por sus siglas en inglés) descritas por Freile-Pelegrín y Robledo (1997), Vázquez-Delfín et al. (2014) y Boulho et al. (2017). Se tomó 1 g de alga seca molida de cada tratamiento, se hidrató en agua destilada a temperatura ambiente y se colocó en un vaso de reacción hermético (OMNI/Xpress-1500) para prevenir la pérdida de muestra y agua. En el proceso de extracción se utilizó un sistema de microondas con reacción acelerada (MARS 800W, CEM, Matthews, NC, USA) a 100 °C para el agar y 105 °C para carragenato por 20 min. Las condiciones de temperatura y presión (159 kPa) se monitorearon durante el proceso de extracción.

Al terminar, el extracto de agar se vació en un filtro Sartorius Mini a través de un embudo de plástico, se recuperó, gelificó a temperatura ambiente y congeló por 24 h. En el caso del carragenato, al recuperarse el filtrado este se mantuvo a 66 °C, se ajustó el pH (8.5-8.6) y se le añadieron 50 mL de

Cetavlon 2% para precipitar el ficocoloide y filtrar por gravedad. Se le añadieron tres fracciones de 12.6 mL de etanol 95% saturado con acetato de sodio. Posteriormente se descongeló el agar y el carragenato a temperatura ambiente, se drenó el agua en la muestra y el material obtenido se secó en estufa a 60 °C durante un día. Finalmente se colocó en desecador, se pesó después de una hora y se calculó el rendimiento (%) tomando como referencia el peso obtenido y el inicial.

Se analizó la 3,6 anhidrogalactosa (3,6 AG) y el contenido de sulfatos ( $\text{SO}_4^{2-}$ ) en los extractos de agar y carragenato con el procedimiento descrito por Matsuhira y Zanolungo (1983) y Jackson y McCandless (1978), respectivamente. Para el análisis de 3,6 AG se pesaron 7.5 mg del polisacárido correspondiente, los cuales se aforaron en 50 mL de agua destilada, se tomaron 2 mL, se le añadieron 0.5 mL de Timol/etanol 5% y 5 mL de cloruro de hierro/ácido clorhídrico 0.5%. Inmediatamente después de calentó a 80 °C en un baño con temperatura controlada por 13 min, luego se enfrió utilizando hielo y se diluyó con 10 mL de etanol para ser leído a 635 nm. Para determinar la concentración de 3,6 AG se construyó una curva de calibración con agarosa y se utilizó como control agar de *Gracilaria*.

En el caso del análisis de  $\text{SO}_4^{2-}$  se utilizaron 5 mg del ficocoloide, se le agregó 1 mL de HCl 1N y se calentó por 12 h a 105 °C en un bloque de calentamiento. Después se le agregaron 10 mL de agua desionizada, se filtró con papel Whatman 1.2  $\mu\text{m}$  y se tomó una alícuota de 1.1 mL para el análisis. A esta alícuota se le añadieron 1.2 mL de TCA 8% y 0.6 mL de reactivo de agarosa 0.01%, la mezcla se dejó reposando por 35 min, se agitó y se leyó en el espectrofotómetro a 500 nm. Para el cálculo de los sulfatos se construyó una curva de calibración utilizando una solución patrón de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  y como control se usó agar de la marca Hispanagar (4.7% de sulfatos). La concentración de 3,6 AG y de  $\text{SO}_4^{2-}$  se expresó en porcentaje.

### 7.2.9 Análisis estadístico

Los datos fisiológicos y bioquímicos se presentan como la media  $\pm$  desviación estándar ( $n = 4$ ), excepto en los resultados de  $F_v/F_m$ , polisacáridos y MAAs que corresponden a cinco, cuatro y dos replicas, respectivamente. Se utilizó ANOVA de dos vías para analizar el efecto de la irradiancia y la calidad de luz (tiempo) en las variables dependientes que cumplieron con los supuestos de normalidad, en caso contrario se utilizó la prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis. Las pruebas de homogeneidad de varianzas (Levene) y de normalidad (Shapiro-Wilk) se realizaron previo a los análisis; se aplicaron transformaciones Log10 cuando fueron necesarias.

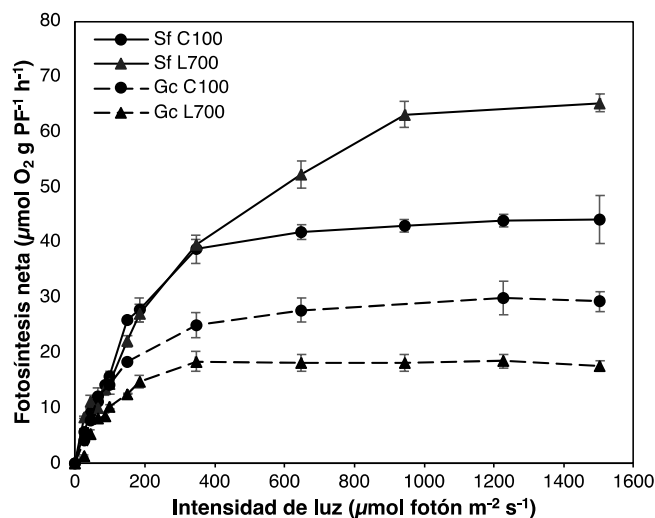
Las diferencias significativas entre tratamientos se analizaron utilizando la prueba *a posteriori* de Tukey ( $p < 0.05$ ). Para comparar los descriptores fotosintéticos en las curvas P-I en las algas aclimatadas a luz baja (C100) y alta (L700) se utilizó la prueba t de Student. Se hicieron correlaciones de Pearson entre la capacidad antioxidante y los metabolitos analizados y entre las variables fisiológicas y los pigmentos. Todas las pruebas y análisis estadísticos se hicieron con el programa estadístico Jamovi versión 2.0 y las gráficas se diseñaron utilizando GraphPad Prism 8 (Apéndice 1).

## 7.3 Resultados

### 7.3.1 Fisiología algal

Los resultados muestran que no hubo diferencias significativas en la tasa de crecimiento diario (TCD) entre los tratamientos de luz en las algas evaluadas. En este experimento, la TCD en *G. cornea* presentó valores entre 1.6-2.2% día<sup>-1</sup> y para *S. filiformis* de 2.1-4.2% día<sup>-1</sup>.

Las curvas P-I (Fig. 15) se construyeron utilizando regiones apicales de talos de *G. cornea* y *S. filiformis*, los cuales fueron expuestos a dos condiciones de luz: C100 – control ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) y luz alta blanca – L700+B ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , aclimatación) a partir de un gradiente de irradiancia. Los valores de fotosíntesis neta se distanciaron significativamente entre las especies estudiadas y las irradiancias probadas; sin embargo, con luz alta (L700) se alcanzaron resultados superiores en *S. filiformis*, y con luz baja (C100) en *G. cornea*.



**Figura 15.** Curvas P-I de *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* en la condición inicial (control –  $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) e irradiancia de  $700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (L700+B) en período de aclimatación. Los valores simbolizan la media  $\pm$  EE.

En la Tabla 8 se presentan los valores de respiración en oscuridad (RO), alfa o eficiencia fotosintética ( $\alpha$ ) que corresponde a la pendiente inicial antes de la saturación, fotosíntesis máxima ( $F_{\max}$ ), irradiancia de saturación ( $E_k$ ) y respiración en luz (RL) para ambas algas. En el caso de *G. cornea*, se observó que la irradiancia no tuvo un efecto significativo en los resultados de RO ( $p = 0.894$ ) y  $E_k$  ( $p = 0.181$ ). Del mismo modo, en *S. filiformis*, la irradiancia no mostró un efecto significativo en los valores de  $\alpha$  ( $p = 0.590$ ). Sin embargo, se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) en los valores de  $\alpha$ ,  $F_{\max}$  y RL en *G. cornea* (disminución con luz alta) y en RO,  $F_{\max}$ ,  $E_k$  y RL en *S. filiformis* (aumento con luz alta).

Como se puede observar en la Fig. 16, la eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) no presentó diferencias significativas durante el periodo experimental en *G. cornea*. Por otro lado, se observó un efecto significativo de la irradiancia ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.461$ ) sobre los valores de  $F_v/F_m$  en *S. filiformis*. La mayoría de los tratamientos presentaron una disminución de este indicador al comparar con los valores medidos en el control (C100), excepto en L350+B para la semana de aclimatación.

La irradiancia tuvo un efecto en los valores de  $F_{\max}$  (Fig. 16) evaluados puntualmente durante la fase de experimentación en *G. cornea* ( $p = 0.007$ ,  $n^2 = 0.108$ ) y *S. filiformis* ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.520$ ). En L350 el valor de  $F_{\max}$  aumentó para la segunda semana de cultivo para *G. cornea*, lo mismo se observó para *S. filiformis* bajo la misma irradiancia con adición de luz azul. En L700 se observó una disminución en  $F_{\max}$  para ambas especies. El valor más alto de  $F_{\max}$  en *S. filiformis* fue encontrado en L700+B, incluso mayor al valor inicial o control. Los resultados de RL presentados en la Tabla 9 fueron modulados por la interacción de la irradiancia y la calidad de luz tanto en *G. cornea* ( $p = 0.021$ ,  $n^2 = 0.321$ ) como en *S. filiformis* ( $p = 0.032$ ,  $n^2 = 0.320$ ). La RL disminuyó en el tiempo con respecto a C100 para *G. cornea*, excepto L700+A donde no hubo cambios. En *S. filiformis* se observó un incremento con luz alta (L700) en la semana de aclimatación, sin embargo, para la segunda semana disminuyó al mismo nivel que los calculado para el tratamiento control.



**Tabla 8.** Descriptores fotosintéticos obtenidos a partir de las curvas P-I en los talos de *Gracilaria cornea* (*Gc*) y *Solieria filiformis* (*Sf*) expuestas a la irradiancia control (C100) en T0 y luz blanca a 700  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (L700, aclimatación) en T1. RO: respiración en oscuridad (antes de la primera irradiancia);  $\alpha$ : pendiente inicial;  $F_{\text{max}}$ : fotosíntesis máxima;  $E_k$ : irradiancia de saturación; RL (respiración en luz, post curva de irradiancia).

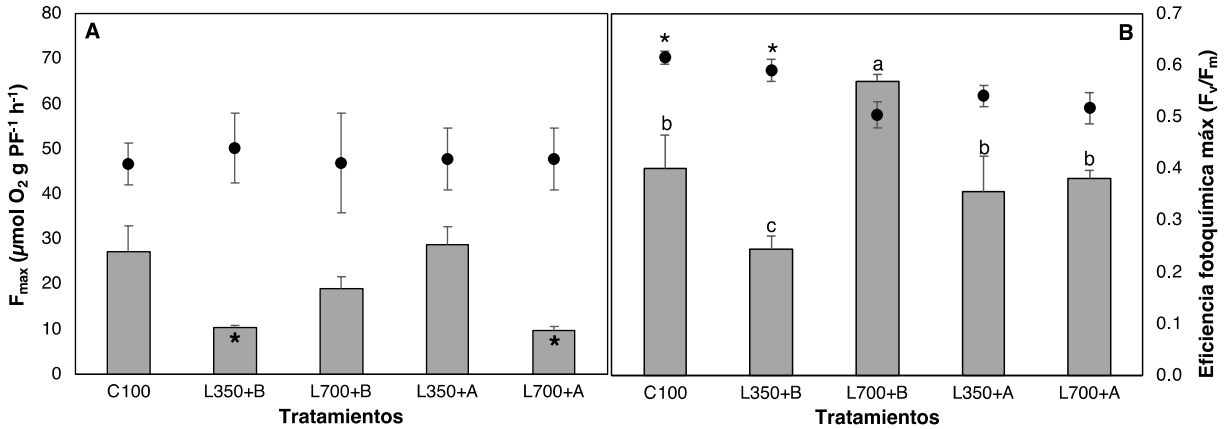
Tratamiento luz	RO ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g PF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )		$\alpha$ ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g PF}^{-1} \text{ h}^{-1} / \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		$F_{\text{max}}$ ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g PF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )		$E_k$ ( $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )		RL ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g PF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	
	<i>Gc</i>	<i>Sf</i>	<i>Gc</i>	<i>Sf</i>	<i>Gc</i>	<i>Sf</i>	<i>Gc</i>	<i>Sf</i>	<i>Gc</i>	<i>Sf</i>
<b>C100</b>	-7.0 $\pm$ 0.75	-5.0 $\pm$ 0.76	0.16 $\pm$ 0.017*	0.17 $\pm$ 0.006	27.2 $\pm$ 3.32*	47.0 $\pm$ 2.29	167.7 $\pm$ 22.86	287.3 $\pm$ 5.21	-10.2 $\pm$ 0.29*	-7.0 $\pm$ 1.19
<b>L700</b>	-6.9 $\pm$ 0.30	-11.7 $\pm$ 1.27*	0.09 $\pm$ 0.003	0.16 $\pm$ 0.016	19.0 $\pm$ 1.60	65.0 $\pm$ 0.84*	208.5 $\pm$ 10.78	376.3 $\pm$ 19.84*	-6.7 $\pm$ 1.20	-13.9 $\pm$ 1.12*

Superíndice \* denota diferencias significativas. Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE (n = 4).

**Tabla 9.** Resultados de respiración medida después de la exposición de luz en los talos de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* en los tratamientos a lo largo del tiempo de cultivo. RL: respiración post luz.

Semana	Tratamientos	RL ( $\mu\text{mol O}_2 \text{ g PF}^{-1} \text{ h}^{-1}$ )	
		<i>G. cornea</i>	<i>S. filiformis</i>
0	C100	-10.3 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>	-7.0 $\pm$ 1.19 <sup>b</sup>
1	L350+B	-7.2 $\pm$ 0.28 <sup>b</sup>	-7.9 $\pm$ 3.87 <sup>ab</sup>
	L700+B	-6.7 $\pm$ 2.07 <sup>b</sup>	-13.9 $\pm$ 1.12 <sup>a</sup>
2	L350+A	-7.5 $\pm$ 0.72 <sup>b</sup>	-8.4 $\pm$ 3.25 <sup>ab</sup>
	L700+A	-10.1 $\pm$ 1.25 <sup>ab</sup>	-5.7 $\pm$ 2.02 <sup>b</sup>

Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE (n = 4).

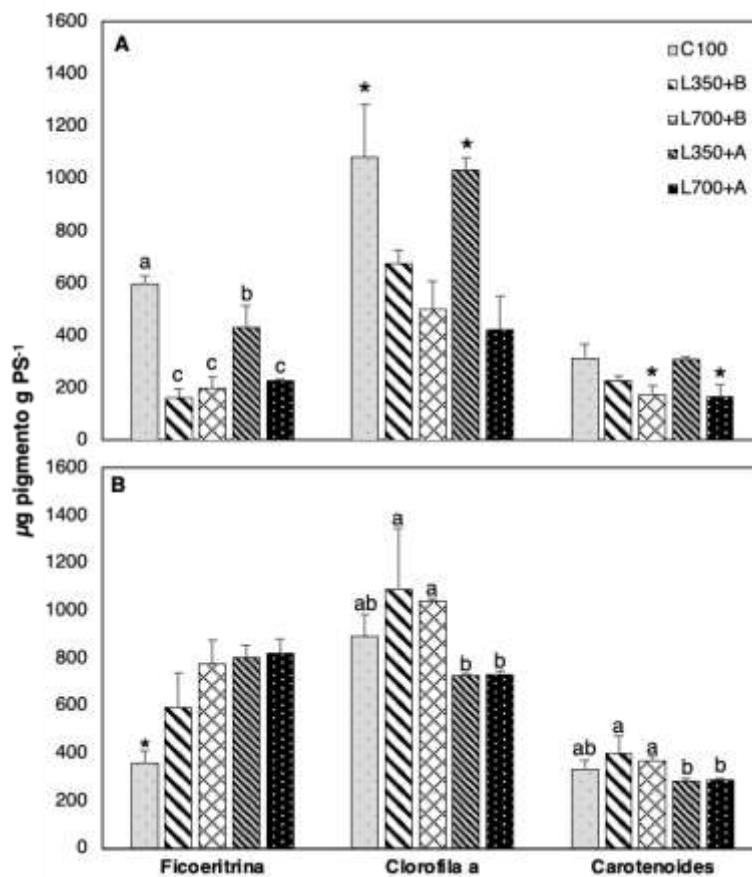


**Figura 16.** Fotosíntesis máxima ( $F_{max}$ ) en barras grises y eficiencia fotoquímica máxima ( $F_v/F_m$ ) en diagrama de puntos de *Gracilaria cornea* (A) y *Solieria filiformis* (B) expuesta a diferentes condiciones de luz. \* y letras distintas denotan diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE ( $n = 4$ ).

### 7.3.2 Contenido de pigmentos

De acuerdo con los resultados mostrados en la Fig. 17, la irradiancia tuvo un efecto significativo ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.636$ ) en los valores de clorofila *a* (Chl *a*) en *G. cornea*. Mientras que en *S. filiformis* fue la calidad de luz la que mostró un efecto ( $p = 0.002$ ,  $n^2 = 0.714$ ) en la síntesis de Chl *a*. En *G. cornea* las concentraciones de Chl *a* fueron menores con respecto a C100 en la mayoría de los tratamientos, excepto L350+A donde permaneció sin cambios. Se observó un aumento en L350 en la segunda semana con la adición de luz azul. También, se encontró una correlación positiva (0.548,  $p = 0.034$ ) entre la Chl *a* y la fotosíntesis máxima. Por el contrario, *S. filiformis* no presentó diferencias en los valores de Chl *a* con respecto al valor inicial, sin embargo, se observó una disminución evidente en ambos tratamientos de irradiancia al suministrar luz azul.

Con relación a la síntesis de carotenoides totales (Car) como se puede observar en la Fig. 17 la irradiancia y la calidad de luz tuvieron un efecto similar a lo observado para la Chl *a* en *G. cornea* ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.631$ ) y *S. filiformis* ( $p = 0.003$ ,  $n^2 = 0.670$ ) respectivamente. En *G. cornea*, se encontró una disminución de los valores de Car en la condición de luz alta al comparar con el control y una diferencia evidente con la condición de L350.



**Figura 17.** Contenido de ficoeritrina, clorofila *a* y carotenoides totales de *Gracilaria cornea* (A) y *Solieria filiformis* (B) en las diferentes condiciones de luz en cultivo. \* y letras diferentes denotan diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE ( $n = 4$ ).

La concentración de ficoeritrina (Fe) en *G. cornea* disminuyó en todos los tratamientos experimentales, entre el tratamiento C100 y L350+A se observó el valor máximo para la segunda semana al adicionar luz azul (Fig. 17). En *S. filiformis* la Fe aumentó el triple de su concentración en la mayoría de los tratamientos con relación al control, excepto con L350+B. El análisis de Pearson arrojó una correlación negativa ( $-0.716$ ,  $p = 0.003$ ) entre la Fe y la  $F_v/F_m$  en *S. filiformis*. A pesar de que la calidad de luz en combinación con la irradiancia tuvo un efecto ( $p = 0.003$ ,  $n^2 = 0.284$ ) en la producción de esta biliproteína en *G. cornea*, fue la calidad de luz la que tuvo un mayor efecto ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.439$ ). Las condiciones experimentales evaluadas no presentaron diferencias en la producción de Fe en *S. filiformis* entre la semana de aclimatación y la semana dos con adición de luz azul.

Los valores de ficocianina (Fc) presentaron un descenso en los tratamientos de *G. cornea* con respecto a la condición control, excepto en L350+A donde la concentración permaneció sin cambios (Tabla 10). Para *S. filiformis* el valor de Fc fue diferente en el tratamiento L700+B y se duplicó en

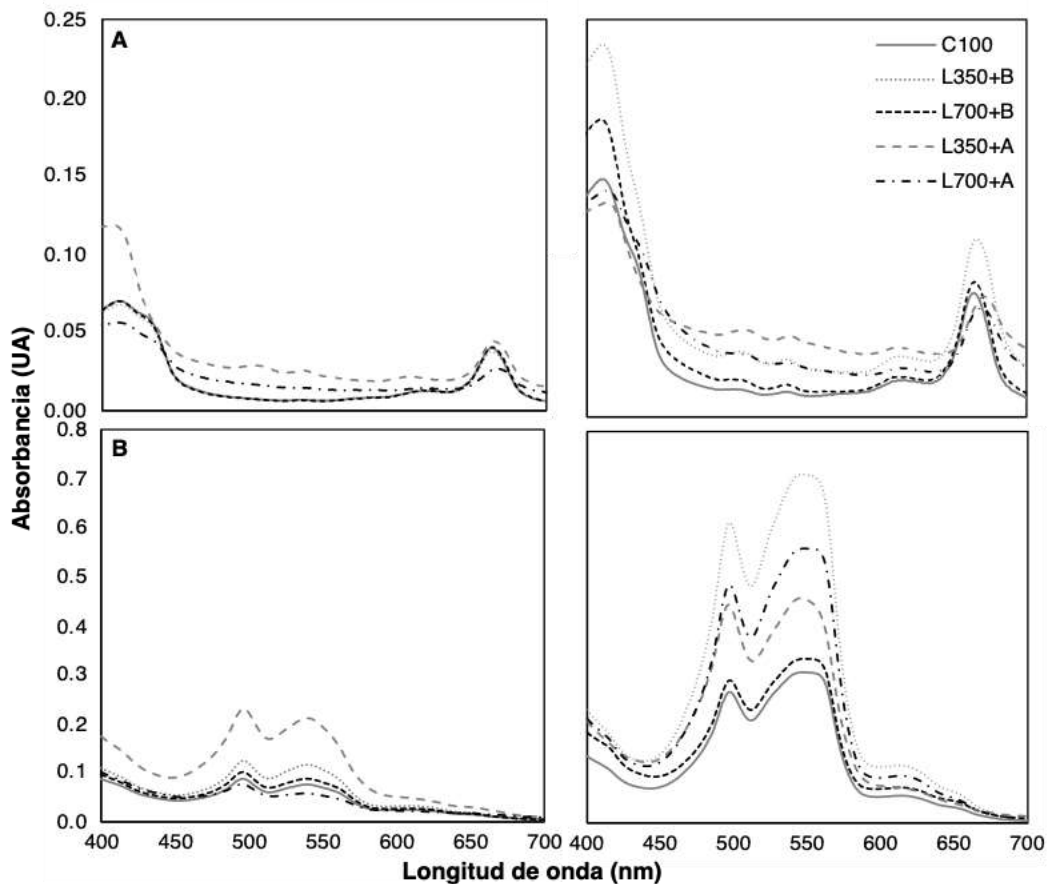
comparación a C100, sin embargo, disminuyó para la segunda semana con luz azul (L700+A). No hubo un efecto de las condiciones de luz en la síntesis de Fc en *G. cornea*, lo contrario sucedió con *S. filiformis* donde la irradiancia ( $p = 0.002$ ,  $n^2 = 0.460$ ) y la calidad ( $p = 0.005$ ,  $n^2 = 0.302$ ) tuvieron un efecto significativo. Además, se encontró una correlación positiva (0.544,  $p = 0.036$ ) entre los resultados de ficocianina y la fotosíntesis máxima en *S. filiformis*.

**Tabla 10.** Contenido de ficocianina (Fc), luteína (Lut), zeaxantina (Zea),  $\beta$ - caroteno ( $\beta$ -car) y relación Chl *a*/Fe de *Gracilaria cornea* (Gc) y *Solieria filiformis* (Sf) en los tratamientos experimentales en las diferentes condiciones de luz.

Tratamiento	Chl <i>a</i> /Fe		Fc		Lut	Zea		$\beta$ -car	
	Gc	Sf	Gc	Sf	Sf	Gc	Sf	Gc	Sf
C100	1.8 ± 0.30	2.5 ± 0.34*	1.3 ± 0.23 <sup>a</sup>	1.0 ± 0.13	1.6 ± 0.29 <sup>a</sup>	ND	ND	ND	9.0 ± 3.5
L350+B	4.2 ± 0.71*	1.8 ± 0.12	0.4 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.2 ± 0.22	0.7 ± 0.00 <sup>b</sup>	ND	ND	5.3 ± 1.01	2.1 ± 0.06
L700+B	2.5 ± 0.08	1.4 ± 0.17	0.5 ± 0.21 <sup>b</sup>	2.2 ± 0.30*	0.6 ± 0.10 <sup>b</sup>	0.4 ± 0.09	ND	ND	17.8 ± 3.9*
L350+A	2.5 ± 0.62	0.9 ± 0.05	0.8 ± 0.52 <sup>ab</sup>	0.9 ± 0.14	ND	ND	0.5 ± 0.10	ND	ND
L700+A	1.9 ± 0.55	0.9 ± 0.09	0.5 ± 0.03 <sup>b</sup>	1.3 ± 0.32	1.6 ± 0.15 <sup>a</sup>	0.3 ± 0.15	ND	ND	5.1 ± 0.95

Letras distintas y superíndice \* indican diferencias significativas entre los tratamientos (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE (n = 4).

En la Fig. 18 se presentan los resultados de los espectros de absorción del extracto acetónico y de buffer de fosfatos en las dos especies estudiadas. Los barridos espectrofotométricos presentaron diferencias entre los tratamientos tanto en el extracto acetónico como el buffer de fosfatos, y las mayores absorbancias se obtuvieron en *S. filiformis*, congruente con los resultados con relación a la concentración de pigmentos observados, los cuales fueron mayores que los detectados en *G. cornea* (Fig. 17). Se encontraron valores superiores de absorbancia en el buffer de fosfatos con el tratamiento L350+A y los menores en L700+A en *G. cornea*, en congruencia con los valores encontrados de Fc y Fe en los extractos descritos previamente. Por otro lado, L350+B mostró las mayores absorbancias en el buffer de fosfatos y el tratamiento de C100 presentó las menores en el caso de *S. filiformis*. El mayor contenido de Chl *a* en el extracto acetónico se observó en L350+A para *G. cornea*, lo cual se puede apreciar en las absorbancias de la Fig. 18. El mismo patrón fue encontrado con L350+B en *S. filiformis*.



**Figura 18.** Espectros de absorción del extracto acetónico (A) y de buffer de fosfatos en *Gracilaria cornea* (izquierda) y *Solieria filiformis* (derecha) bajo las condiciones de cultivo experimentales.

La relación entre la Chl *a*/Fe en *G. cornea* solo mostró cambios en el tratamiento L350+B donde la calidad ( $p = 0.005$ ,  $n^2 = 0.368$ ) e irradiancia ( $p = 0.006$ ,  $n^2 = 0.352$ ) tuvieron un efecto sobre los valores encontrados (Tabla 10). Además, se presentó una disminución en Chl *a*/Fe en L350 al aplicar luz azul. Para *S. filiformis*, solo se observó un efecto significativo con relación a la calidad de luz ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.757$ ). Hubo una disminución de la relación Chl *a*/Fe en todos los tratamientos de *S. filiformis* con respecto al valor inicial y los resultados fueron menores en L350 para la segunda semana (+luz azul). La Chl *a*/Fe tuvo una correlación positiva ( $0.769$ ,  $p < 0.001$ ) con la  $F_v/F_m$  de *S. filiformis*.

Finalmente, el análisis de pigmentos por HPLC elucidó la presencia de zeaxantina y  $\beta$ -caroteno en las muestras analizadas de *G. cornea* y *S. filiformis* (Tabla 10). En esta última también se encontró luteína en la mayoría de los tratamientos. La Zxt solo se identificó bajo exposición de luz alta (L700) en *G. cornea* y media (L350) en *S. filiformis*. El  $\beta$ -car fue sintetizado únicamente por *G. cornea* en L350 y en *S. filiformis* se observó un incremento del doble en L700+B pero luego disminuyó para la segunda

semana (L700+A). Por último, las concentraciones más altas de Lut en *S. filiformis* se obtuvieron con C100 y luz alta en la semana dos (L700+A).

### 7.3.3 Contenido de C y N

El contenido de carbono, nitrógeno y su relación se muestran en la Tabla 11. El carbono no presentó diferencias ( $p > 0.05$ ) entre las condiciones experimentales evaluadas en ninguna de las algas. Los valores de N mostraron diferencias significativas con relación a la calidad de luz ( $p = 0.017$ ,  $n^2 = 0.294$ ) en *G. cornea*, incrementando al incluir luz azul en el tratamiento de luz media (L350). Lo anterior se relaciona con la tendencia en la síntesis de Fe observada en esta alga. La combinación de la irradiancia y la calidad lumínica indujo diferencias ( $p = 0.024$ ,  $n^2 = 0.295$ ) en la relación C: N entre los tratamientos de *G. cornea*. Además, se observó una disminución en C: N en L350+A, sin embargo, en las otras condiciones de luz los valores permanecieron igual que el control. Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en N ni en la relación C: N en *S. filiformis*.

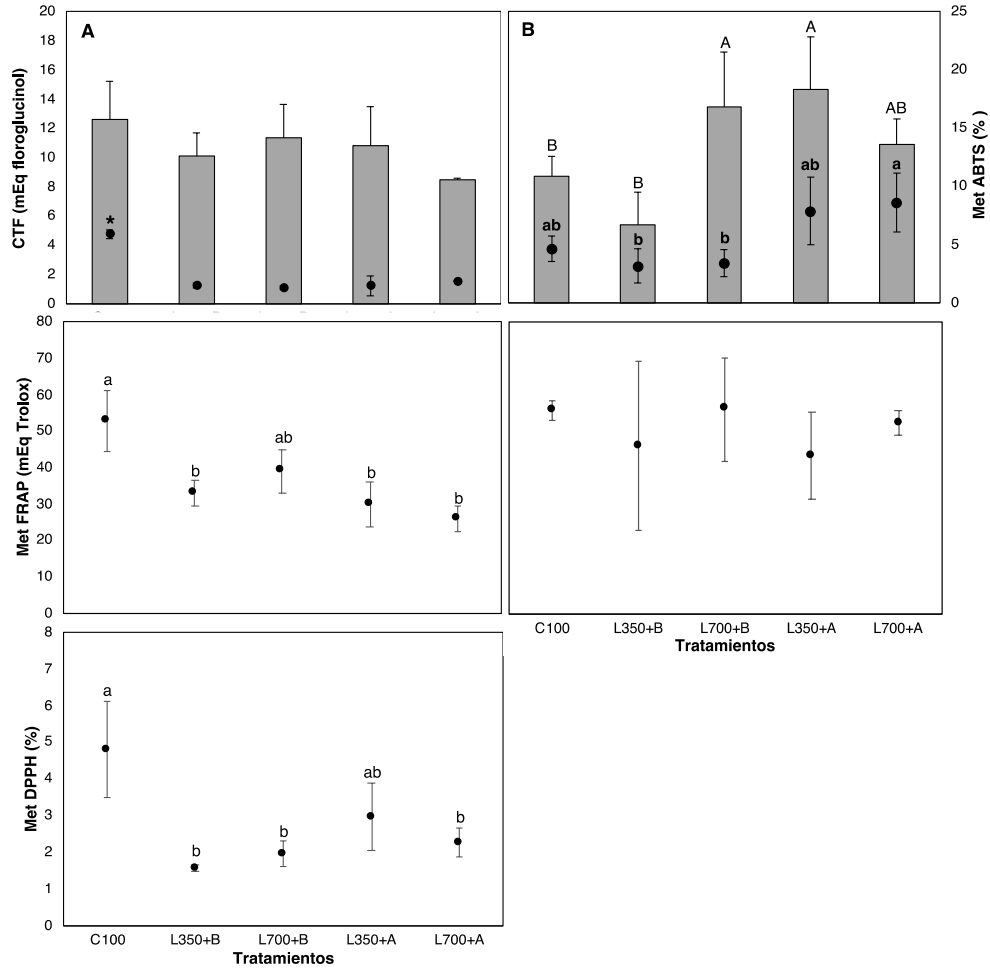
**Tabla 11.** Contenido de carbono, nitrógeno y relación C: N de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* en los tratamientos experimentales en las diferentes condiciones de luz.

Tratamiento	C:N		Carbono		Nitrógeno	
	<i>G. cornea</i>	<i>S. filiformis</i>	% Peso seco		<i>G. cornea</i>	<i>S. filiformis</i>
C100	12.4 ± 0.40 <sup>a</sup>	11.2 ± 0.11	32.3 ± 1.37	29.9 ± 2.47	2.6 ± 0.10	2.7 ± 0.21 <sup>ab</sup>
L350+B	11.4 ± 1.96 <sup>ab</sup>	10.7 ± 0.58	31.7 ± 1.56	30.0 ± 2.01	2.9 ± 0.59	2.8 ± 0.07 <sup>ab</sup>
L700+B	10.6 ± 0.93 <sup>ab</sup>	10.7 ± 0.28	30.8 ± 1.96	32.4 ± 1.20	2.9 ± 0.31	3.0 ± 0.18 <sup>a</sup>
L350+A	8.6 ± 0.25 <sup>b</sup>	10.4 ± 0.51	32.7 ± 1.59	28.2 ± 3.32	3.8 ± 0.12 <sup>*</sup>	2.7 ± 0.19 <sup>b</sup>
L700+A	11.1 ± 0.75 <sup>a</sup>	10.6 ± 0.90	33.7 ± 0.62	31.1 ± 4.09	3.1 ± 0.19	2.9 ± 0.15 <sup>ab</sup>

Letras distintas y superíndice \* indican diferencias significativas entre los tratamientos (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media ± DE (n = 4).

### 7.3.4 Contenido de fenoles

En la Fig. 19 se muestran los resultados obtenidos con relación al contenido de fenoles en los extractos metanólicos de las macroalgas estudiadas. Las condiciones de luz evaluadas no tuvieron efecto ( $p > 0.05$ ) en los resultados de polifenoles en *G. cornea*. Sin embargo, la combinación de las variables lumínicas indujo ( $p = 0.008$ ,  $n^2 = 0.473$ ) la síntesis de estos metabolitos en *S. filiformis*. La cantidad de fenoles en esta alga aumentó con el tiempo en L350 al adicionar luz azul al cultivo y además las concentraciones en L700+B y L350+B fueron mayores que en C100.



**Figura 19.** Capacidad antioxidante de los extractos metánolicos de *Gracilaria cornea* (A) y *Solieria filiformis* (B) en los tratamientos experimentales; contenido total de fenoles en barras grises y ABTS en diagrama de puntos (arriba); FRAP (medio); DPPH (abajo). \* y letras diferentes denotan diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE ( $n = 4$ ).

### 7.3.5 Capacidad antioxidante

Los extractos metánolicos de *G. cornea* evaluados con el método de ABTS y presentados en la Fig. 19 mostraron un decremento en la actividad antioxidante en relación con el valor inicial (C100) y no se observaron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos experimentales. Los resultados con DPPH ( $p = 0.021$ ,  $n^2 = 0.417$ ) y FRAP ( $p = 0.022$ ,  $n^2 = 0.423$ ) mostraron diferencias solo bajo la exposición de los talos a la calidad de luz, además se observó una disminución con relación al valor inicial en la mayoría de los tratamientos.

Se encontró una correlación positiva ( $0.734$ ,  $p = 0.002$ ) entre el análisis de polifenoles y la capacidad antioxidante del extracto metanólico evaluada por el método FRAP en *G. cornea*. La capacidad antioxidante en *S. filiformis* calculada por el protocolo DPPH no mostró actividad y en el

caso de FRAP no se encontraron diferencias significativas. La calidad de luz tuvo un efecto ( $p = 0.004$ ,  $n^2 = 0.633$ ) en la actividad antioxidante evaluada con ABTS para esta especie, incrementando con la exposición a luz azul en ambos tratamientos de irradiancia (Fig. 19). En general, la irradiancia baja (C100) estimuló una actividad antioxidante superior en *G. cornea* en los protocolos utilizados.

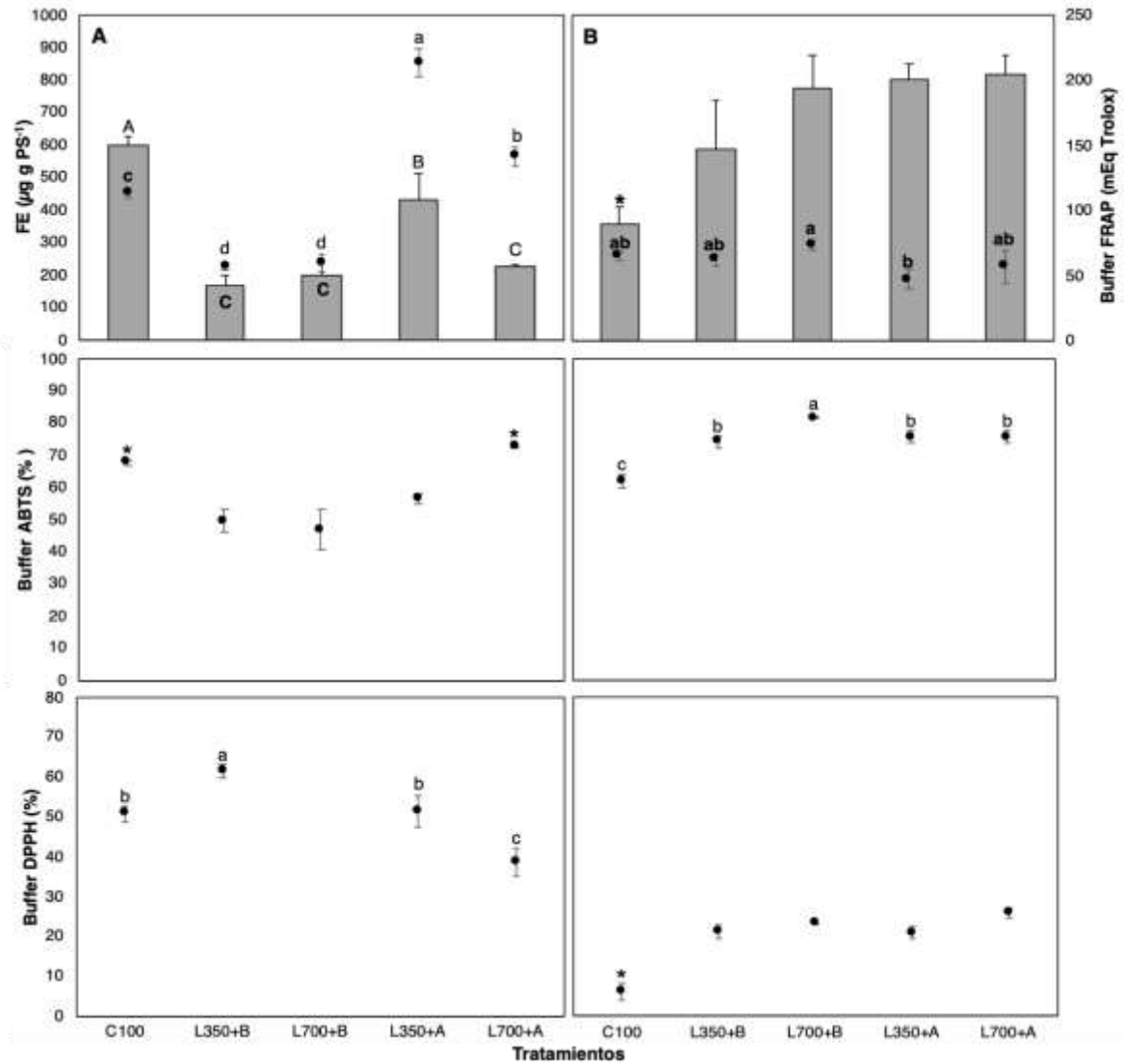
La actividad antioxidante (Fig. 20) del extracto en buffer de fosfatos para *G. cornea* con el método DPPH fue mayor en los talos expuestos a irradiancia media (L350+B), siendo este tratamiento el único que mostró un ligero incremento con respecto al control (C100) en la semana de aclimatación, pero una disminución en la segunda semana (luz blanca + azul). Los datos de L700+B en *G. cornea* para DPPH no se pudieron recuperar por razones de manipulación de las muestras.

Por otro lado, en lo que concierne al método FRAP, la capacidad antioxidante fue mayor con luz media blanca + azul en esta alga. Solo los tratamientos irradiados con luz azul fueron mayores que C100 en el caso del método FRAP. Es importante mencionar que el aumento de la actividad antioxidante en el tratamiento L350+A se corresponde con un repunte en la síntesis de ficobiliproteínas para la misma condición experimental en *G. cornea*. Para ABTS, los valores fueron mayores con luz alta (L700+A) pero no hubo cambios con relación al valor inicial (C100). La calidad de luz en cultivo tuvo un efecto significativo en los resultados de FRAP ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.837$ ) y ABTS ( $p < 0.001$ ,  $n^2 = 0.601$ ) en esta especie.

En el escenario particular de *S. filiformis* (Fig. 20), el porcentaje de inhibición en DPPH y ABTS aumentó en todos los tratamientos con respecto a C100. La irradiancia tuvo un efecto ( $p = 0.002$ ,  $n^2 = 0.597$ ) en los resultados de *S. filiformis* en DPPH y el incremento comparado con C100 fue tres veces mayor en los tratamientos evaluados, sin embargo, no hubo diferencias entre los tratamientos. Los resultados del FRAP en *S. filiformis* no mostraron diferencias con los datos obtenidos en el periodo de mantenimiento (C100). La combinación de la irradiancia y la calidad lumínica tuvieron un efecto ( $p = 0.006$ ,  $n^2 = 0.365$ ) en los resultados obtenidos por ABTS en *S. filiformis* y fu la condición de L700+B la que mostró los mejores resultados para luego disminuir en la semana dos.

Los datos de *S. filiformis* mostraron correlaciones significativas entre la capacidad antioxidante del extracto en buffer de fosfatos y las ficobiliproteínas evaluadas. Por ejemplo, la Fe presentó una correlación positiva (0.835,  $p < 0.001$ ) con los resultados de capacidad derivados del protocolo DPPH. Por otro lado, la actividad antioxidante evaluada por el método ABTS mostró una correlación positiva con la Fe (0.763,  $p < 0.001$ ) y la Fc (0.581,  $p = 0.023$ ). Finalmente, la Fc presentó una correlación positiva (0.618,  $p = 0.014$ ) con los antioxidantes evaluados por FRAP.





**Figura 20.** Capacidad antioxidante de los extractos con buffer de fosfatos en *Gracilaria cornea* (A) y *Solieria filiformis* (B) en los tratamientos experimentales; contenido de ficoeritrina en barras grises y FRAP en diagrama de puntos (arriba); ABTS (medio); DPPH (abajo). \* y letras diferentes denotan diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE (n = 4).

De manera general, la actividad antioxidante de *S. filiformis* fue mayor con irradiancia alta (L700) y en *G. cornea* con irradiancia media (L350). Sin embargo, la capacidad antioxidante fue mayor en *G. cornea* que en *S. filiformis* con las metodologías DPPH y FRAP (Fig. 20). Como referencia, en la Tabla 12 se presentan los resultados de la actividad en los controles positivos y los estándares de pigmentos.

**Tabla 12.** Controles BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado) y estándar de clorofila *a* resuspendidos en metanol; R-Ficoeritrina y C-Ficocianina en buffer de fosfatos.

	<b>DPPH (%)</b> <b>[0.5 mg mL<sup>-1</sup>]</b>	<b>ABTS (%)</b> <b>[0.25 mg mL<sup>-1</sup>]</b>	<b>FRAP (mEq TROLOX)</b> <b>[0.25 mg mL<sup>-1</sup>]</b>
<b>BHA</b>	80.5 ± 0.46	88.7 ± 0.18	1675.8 ± 14.84
<b>BHT</b>	79.2 ± 0.26	64.1 ± 1.40	1146.0 ± 26.66
<b>Chl a [0.5 mg mL<sup>-1</sup>]</b>	12.6 ± 4.52	-	233.8 ± 26.68
<b>R-FE [0.5 mg mL<sup>-1</sup>]</b>	-	41.3 ± 0.22	66.5 ± 13.23
<b>C-FC [0.5 mg mL<sup>-1</sup>]</b>	-	49.8 ± 2.87	38.9 ± 0.21

### 7.3.6 Contenido de micosporinas

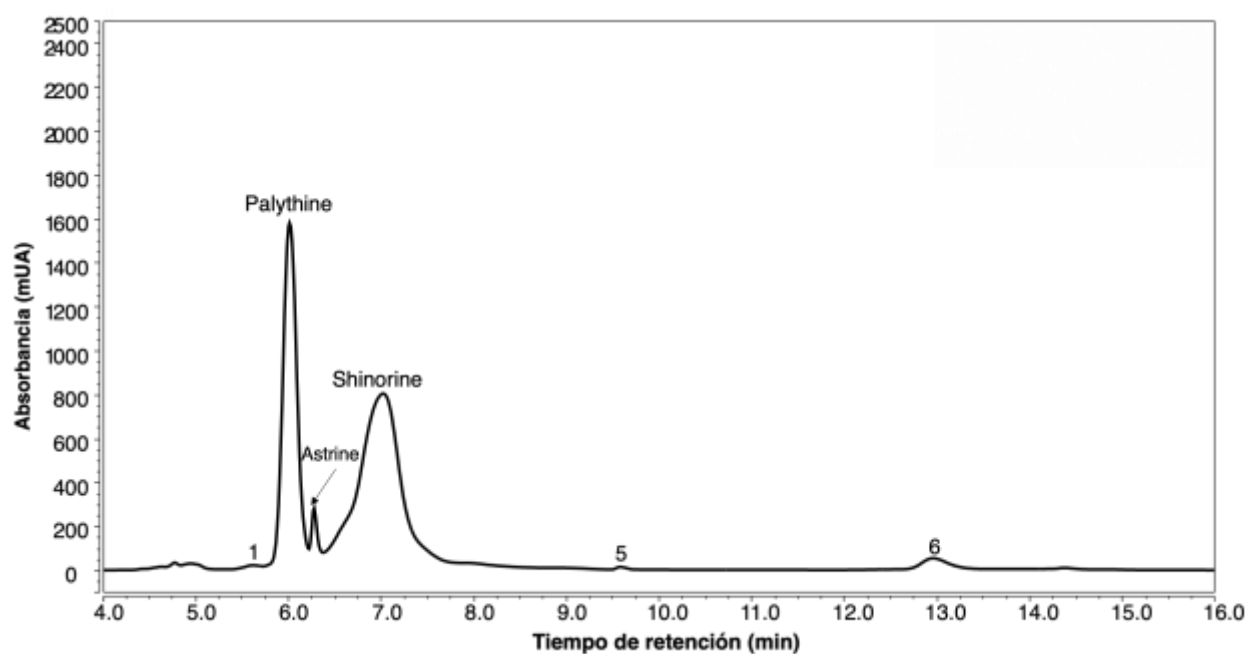
Las absorbancias máximas de los picos en los cromatogramas en las muestras de *G. cornea* no correspondían con alguno de los aminoácidos tipo micosporina (MAAs) conocidos hasta la fecha. Sin embargo, estos picos podrían tratarse de precursores de los MAAs o muy posiblemente de otros metabolitos. Con el fin de corroborar esta información haría falta un análisis alejado de los objetivos de este trabajo, sin embargo, resultaría muy informativo corroborarlo en el futuro. Por otro lado, como se observa en la Tabla 13, las muestras de *S. filiformis* revelaron seis picos importantes con absorbancias máximas entre 316 y 332 nm.

Todos los tratamientos mostraron el mismo número de picos y tiempos de retención (Fig. 21), pero las áreas variaron con relación al tratamiento experimental. Con base en su absorbancia máxima, tiempo de aparición y de acuerdo con lo reportado por Hardouin et al. (2022), quienes utilizaron un protocolo similar de extracción y análisis en HPLC, se infirió que tres de estos picos corresponden a palythine (absorbancia máxima teórica: ~320 nm), asterine-330 (~330 nm) y shinorine (~332-334 nm). Los espectros de absorción y tiempos de retención de éstos se muestran en el Apéndice 2. Sin embargo, para poder corroborar que realmente esos picos corresponden a los MAAs mencionadas es necesario analizar las muestras por medio de LC-MS y ESI-MS/MS.

Como se puede observar en la Fig. 22, la síntesis de palythine y shinorine se amplificó con la irradiancia media (L350) en la semana de aclimatación, cuando la luz suministrada fue completamente blanca. La combinación de las condiciones de luz tuvo un efecto en la producción de palythine ( $p = 0.016$ ,  $n^2 = 0.698$ ) y shinorine ( $p = 0.048$ ,  $n^2 = 0.371$ ). Al comparar los resultados de palythine obtenidos de los tratamientos experimentales con relación al valor inicial, en L350+B su contenido incrementó el doble. Sin embargo, el valor registrado fue igual que el de L700+A.

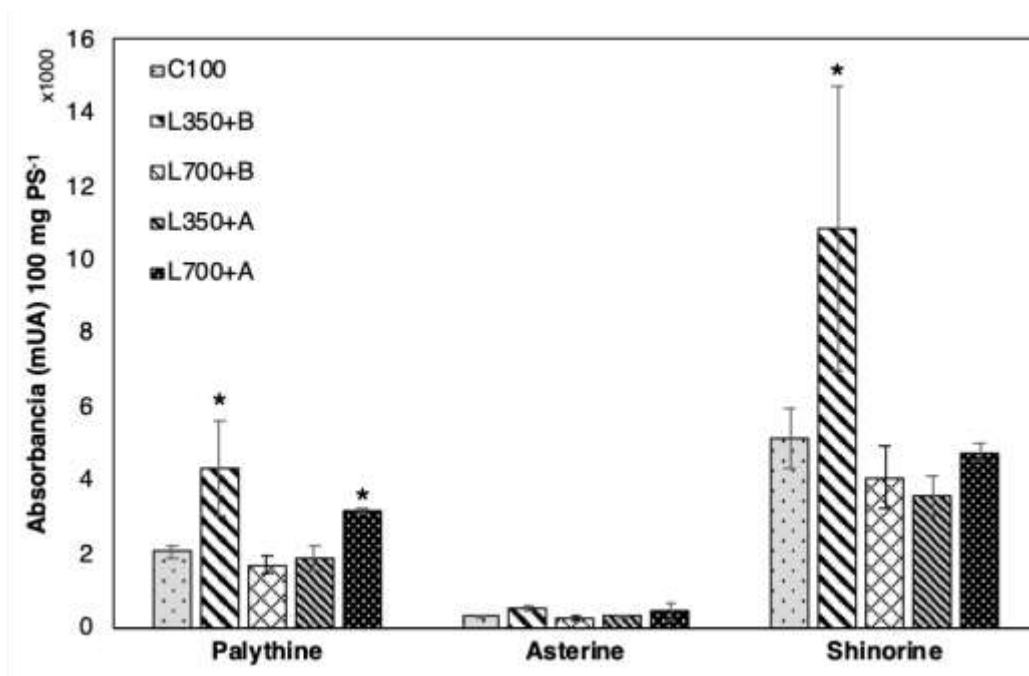
**Tabla 13.** Tiempo de retención y absorbancias máximas de los seis picos de micosporinas identificados por HPLC a 334 nm en *Solieria filiformis*.

Pico	Tiempo (min)	Abs máx (nm)
1	5.54	316.68
Palythine	5.94	319.11
Asterine-330	6.28	328.09
Shinorine	7.11	331.98
5	9.65	332.60
6	12.98	329.52



**Figura 21.** Cromatograma de HPLC de las micosporinas identificadas a 334 nm.

Las muestras expuestas a irradiancia media (L350) mostraron un decremento de palythine en la segunda semana de cultivo y en el caso particular de los talos expuestos a irradiancias altas (L700) está tendencia fue al alza al suministrar luz azul. Por otro lado, las síntesis de shinorine incrementó cerca de cuatro veces en L350+B al comparar con la condición control, sin embargo, al suministrar luz azul este valor volvió a su concentración inicial (C100). No se encontraron diferencias significativas ( $p > 0.05$ ) en los valores de asterine-330.

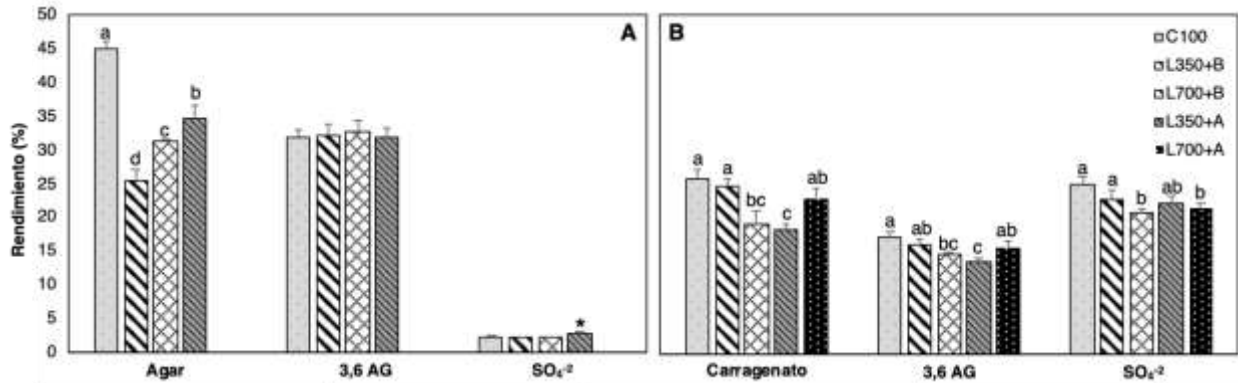


**Figura 22.** Contenido de los aminoácidos tipo micoporinas de *Solieria filiformis*: palythine, asterine y shinorine en los tratamientos de luz experimental. \* denota diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media de dos réplicas  $\pm$  DE ( $n = 2$ ).

### 7.3.7 Análisis químico de polisacáridos

El contenido de ficocoloides en las macroalgas evaluadas, así como del porcentaje de 3,6 anhidrogalactosa y sulfatos se presentan en la Fig. 23. La síntesis de polisacáridos en ambas especies fue modulada por las condiciones de luz evaluadas. La interacción entre la irradiancia y el espectro lumínico tuvo un efecto importante ( $p < 0.001$ ) en la síntesis de agar y carragenato en *G. cornea* y *S. filiformis*, respectivamente. A pesar de que el contenido más alto de agar en *G. cornea* se encontró en las muestras de C100, el efecto de la calidad de luz acrecentó el rendimiento de este ficocoloide en condiciones de irradiancia media (L350) en la última semana de cultivo. Sin embargo, debido a pérdida de muestra no se pudieron generar los resultados para el tratamiento L700+A. En el caso de *S. filiformis* se observó una disminución del carragenato en irradiancia media (L350) al suplementar luz azul.

El porcentaje de 3,6 AG no mostró diferencias significativas ( $p = 0.887$ ) entre los tratamientos en *G. cornea* y en el caso de *S. filiformis* la interacción de las condiciones lumínicas si tuvieron un efecto ( $p = 0.005$ ,  $\eta^2 = 0.576$ ) en su contenido. En esta última alga, como se puede observar en la Fig. 23 (B), la calidad de luz modificó los porcentajes de 3,6 AG y el rendimiento de carragenato, los cuales disminuyeron en L350 para la segunda semana al adicionar luz azul. Por último, el contenido de sulfatos



**Figura 23.** Rendimiento de agar en *Gracilaria cornea* (A) y de carragenato en *Solieria filiformis* (B) y sus correspondientes contenidos de 3,6 anhidrogalactosa (3,6 AG) y sulfatos (SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>). \* y letras diferentes denotan diferencias significativas (prueba de Tukey  $p < 0.05$ ). Los valores simbolizan la media  $\pm$  DE, ( $n = 3$ ).

en *G. cornea* solo mostró diferencias significativas en irradiancia media, específicamente en L350+A, el cual corresponde al valor más alto encontrado entre los tratamientos. No se observaron diferencias significativas en el % SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> de *S. filiformis*.

## 7.4 Discusión

### 7.4.1 Fisiología algal y fotosíntesis

La irradiancia y la calidad de luz son variables que regulan la síntesis de pigmentos y otros compuestos bioquímicos en macroalgas, modulando a su vez la actividad fotosintética, el crecimiento, la densidad celular y en consecuencia su morfología (Carmona et al., 1998; Talarico y Maranzana, 2000; Tsekos et al., 2002). En el medio ambiente las algas están expuestas a un sinnúmero de condiciones dinámicas que varían con relación al tiempo y a su ubicación en la columna de agua. Para lidiar con estos cambios, las macroalgas han desarrollado estrategias específicas como la producción de antioxidantes, el arreglo de sus antenas, e inclusive la producción de compuestos como los ficocoloides (Zubia et al., 2014; Peñuela et al., 2018). El diseño experimental que se evaluó en este trabajo permitió conocer los mecanismos y estrategias utilizadas por las macroalgas *Solieria filiformis* y *Gracilaria cornea* para sobrellevar las condiciones lumínicas probadas, que dependiendo de su estatus fisiológico inicial podrían considerarse, o no, estresantes.

El crecimiento, la eficiencia fotoquímica máxima, las curvas P-I, la fotosíntesis máxima, el perfil de pigmentos y el contenido de nutrientes se utilizaron como indicadores de la fisiología algal y la

respuesta fotosintética. En este ensayo, la tasa de crecimiento diario no presentó diferencias significativas entre los tratamientos en ninguna de las especies.

El crecimiento de *S. filiformis* fue evidentemente inferior a lo observado en el capítulo anterior, donde se expuso a una irradiancia de 100  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . Sin embargo, fue similar a lo reportado por Peñuela et al. (2018) con *S. filiformis* en cultivos al exterior sin adición de nutrientes, flujo continuo y expuestas a irradiancias altas, mayores a las utilizadas en este ensayo. También se observaron crecimientos similares ( $\sim 5$  y  $6\%$  día<sup>-1</sup>) en cultivos al interior con irradiancia de 550  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  y adición de nutrientes en la misma especie (Felaco et al., 2020). Es importante señalar que la irradiancia de 100  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  corresponde de igual forma a la condición más favorable de luz para el crecimiento en *Solieria chordalis* (Brown, 1995).

La TCD en *G. cornea* fue muy similar a las obtenidas con los tratamientos probados en el capítulo anterior. Schneider et al. (2022) reportan tasas superiores en *G. cornea* expuestas a irradiancias entre 529 y 647  $\mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  e inferiores ( $\sim 1.5\%$  día) al aplicar radiación UV-A + UV-B. La mayoría de los trabajos que evalúan el crecimiento en cultivo con relación a la intensidad de luz han demostrado que irradiancias mayores mejoran la TCD, sin embargo, utilizando irradiancias menores que las utilizadas para esta tesis (Chen et al., 2017). La reducción del crecimiento en ambas especies durante este ensayo podría relacionarse con el gasto energético derivado de poner en marcha los mecanismos metabólicos para contrarrestar una posible fotoinhibición como consecuencia de la exposición a irradiancias altas (Raven, 2011).

La  $F_v/F_m$  es un reflejo de la eficiencia del fotosistema II (PSII), se utiliza como indicador sensitivo en plantas superiores y algas, indicando la “salud” de los talos en un momento específico (Büchel y Wilhelm, 1993; Maxwell y Johnson, 2000). Es importante mencionar que los talos utilizados en este trabajo provienen de una historia de luz a irradiancias altas, ya que fueron colectados de tanques al exterior expuestas además a condiciones lumínicas fluctuantes. En ese sentido, los valores de  $F_v/F_m$  para ambas especies mostraron una aclimatación efectiva a las condiciones de luz baja ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) utilizadas para el mantenimiento de los talos en el laboratorio. Las  $F_v/F_m$  en ambas especies (0.5-0.6) se mantuvieron constantes y se encuentran en el rango de lo reportado para macroalgas rojas en otros ensayos (Wedchaparn et al., 2015; Pliego-Cortés et al., 2019).

Se observó una ligera disminución de la  $F_v/F_m$  entre el período de mantenimiento y el inicio del experimento en *G. cornea*, cambiando de  $\sim 0.5$  a  $0.6$ . La  $F_v/F_m$  medida semanalmente durante el experimento no presentó cambios en *G. cornea*, lo que indica una aclimatación efectiva en irradiancia media-alta y a la exposición a luz azul. Los valores de  $F_v/F_m$  concuerdan con lo reportado por Álvarez-

Gómez et al. (2019) para la misma especie. Por otro lado, *S. filiformis* mostró valores mayores de  $F_v/F_m$  durante el tiempo de mantenimiento (control) y disminuyeron en la semana de aclimatación a irradiancia alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ), lo cual podría deberse al proceso de fotoinhibición dinámica, un mecanismo de aclimatación ante niveles altos de irradiancia. Este proceso disminuye la actividad del PSII, lo que le permite al alga lidiar con el aumento de energía y disiparla a través de calor (Abdala-Díaz et al., 2006).

Los niveles experimentales de irradiancia mantuvieron estables los valores de  $F_v/F_m$  al adicionar luz azul en la segunda semana con *S. filiformis*. Estos resultados infieren que los talos se protegieron del incremento en la irradiancia y posteriormente retornaron a su condición inicial a efectos de procesar la energía disponible en el tratamiento experimental (Figuerola et al., 1997). Esta misma estrategia se ha observado en estudios con las algas rojas *Plocamium brasiliensis* y *Pyropia haitanensis* (Chaloub et al., 2010; Jiang et al., 2018).

Los valores de  $F_{\text{max}}$  calculados en el experimento no tuvieron correlación con los resultados de  $F_v/F_m$  en ninguna de las especies. Sin embargo, Saroussi y Beer (2007) estipulan que esta relación solo es significativa en condiciones de alta irradiancia, mayor que las utilizadas en el experimento de esta tesis. Este trabajo muestra una discordancia entre la fluorescencia de la clorofila *a* y la evolución del oxígeno. Esta discrepancia puede deberse no solo a la irradiancia alta utilizada, sino también a la morfología de las algas estudiadas (Nielsen y Nielsen, 2008). Se conoce que la irradiancia y la calidad de luz, específicamente longitudes de onda puntuales pueden moldear la aparición de ramificaciones y su longitud en algunas especies de algas (Talarico, 1996). Por ejemplo, se observaron talos altamente ramificados de *S. filiformis* en los tratamientos con intensidad de luz baja y talos largos y dispersos en irradiancia alta (Apéndice 3). Estos patrones en la morfología modulan la absorción de luz y en consecuencia los procesos fotosintéticos (Hegemann, 2008; Monro y Poore, 2009).

*G. cornea* mostró valores de  $F_{\text{max}}$  superiores al exponerse a intensidad de luz media ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) durante la segunda semana (+luz azul), sin embargo, durante el periodo de aclimatación fueron mayores en irradiancia alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Esta respuesta nos habla de la limitación de *G. cornea* en términos de actividad fotosintética para tolerar irradiancias altas en periodos de tiempo prolongados. Es posible que durante la segunda semana expuesta a la condición de irradiancia alta se haya presentado fotoinhibición por efecto acumulativo de energía, ya que se observaron talos blanqueados al concluir el experimento. Una respuesta similar fue observada por Dawes et al. (1999) con *G. cornea* de las costas de Florida durante los períodos de verano, donde la radiación es mayor que en otras épocas del año. Los autores antes mencionados observaron que *G. cornea* mostró una

adaptación eficiente por sombreado, a pesar de que en comparación con otras especies tropicales de *Gracilaria* e incluso con la *S. filiformis* de este trabajo, posee un contenido menor de pigmentos (Dawes et al., 1999).

Por otro lado, se observó una tolerancia clara a la exposición a irradiancia media en el tiempo del experimento. Sin embargo, los valores de  $F_{\max}$  en *G. cornea* no superaron a los conseguidos en la condición control expuesta a irradiancias bajas ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). *S. filiformis* incrementó la producción de oxígeno en respuesta a luz alta, pero disminuyó en la segunda semana al igual que en *G. cornea*. Una respuesta similar fue observada por Borlongan et al. (2017), quienes evaluaron tasas de fotosíntesis neta mayores en plantas de *Solieria pacifica* que habitan zonas someras y mostraron una disminución a lo largo del tiempo conforme la irradiancia se incrementaba.

La respiración post luz en *G. cornea* disminuyó en la mayoría de los tratamientos al exponerla a irradiancias medias-altas y en *S. filiformis* se observó un aumento en la semana de aclimatación en el tratamiento de intensidad de luz alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Xue et al. (1996) afirman que las tasas de consumo de oxígeno tienen relación con la historia de luz, por ende, a la fotosíntesis previa. Este grupo encontró una tasa de respiración mayor en organismos expuestos a intensidades de luz altas ( $800 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y concluyen que este incremento tiene una marcada relación con la irradiancia. Por otro lado, el incremento en la respiración mitocondrial en *S. filiformis* puede interpretarse como un indicativo de estrés, ya que los electrones son transportados al  $\text{O}_2$ , lo que eventualmente podría originar especies reactivas de oxígeno debido a electrones no apareados (Hurd et al., 2014).

Se observaron diferencias en los descriptores fotosintéticos calculados a partir de las curvas P-I de los talos de *G. cornea* y *S. filiformis* que se encontraban expuestos a condiciones de irradiancia baja ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  - control) y alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). De manera general, los valores obtenidos en *S. filiformis* fueron mayores que en *G. cornea*. Se pudo observar en la curva P-I una disminución en la producción de oxígeno en *G. cornea* a partir de los  $\sim 400 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  en los organismos expuestos a luz alta, lo que podría relacionarse con el deterioro observado en los talos al concluir el experimento. La fotosíntesis máxima en irradiancia alta fue significativamente superior en *S. filiformis* e inferior en *G. cornea* en comparación con los valores obtenidos en los talos a baja irradiancia (control). Estos resultados reafirman la capacidad de *S. filiformis* para ajustar su maquinaria fotosintética de acuerdo con los cambios lumínicos y por otro lado la dificultad experimentada por *G. cornea* ante la exposición a irradiancias saturantes.



La eficiencia fotosintética ( $\alpha$ ) no cambió en *S. filiformis* entre las intensidades de luz y en *G. cornea* el uso eficiente de la luz a irradiancias bajas fue menor en los organismos expuestos a 700  $\mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ . La irradiancia de saturación no presentó diferencias en *G. cornea* y los valores obtenidos ( $\sim 168\text{-}208 \mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) fueron muy similares a los reportados en algas submareales. Por otro lado, la  $E_k$  fue mayor en los talos de *S. filiformis* expuestos a luz alta y a pesar de habitar regiones más profundas que *G. cornea*, las irradiancias de saturación observadas ( $\sim 288\text{-}376 \mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) se acercan más a lo reportado en algas intermareales (Lüning, 1981). El consumo de oxígeno fue mayor en ambas especies al evaluar la respiración post luz (RL) que previo a la exposición al gradiente de irradiancia (respiración en oscuridad - RO).

El perfil de pigmentos en *G. cornea* disminuyó en la semana de aclimatación en ambas intensidades de luz, pero aumentó al añadir luz azul en condiciones de irradiancia media ( $\sim 350 \mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ). Esta respuesta sugiere que ambas irradiancias resultaron estresantes para el organismo durante el período de aclimatación, lo que indujo una disminución del perfil de pigmentos como mecanismo de fotoprotección; sin embargo, logro aclimatarse a irradiancia media en la segunda semana cuando se adicionó luz azul, lo que revirtió el contenido de pigmentos para continuar captando eficientemente la luz (Ramus, 1981).

Es importante destacar que la síntesis de Chl *a* en *G. cornea* mostró una correlación positiva con los valores de  $F_{\text{max}}$ . Resulta relevante añadir que este aumento en la concentración de pigmentos y la  $F_{\text{max}}$  en *G. cornea* bajo condiciones de luz combinada blanca y azul podría estar relacionado con lo que se conoce como efecto Emerson, el cual sugiere que la adición de longitudes de ondas menores al espectro de luz blanca puede optimizar los procesos fotosintéticos (Emerson y Rabinowitch, 1960; Tollin, 1962; Zhen y van Iersel, 2017). Lo anterior debido a la sinergia entre las longitudes, lo que eficientiza el efecto en la fotosíntesis por la interacción de longitudes cortas y largas (Myers, 1971).

Los carotenoides totales a su vez aumentaron a la par que la Chl *a* probablemente para cumplir su función como captadores de electrones y optimizar así los procesos de absorción de luz (Morais et al., 2006). Adicionalmente, la disminución de los pigmentos en irradiancias altas ( $\sim 700 \mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) para la segunda semana confirma lo inferido con relación a la fotosíntesis neta y las curvas P-I en *G. cornea*. Por otro lado, las concentraciones de Chl *a* y Car en *S. filiformis* mostraron tendencias similares, con una disminución evidente en los dos niveles de irradiancia al aplicar luz azul. Algo similar se observó en el primer experimento de este trabajo al adicionar luz azul en los cultivos.

El aumento de la Fe con la adición de luz azul en *G. cornea*, particularmente en la irradiancia media ( $\sim 350 \mu\text{mol}$  fotones  $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ), también se observó en el estudio del capítulo I y como ya se había

mencionado, responde a que esa calidad de luz promueve la síntesis del pigmento. La concentración de los pigmentos estimados para *G. cornea* concuerdan con lo encontrado por Álvarez-Gómez et al. (2019) en la misma especie (sinonimia para *Hydropuntia cornea*), sin embargo, los valores de Fe en ese trabajo son mayores que los encontrados en este experimento y similares con los reportados en el capítulo anterior donde los talos fueron sometidos a irradiancias más bajas ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Schneider et al. (2022) encontraron concentraciones doblemente mayores de Fe y significativamente menores de Chl *a* en *G. cornea* expuesta a diferentes espectros de luz y a radiación UV. Dawes et al. (1999) y Orduña-Rojas et al. (2002) reportaron valores inferiores de Fe y Chl *a* en la misma especie, al parecer en consecuencia de la baja disponibilidad de nutrientes experimentada por los talos silvestres.

La relación Chl *a*/Fe en *G. cornea* fue menor en el control debido a la irradiancia baja a la que fue sometida durante el período de mantenimiento, este mismo efecto se observó al añadir luz azul. Lo anterior reafirma que la calidad de luz puede inducir la producción de Fe. Los valores de Fe en *S. filiformis* no mostraron diferencias entre los tratamientos, sin embargo, todos los tratamientos aumentaron el contenido en relación con el control. Este valor inicial bajo es consecuencia de la limitación de nitrógeno durante el mantenimiento ya que no se añadieron nutrientes durante este periodo y, además, aunado a la historia de luz previa es probable que *S. filiformis* haya consumido el nitrógeno proveniente de las ficobiliproteínas. A pesar de que la concentración de Fe no varió entre los tratamientos, se encontró una correlación negativa significativa entre la síntesis de Fe y la  $F_v/F_m$  lo que indica un aumento en los valores de eficiencia fotoquímica máxima a la par de una reducción en los niveles de Fe.

La síntesis de Fe en *S. filiformis* se duplicó con la exposición a luz alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) más luz azul, asimismo se observó una correlación positiva entre la síntesis de este pigmento y los valores calculados de fotosíntesis máxima. El contenido de pigmentos en *S. filiformis* cultivada bajo esquema IMTA (Felaco et al., 2020) fue significativamente inferior que lo reportado en este trabajo, definitivamente debido a la disponibilidad de nutrientes. Por otro lado, la relación Chl *a*/Fe en *S. filiformis* mostró un decremento en relación con la luz azul, lo que podría indicar una regulación del tamaño de la antena como resultado de la exposición a distintos niveles de irradiancia. La Chl *a*/Fe presentó una correlación significativa con la  $F_v/F_m$  en *S. filiformis*. Lo anterior indica que el arreglo de los ficobilisomas en la membrana tuvo un efecto en la eficiencia de la transferencia de energía hacia el PSII en esta especie (Hurd et al., 2014).

Los carotenoides funcionan principalmente como fotoprotectores en algas rojas y previenen daños irreversibles en los fotosistemas. La aparición de estos pigmentos está relacionada comúnmente

con irradiancias altas (Larkum y Barrett, 1983). En este trabajo se identificaron zeaxantina y  $\beta$ -caroteno en ambas especies y solo se encontró luteína en *S. filiformis*. La zeaxantina fue identificada en los tratamientos con luz alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) en *G. cornea*, lo que refuerza la hipótesis de que el organismo posiblemente se encontraba en un estado de estrés ante esas condiciones lumínicas. Este pigmento en cuestión tiene la capacidad de capturar oxígeno para formar violaxantina y ser reducida nuevamente como ácido ascórbico, esto es conocido como ciclo de las xantofilas y juega un papel importante en la fotoaclimatación y fotoprotección de los talos (Rowan, 1989). Uno de los objetivos principales de este proceso es drenar la energía excedente mediante la disipación de calor (Demmig-Adams et al., 2008).

Los valores de zeaxantina en *G. cornea* estuvieron muy por debajo a los reportados por Schneider et al. (2022), además, ellos encontraron una sobreproducción del pigmento al irradiar con UV a los talos. Por otro lado, se observaron concentraciones altas de  $\beta$ -caroteno en *S. filiformis* cuando se expuso a irradiancia alta en la semana de aclimatación (luz solo blanca) pero estos valores disminuyeron al añadir luz azul. Esta tendencia fue similar a lo observado en el experimento con *S. filiformis* del capítulo anterior. El  $\beta$ -caroteno funciona también como fotoprotector del PSII, principalmente secuestrando los oxígenos singlete, que son oxidantes agresivos para los sistemas biológicos (Telfer, 2002). Estas especies reactivas de oxígeno son generadas comúnmente en condiciones de irradiancias que se consideran estresantes para las algas.

El contenido de  $\beta$ -caroteno presente en las muestras de este experimento para *S. filiformis* fue significativamente mayor que lo reportado por Schneider et al. (2022) en *G. cornea*, sin embargo, en ambos casos son valores (bajos) que concuerdan con lo descrito en la literatura para este grupo algal. Godínez-Ortega et al. (2008) encontraron tendencias similares en la síntesis de este pigmento, pero en muestras de *Halymenia floresii* irradiadas a una intensidad menor con luz blanca.

Como se había observado en experimentos previos, *S. filiformis* mostró una concentración mayor de pigmentos que *G. cornea*. Estas diferencias fueron claramente observadas en las curvas de absorción en los extractos acetónicos y de buffer de fosfatos. Se encontraron absorbancias mayores en los tratamientos de luz media ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) con luz azul en el extracto de buffer, lo que concuerda con el patrón observado en la síntesis de ficobiliproteínas. Es importante mencionar que el carbono y el nitrógeno en el tejido algal son un indicativo de la condición de “salud” del cultivo. La limitación de nitrógeno puede generar un sinnúmero de procesos fisiológicos y bioquímicos que introducen ruido para la interpretación de los datos y del efecto en las variables evaluadas. Sin embargo, en este trabajo no hubo diferencias significativas entre los tratamientos en términos del porcentaje de

carbono y nitrógeno. Además, los valores de N estuvieron por arriba del 2%, lo que indica que este nutriente no fue un factor limitante en los experimentos de ambas especies.

#### 7.4.2 Sistema antioxidante

Para estudiar el sistema antioxidante en los talos de *G. cornea* y *S. filiformis* se evaluó el contenido de fenoles totales, la capacidad antioxidante del extracto metanólico (fenoles) y de buffer de fosfatos (ficobiliproteínas) por tres protocolos antioxidantes: DPPH, ABTS y FRAP. Como complemento se identificó el perfil de aminoácidos tipo micosporina en *S. filiformis*. Los polifenoles son pieza importante del entramado antioxidante en macroalgas debido a que, pueden funcionar como receptores de energía solar y por lo general como antioxidantes, ya que poseen la capacidad de donar electrones para neutralizar las ROS (Swanson y Druehl, 2002). La producción de fenoles en *G. cornea* no presentó diferencias entre los tratamientos, un efecto similar fue encontrado en esta especie al exponerla a diferentes colores de luz y radiación UV (Schneider et al., 2022).

Los resultados de la capacidad antioxidante en los extractos metanólicos de *G. cornea* mostraron la misma tendencia con los tres protocolos utilizados. De manera general, se observó un decremento en la actividad antioxidante de los talos en los tratamientos con relación al control, expuesto a irradiancias bajas ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). No obstante, estos organismos provienen de cultivos exteriores con irradiancias altas, los que sugiere que un porcentaje de la capacidad antioxidante podría deberse a la presencia de metabolitos remanentes (Pliego-Cortés et al., 2019). Schneider et al. (2022) publicaron una reducción similar en la capacidad antioxidante evaluada con el ensayo de ABTS en cultivos sin adición de UV.

Los resultados reportados en este trabajo tuvieron una marcada correlación entre la producción de polifenoles y la actividad antioxidante evaluada por el método FRAP en los extractos de *G. cornea*. Pliego-Cortés et al. (2017) hallaron una relación similar entre el contenido total de fenoles y la actividad antioxidante evaluada por DPPH en talos de *Rhodymenia pseudopalmata*. Sin embargo, según a lo reportado por Álvarez-Gómez et al. (2019), la actividad antioxidante en *H. cornea* está relacionada principalmente con la exposición de los talos a UV y en menor medida con la cantidad de fenoles presentes. No obstante, se ha comprobado que estos compuestos representan un alto porcentaje de la capacidad antioxidante en los extractos metanólicos de algas marinas y particularmente en las algas rojas se deriva de compuestos fenólicos como los flavonoides y florataninos (Matanjun et al., 2008; Schneider et al., 2020).

En el caso particular de *S. filiformis*, se observó que la aparición de fenoles está relacionada con altas irradiancias ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y con el tiempo de exposición a estas. Se reportó un efecto similar al exponer a *R. pseudopalmata* a irradiancias altas de  $200 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Pliego-Cortés et al., 2017) y a *Gracilariopsis tenuifrons* a  $1000 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  por Zubia et al. (2014). No hubo diferencias en la actividad antioxidante de los extractos evaluados por FRAP. En el caso con ABTS se observó una diferencia modulada por la calidad de luz en cultivo, al exponer a la macroalga a luz azul en la segunda semana. Esta respuesta en la síntesis de fenoles fue reportada en *Gracilaria gracilis* por Ghedifa et al. (2021) y en *G. cornea* por Schneider et al. (2022). Las muestras de *S. filiformis* no mostraron actividad antioxidante cuando se midieron con el método DPPH. La capacidad antioxidante entre las especies fue muy similar en este ensayo, contrario a lo observado en los extractos metanólicos de talos expuestos a diferente calidad de luz en el capítulo anterior.

Algunos estudios han reportado actividad antioxidante en los extractos de ficobiliproteínas en cianobacterias (Sonani et al., 2014) y especies de macroalgas rojas como *Bangia atropurpurea* (Punampalam et al., 2018). Por su parte, *G. cornea* disminuyó la capacidad antioxidante de los extractos con buffer de fosfatos evaluados con FRAP y ABTS en la semana de aclimatación para ambas irradiancias y la aumentó al añadir luz azul. Una tendencia similar fue observada con relación a la síntesis de Fe en esta especie. A pesar de esto, no se encontró una correlación entre la concentración de ficobiliproteínas y la actividad antioxidante de los extractos. La respuesta antioxidante presentó una tendencia distinta con DPPH ya que la luz azul disminuyó la actividad en ambas irradiancias. Contrario a lo observado en *G. cornea*, la síntesis de ficobiliproteínas en *S. filiformis* tuvo una correlación significativa con la capacidad antioxidante en los extractos de fosfatos evaluados por los tres protocolos.

Por último, la respuesta antioxidante fue mayor con irradiancias altas ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) en *S. filiformis* y con medias ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) en *G. cornea*, sin embargo, se obtuvieron mejores resultados en esta última especie. Es importante resaltar que la capacidad antioxidante en las dos especies de algas fue mayor en el extracto de ficobiliproteínas que en los extractos metanólicos ya discutidos. Esto resulta interesante tomando en cuenta que el uso de las ficobiliproteínas como colorantes en alimentos se ha incrementado y su capacidad antioxidante podría agregar valor a los productos (Mysliwa-Kurziel y Solymosi, 2016; Pagels et al., 2019; Ali Anvar y Nowruzi, 2021).

Este trabajo es la primera caracterización de MAAs en *S. filiformis* y en él se logró demostrar que tanto la irradiancia como la calidad de luz pueden modular su producción. Bedoux et al. (2020) compilaron un gran número de estudios que atestiguan que la síntesis de MAAs es modificada por las

condiciones lumínicas, pero también como consecuencia de la adición de UV y la disponibilidad de nitrógeno. Las micosporinas son metabolitos sintetizados por las algas marinas con el propósito de prevenir daños a nivel DNA causados en mayor medida por la radiación UV. De acuerdo con este principio, las algas rojas son clasificadas en tres grandes grupos dependiendo de la dinámica de producción de aminoácidos tipo micosporina. La *S. filiformis* de este trabajo se debería agrupar en la clasificación tipo II, que corresponde a especies submareales que poseen la habilidad de modular la síntesis de MAAs con el fin de sobrellevar las condiciones lumínicas presentes en el ambiente en el que se desarrollan (Hoyer et al., 2002).

De las tres micosporinas identificadas, shinorine fue la más abundante en las muestras de *S. filiformis*, lo cual es consistente con la literatura, ya que es considerado el MAA más común y está presente en la mayoría de las especies (Huovinen et al., 2004). Después le siguen en concentración palythine y finalmente asterine-330. Solo shinorine y palythine mostraron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Se han reportado otras micosporinas en el género algal, como es el caso del ácido palitenico identificado por Bedoux et al. (2014) en muestras de *S. chordalis*.

En este trabajo se encontraron mayores concentraciones de shinorine en irradiancia media ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) durante la semana de aclimatación en *S. filiformis*. Sin embargo, se observó un decremento al incluir luz azul en la segunda semana de cultivo, que parece ser más efecto del tiempo y de la aclimatación a las irradiancias que una respuesta a la calidad de luz. En este sentido, se ha demostrado que el perfil y la composición individual de MAAs está influenciado por la densidad y tiempo de cultivo (Barceló-Villalobos et al., 2017).

Por otro lado, la micosporina palythine mostró un incremento significativo al añadir luz azul en el tratamiento con irradiancia alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ). Un comportamiento similar en la síntesis de palythine fue observado en talos de *Chondrus crispus* al exponerla a esta calidad de luz (Franklin et al., 2001). La misma tendencia se reportó en *G. cornea* al añadir luz azul al cultivo en talos irradiados con  $700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  (Schneider et al., 2022). Kräbs et al. (2002) sugieren que las rutas implicadas en la producción de MAAs son modificadas como consecuencia de las longitudes de onda presentes en el medio. Por ejemplo, Korbee et al. (2005) encontraron que la luz blanca y azul estimulan la producción de MAAs en *Porphyra leucosticta*, pero es con luz azul donde obtuvieron las concentraciones más altas de palythine y asterine-330.

El contenido de los MAAs en este trabajo corresponde con las proporciones reportadas en *Rhododymenia pseudopalmata* por Pliego-Cortés et al. (2019). Estos autores encontraron una tendencia similar en la síntesis de estos compuestos, ya que reportan un incremento en el contenido total de

MAAs en cultivos al interior comparado con talos cultivados al exterior. Adicionalmente, atribuyen este efecto a la doble función de los MAAs como fotoprotectores y elementos del sistema antioxidante. Esta estrategia ha sido confirmada por un gran número de estudios en distintos géneros de macroalgas rojas (de la Coba et al., 2009; Torres et al., 2018). Diversos trabajos han conseguido una mayor síntesis de MAAs con radiación UV debido a su función fotoprotectora (Peinado et al., 2004; Bischof et al., 2006; Jiang et al., 2008; Bonomi Barufi et al., 2012), sin embargo, en este experimento no fue suministrada en ninguna de las irradiancias probadas.

Por otro lado, es factible que la disponibilidad de nitrógeno fomentará la síntesis de micosporinas durante el experimento, ya que se conoce que la cantidad de nitrógeno suplementado puede modificar la producción de MAAs (Figuroa et al., 2008, 2010, 2012). Los resultados de esta tesis enfatizan la idea de que la acumulación de estos metabolitos es variable y sigue mecanismos especie-específicos. Por último, no se lograron identificar aminoácidos tipo micosporina en las muestras de *G. cornea*, sin embargo, otros trabajos los han logrado identificar tanto en organismos silvestres como cultivados expuestos a diferentes condiciones de radiación UV, temperatura y nutrientes (Sinha et al., 2000; Figuroa et al., 2012, 2022; Álvarez-Gómez et al., 2019; Schneider et al., 2022).

### 7.4.3 Síntesis de polisacáridos

Los carbohidratos presentes en los talos de ambas especies se reportaron como porcentaje de rendimiento de los polisacáridos (agar y carragenato), y sus respectivos contenidos de 3,6 A-G y sulfatos. La irradiancia tuvo un efecto importante en la síntesis de agar en *G. cornea*, y se observó que los tratamientos con irradiancias medias ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) y altas ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ ) disminuyeron el rendimiento (%) del ficocoloide con relación a los talos expuestos a luz baja ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$  - control).

No obstante, el contenido de agar incrementó en la irradiancia media durante la segunda semana al adicionar luz azul. Una relación similar se observó en el rendimiento de agar de *Gracilaria* sp. cultivada en condiciones de laboratorio, donde las mayores cantidades de agar se encontraron al exponerla a irradiancias bajas (Rotem et al., 1986). Sin embargo, Freile-Peigrín y Robledo (1997) encontraron un efecto contrario en una *Gracilaria cornea* silvestre, encontrando un mayor contenido de agar durante la temporada de verano, cuando las condiciones de irradiancia son relativamente altas en zonas tropicales.

Se ha reportado que la exposición a luz UV-B tiende a incrementar la cantidad de polisacáridos con el objetivo de engrosar la pared celular como mecanismo de protección (Schmidt et al., 2012). Por otro lado, You y Barnett (2004) observaron que la exposición a luz azul permite aumentar la producción de polisacáridos en comparación con luz blanca. El contenido de sulfatos en *G. cornea* de este trabajo fue marcadamente reducido, como se esperaba al tratarse de agar, ya que presentan mínima sulfatación (Hurd et al., 2014). Estos resultados fueron similares a los que ya se han reportado en talos silvestres de la misma especie, sin embargo, el contenido de agar fue mayor en el trabajo de Pereira-Pacheco et al. (2007).

En *S. filiformis*, la adición de luz azul disminuyó la síntesis de carragenato en los talos expuestos a irradiancia media. Una tendencia similar se observó con el contenido (%) de 3,6 A-G en esta macroalga, por otro lado, *G. cornea* no presentó cambios en la 3,6 A-G, lo que indica que la fuerza del gel se mantuvo aparentemente constante durante el experimento. La mayor cantidad de carragenato en *S. filiformis* fue encontrada durante el periodo de mantenimiento cuando los talos estuvieron expuestos a irradiancias bajas, sin embargo, no hubo diferencias significativas con el tratamiento de irradiancia media durante la semana de aclimatación. Freile-Pelegrín y Robledo (2006) reportan una tendencia similar en talos silvestres de *Euclidean isiforme* durante la temporada de invierno cuando la irradiancia es baja en comparación a los meses de verano. Se ha demostrado que intensidades de luz altas estimulan el crecimiento y la fotosíntesis, aumentan la síntesis de almidón, pero disminuyen la producción de polisacáridos, contrario a lo que sucede en talos expuestos a irradiancias bajas donde estos compuestos por lo general son almacenados.

El rendimiento de carragenato y el contenido (%) de sulfatos con relación al peso seco en todos los tratamientos fueron mayores que los reportados por Peñuela et al. (2021) en talos de *S. filiformis* cultivados al exterior. Pese a que en otro experimento realizado por el mismo grupo (Peñuela et al., 2018) se encontraron contenidos de carragenato, grupos sulfatos y 3,6 A-G similares a los de este estudio. Sin embargo, Stephanie et al. (2010) y Boulho et al. (2017) encontraron valores más altos de carragenato y sulfatos en *S. chordalis*. El contenido de sulfatos en *S. filiformis* se mantuvo estable en los tratamientos durante el experimento y fue significativamente mayor que lo observado en *G. cornea*. Lo anterior debido a la alta sulfatación presente en los carragenatos de *S. filiformis*, lo que confiere solidez a estos ficocoloides (Hurd et al., 2014).

A modo de resumen se puede decir que los datos de las curvas P-I indican que la condición de alta irradiancia en *G. cornea* indujo fotodaño, lo que se pudo constatar al encontrar talos blanqueados al finalizar el experimento. La selección de las intensidades de luz para el experimento se hizo con base



en resultados preliminares con *Solieria*, y se asumió que *Gracilaria* mostraría una respuesta similar para lidiar con las irradiancias de estudio. Sin embargo, se pudo observar que el efecto que tuvo este tratamiento con relación a la fisiología y condición general del talo fue diferente entre las especies. El blanqueamiento en *G. cornea* impidió tomar muestras para algunos análisis en el tratamiento con irradiancia alta para la semana dos. Al parecer el efecto repentino y prolongado a irradiancias altas promovió procesos de fotoinhibición y por ende la muerte de los talos de *G. cornea*. Es probable que estas condiciones de luz en conjunción con otras variables promoviesen su deterioro paulatino. También es importante considerar la historia de luz de los talos utilizados que, a pesar de haber compartido un origen común, es probable que presentaran variaciones biológicas al iniciar los experimentos.

La irradiancia y calidad de luz tuvieron un efecto en la fisiología, síntesis de metabolitos y actividad antioxidante en las algas *S. filiformis* y *G. cornea*. En general, la luz blanca promovió la síntesis, cantidad y concentración de las variables evaluadas en *S. filiformis* y sucedió algo similar con la exposición a luz blanca + azul en *G. cornea*. Comprender el efecto que tiene la longitud de luz y sus interacciones sobre la fotosíntesis es de gran relevancia para lograr una optimización de los procesos adyacentes derivados de la utilización de fuentes de luz artificial en cultivos controlados.

La producción de pigmentos, fenoles, aminoácidos tipo micosporina y polisacáridos fue mayor cuando se expuso a los talos de *S. filiformis* a intensidad de luz media mientras que la exposición a irradiancia alta permitió alcanzar valores mayores de fotosíntesis y de actividad antioxidante. En *G. cornea* se observaron valores mayores de fotosíntesis, pigmentos y de algunos protocolos antioxidantes con bajas irradiancias. Ninguna de las condiciones evaluadas en este segundo experimento promovió el crecimiento de ninguna de las especies de estudio, como si se observó en el capítulo anterior cuando las algas fueron irradiadas con luz a  $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ . Lo que nos sugiere que el aprovechamiento de estas algas debe concebirse como un sistema de cultivo en dos fases: donde en una primera se produce la biomasa y en la segunda se induce a la producción de los metabolitos de interés.

*S. filiformis* presentó resultados más altos de  $F_v/F_m$ , fotosíntesis máxima, ficobiliproteínas, carotenoides y fenoles que *G. cornea*, pero esta última mostró mayor síntesis de polisacáridos (agar) y de capacidad antioxidante que lo encontrado en *S. filiformis*. Solo se identificaron micosporinas en las muestras de *S. filiformis*, lo que sugiere que las condiciones probadas no tuvieron efecto en la síntesis de estos compuestos en *G. cornea* sin embargo en la literatura se han reportado MAAs en el género *Gracilaria*. Es importante recalcar que este es el primer trabajo en el que se reporta el perfil de MAAs

en *S. filiformis* y resulta importante ya que estos compuestos podrían estar contribuyendo en su capacidad antioxidante.

Los datos obtenidos en este capítulo explican las diferentes estrategias de *G. cornea* y *S. filiformis* para lidiar con las condiciones ambientales a las que se encontraban expuestas. Sin embargo, en el capítulo siguiente se ahonda más profundamente en los mecanismos que participan en estos procesos biológicos. La macroalga *G. cornea* ha sido utilizada como modelo de estudio en una gran cantidad de trabajos con el objetivo de analizar su fisiología, perfil de pigmentos, micosporinas, etc.; sin embargo, este es el primer análisis detallado del alga tropical *S. filiformis*. Los resultados de esta investigación podrían ser una guía para optimizar el uso de estas algas comestibles como productos nutraceuticos en la industria farmacéutica y cosmética. Finalmente, es importante considerar la viabilidad de que estas especies pueden ser producidas en cultivos controlados para mejorar su composición o la síntesis de ciertos compuestos.

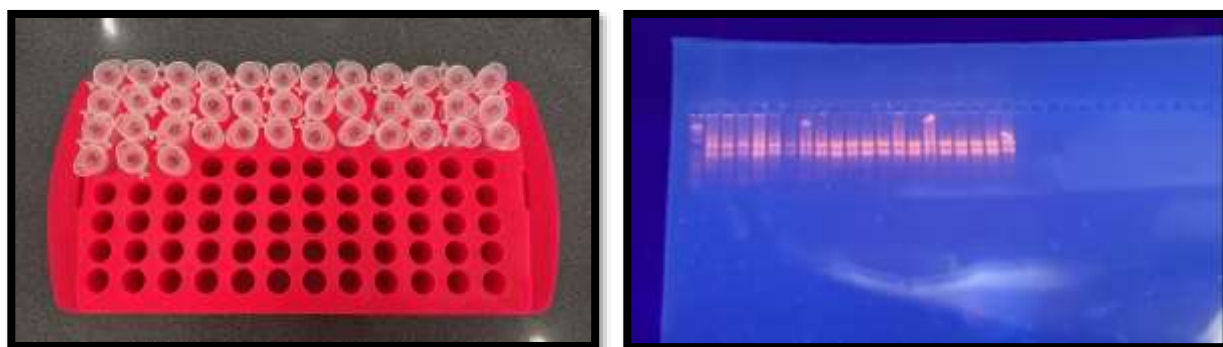
## 7.5 Conclusiones

- La LB promovió los descriptores fotosintéticos ( $F_v/F_m$ ,  $F_{max}$ , Chl *a*, Car y Fc), la síntesis de metabolitos (MAAs y polisacáridos) y la actividad antioxidante en *S. filiformis* mientras que el tratamiento con la combinación LB+A tuvo el mismo efecto para *G. cornea*.
- En *S. filiformis* la irradiancia media ( $\sim 350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) optimizó la síntesis de pigmentos, fenoles, MAAs y carragenato.
- En *S. filiformis* la irradiancia alta ( $\sim 700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) promovió valores mayores de  $F_{max}$  y de actividad antioxidante.
- En *G. cornea* la irradiancia baja durante el periodo de mantenimiento ( $\sim 100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) mejoró la  $F_{max}$ , la cantidad de pigmentos y la capacidad antioxidante evaluada por la mayoría de los protocolos; mientras que la irradiancia moderada estimuló la actividad antioxidante en los extractos de ficobiliproteínas.
- No se observó crecimiento significativo en las algas evaluadas en ninguna de los tratamientos experimentales.
- Los valores de  $F_v/F_m$ ,  $F_{max}$ , ficobiliproteínas, Car y fenoles fueron mayores en *S. filiformis* comparados con los de *G. cornea*.
- *G. cornea* presentó valores superiores de ficocoloides (agar) y de la actividad antioxidante de sus extractos.

## 8. CAPÍTULO III. Identificación de cambios transcriptómicos, genes responsivos y rutas específicas de transducción en la síntesis de pigmentos y otros productos con capacidad antioxidante en *S. filiformis* en respuesta a inducción lumínica

Los resultados de este capítulo están en proceso de escritura en forma de artículo científico para ser enviado a la revista *Proceedings of the National Academy of Sciences* (factor de impacto: 12.779).

**Gene regulation plasticity of *Solieria filiformis* (Rodophyta) under light modulation in controlled systems.**



RNA total de las 20 (x2) muestras de *Solieria filiformis*. Gel de agarosa de las muestras enviadas para RNA-seq.

### 8.1 Introducción

Las macroalgas marinas son organismos fotosintéticos fundamentales en la producción de oxígeno y la captura de carbono en los ecosistemas marinos. Como la luz es un factor ambiental crucial para su crecimiento y supervivencia, la regulación de la expresión génica en respuesta a esta variable es de gran importancia para las macroalgas. La calidad y cantidad de luz son factores determinantes para su crecimiento y supervivencia. En particular, la regulación de la expresión génica en respuesta a la luz es un proceso clave en la biología de las algas rojas, y la transcriptómica se ha convertido en una herramienta valiosa para entender cómo la luz afecta a estos organismos.

La transcriptómica ha proporcionado una gran cantidad de información sobre cómo las algas rojas regulan su respuesta a condiciones lumínicas específicas. La irradiancia, que es la cantidad de energía luminosa que llega a una superficie, es un factor importante que afecta el crecimiento y la fisiología de estas algas. En general, se ha observado que las algas rojas crecen mejor a una irradiancia entre 50 y 200  $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ .

Diferentes intensidades de luz pueden inducir respuestas específicas en la expresión génica, como se demostró en la Rhodophyta *Sheathia arcuata*, donde la exposición a bajas irradiancias indujo la expresión de genes relacionados con la fotosíntesis (Nan et al., 2018). Los autores sugieren una adaptación a sombreado intenso observándose un incremento en la expresión de transcritos que corresponden a proteínas del complejo antena, del aparato fotosintético y enzimas derivadas del proceso de fijación del carbono. En uno de los primeros estudios transcriptómicos con algas rojas, específicamente *Gracilaria changii*, se encontró que en condiciones limitadas de luz se sobreexpresaron a la baja la mayoría de los genes involucrados en rutas proteicas referentes a captación de luz, procesos de estrés y ficobilisomas. En este caso, se observaron tasas fotosintéticas menores a las encontradas en irradiancias altas (Ho et al., 2009).

La calidad de la luz es otro factor importante que puede influir en la expresión génica en las algas rojas. Estos organismos utilizan principalmente la clorofila *a* y la ficoeritrina para la fotosíntesis, y pueden absorber la luz en el rango de longitud de onda de 400 a 700 nm. Diferentes longitudes de onda de luz pueden inducir respuestas específicas en la expresión génica. Por ejemplo, la exposición a la luz roja, azul y verde en talos de *Kappaphycus alvarezii* expuestos a luz blanca reprimió la mayoría de los genes relacionados con las proteínas del complejo de captación de luz. Sin embargo, el gen que activa el fotorreceptor fitocromo solo se encontró en algas expuestas a luz blanca, lo que sugiere que la calidad de la luz no es la única responsable de regular la expresión génica en esta especie (Thien et al., 2021). En otra especie de alga roja, *Pyropia haitanensis*, se encontró que la luz azul promueve la síntesis de ficobiliproteínas y la expresión de genes relacionados con la fotosíntesis, mientras que la luz

verde y roja suprimen la regulación de genes del catabolismo de carbohidratos, pero optimizan los valores de la fotosíntesis neta (Liang et al., 2022).

La transcriptómica ha permitido identificar en las algas rojas diferentes fotoreceptores que les permiten detectar y responder a diferentes longitudes de onda. En concreto, se han identificado dos tipos principales de fotoreceptores: los criptocromos, asociados a la detección de la luz azul, y las ficobiliproteínas, implicadas en la detección de la luz roja y verde (Duanmu et al., 2017). Cada especie de macroalga marina tiene una respuesta única a la luz, lo que sugiere que la regulación de la expresión génica en respuesta a la luz puede ser específica de cada una de ellas (Singh y Singh, 2015).

Aunque se han hecho grandes progresos en la comprensión de los mecanismos moleculares de la regulación de la expresión génica en las macroalgas, todavía hay varios desafíos en la interpretación de los datos transcriptómicos. La falta de secuencias de referencia y de anotaciones genómicas para muchas especies de macroalgas marinas puede dificultar la identificación de genes específicos en los estudios de transcriptómica. Además, la variabilidad entre individuos y la falta de control en las condiciones de crecimiento pueden afectar la interpretación de los resultados en estos estudios (Nan et al., 2018). Dada la complejidad de los procesos biológicos involucrados en la respuesta de las algas rojas a la luz, la investigación en este campo sigue siendo desafiante. Sin embargo, se espera que los avances tecnológicos y en el análisis de datos permitan una comprensión más completa de la respuesta de las algas marinas a la luz.

La investigación en transcriptómica ha demostrado ser esencial para comprender cómo las algas rojas responden a la luz y cómo se regulan a nivel molecular, lo que permite la identificación de genes clave. Esta información no solo puede ser valiosa para mejorar la producción y la calidad de las algas en la acuicultura, sino también para comprender mejor los ecosistemas marinos donde proliferan estas especies. A pesar de los avances logrados en la comprensión de los mecanismos moleculares de la expresión génica en las macroalgas, aún quedan muchas preguntas sin respuesta sobre cómo la luz afecta la expresión génica en estas especies. En este sentido, este capítulo presenta un análisis transcriptómico de *S. filiformis* basado en un experimento previo, con el fin de reforzar el conocimiento obtenido sobre la fisiología, los metabolitos y la capacidad antioxidante de esta alga en respuesta a diferentes irradiancias y a la luz azul.

Es crucial identificar los genes involucrados en la producción de compuestos bioactivos para comprender las rutas metabólicas que sintetizan estos metabolitos. Los resultados de este análisis podrían servir para desarrollar marcadores confiables y predecir el rendimiento en cultivos controlados. Dado que las macroalgas tienen diversos mecanismos de adaptación a los ambientes lumínicos,

combinar herramientas moleculares con estudios fisiológicos, como el realizado en esta tesis, podría describir los cambios significativos en respuesta a estresores para con eso optimizar los parámetros de cultivo y obtener productos con un alto valor comercial. La capacidad probada de *S. filiformis* para modificar la síntesis de biomoléculas mediante la regulación de la luz la convierte en una candidata prometedora para producir nutraceuticos para las industrias farmacéutica y cosmética.

## 8.2 Materiales y métodos

### 8.2.1 Diseño experimental

Para la secuenciación de RNA (RNA-seq) se utilizó *S. filiformis* proveniente del experimento descrito en el Capítulo II. Se recolectaron talos de las cuatro réplicas de cada uno de los cinco tratamientos experimentales. La primera recolección se realizó en el período de "mantenimiento o control" (día 0 de cultivo), cuando los organismos se encontraban en condiciones de luz blanca "baja" de  $100 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$  (C100). La segunda recolección se realizó en el período de "aclimatación" (día 7 de cultivo), cuando los organismos fueron expuestos por primera vez a las dos irradiancias experimentales de  $350$  y  $700 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{s}^{-1}$ , que podrían considerarse de intensidad media y alta, respectivamente. Durante esta fase, los organismos estuvieron expuestos solo a condiciones de luz blanca durante una semana (L350+B y L700+B).

Finalmente, la tercera recolección se realizó en la semana dos, correspondiente al "periodo experimental" (día 15 de cultivo), en el que se añadió luz azul, manteniendo las mismas irradiancias de la primera semana (L350+A y L700+A). El diseño experimental utilizado se muestra en la Fig. 14 de la sección de Materiales y Métodos del Capítulo II. En total, se utilizaron 20 réplicas biológicas para el experimento de secuenciación (Tabla 14). Los organismos recolectados fueron enjuagados con agua destilada para eliminar sales, congelados mediante inmersión en nitrógeno líquido y almacenados a  $-80^\circ\text{C}$  para su posterior extracción de RNA.

### 8.2.2 Extracción de RNA, preparación de librerías y secuenciación

Se extrajo ARN total de 1 g de tejido utilizando el RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Alemania) y se trató con DNasa usando el Turbo DNA-free kit (Ambion Austin, EE. UU.). La concentración e integridad de las muestras se evaluaron mediante un espectrofotómetro Nanodrop™ 2000 (Thermo Scientific, Massachusetts, EE. UU.) y una electroforesis en gel de agarosa no desnaturizante al 1.5%, respectivamente. Se midió la absorbancia a 230, 260 y 280 nm para estimar la pureza del RNA

calculando las proporciones A260/A280 y A260/230 para evaluar la contaminación por proteínas y polisacáridos/polifenoles, respectivamente. Las muestras con proporciones mayores o iguales a 1.8 se consideraron de "buena" calidad.

La integridad y calidad de algunas muestras se evaluaron con mayor detalle mediante un bioanalizador Agilent 2100 acoplado a un Nanochip RNA 6000 (Agilent Technologies, CA, EE. UU.). Las bibliotecas de secuenciación se prepararon a partir de 3 µg de ARN total (RIN ≥ 8) utilizando el kit Illumina TrueSeq RNA Library Preparation V3. Se secuenciaron 20 bibliotecas en cuatro carriles de la plataforma Illumina NextSeq 2500, lo que generó un total de 1500 millones de lecturas pareadas de 2x150 pb.

**Tabla 14.** Diseño del experimento de secuenciación por síntesis (2x150) en *Solieria filiformis*.

<b>Tiempo (semana)</b>	<b>Irradiancia</b>	<b>Calidad luz</b>	<b>Nombre tratamiento</b>	<b>No. réplicas</b>	<b>No. lecturas aprox. (millones)</b>
0	100 (control)	Blanca	C100	4	
1	350	Blanca	L350+B	4	20 x muestra 400 x total
	700	Blanca	L700+B	4	
2	350	Blanca + azul	L350+A	4	
	700	Blanca + azul	L700+A	4	
<b>Total</b>				<b>20</b>	

### 8.2.3 Bioinformática – Ensamble *de novo* y anotación funcional

En una primera etapa, las lecturas en bruto de RNA-seq fueron preprocesadas para eliminar adaptadores y recortar bases con baja calidad mediante el uso de fastP (Chen et al., 2018). Con el fin de evitar el ensamblaje de transcritos quiméricos resultantes de la diversidad de isoformas entre las condiciones experimentales, se realizó el ensamblaje utilizando exclusivamente las cuatro bibliotecas de la condición control (C100). Se empleó Trinity versión 2.03 (Grabherr et al., 2011) con parámetros predeterminados para llevar a cabo el ensamblaje sobre ~200 millones de lecturas de extremos emparejados, obteniendo un conjunto de 37,686 contigs con una longitud media de 980 pb. Los contigs se anotaron utilizando un enfoque basado en homología mediante un proceso de blast (Altschul et al., 1997) contra la base de datos Swiss-Prot (Boutet et al., 2016), y se seleccionaron las mejores referencias para cada contig a través de un Rscript casero considerando tanto el bitcore más alto como el valor E más pequeño.

Los términos de Gene Ontology (GO) para cada transcrito se recuperaron de la base de datos UniProt utilizando la función de mapeo de ID (*UniProtKB*, 2022). El catálogo de transcritos anotados mostró una longitud mínima, media y máxima de 201 pb, 2013.28 pb y 22,657 pb, respectivamente. Es importante destacar que esta media por transcrito tiene el doble de longitud que la de cualquier otro transcriptoma *de novo* en algas rojas (Im et al., 2015; Jia et al., 2020; Zhang et al., 2020), lo que sugiere que el experimento y esfuerzo de secuenciación son valiosos recursos para la comunidad ficológica.

#### 8.2.4 Mapeo de lecturas, cuantificación de abundancia de transcritos y análisis de expresión diferencial

Para estimar la abundancia de transcritos en el genoma completo, se utilizó Kallisto con los parámetros predeterminados para pseudo-alinear las lecturas limpias con el transcriptoma de referencia (Bray et al., 2016). Se excluyeron los transcritos con una mediana de recuento de lecturas inferior a cinco para el análisis posterior. La normalización de datos y los análisis de expresión diferencial se realizaron con DESeq2 R (Love et al., 2014) con el objetivo principal de identificar los transcritos relacionados con la respuesta a las condiciones de irradiancia y calidad de luz. Para lograr esto, se realizó una serie de análisis comparativos de la expresión diferencial entre todas las condiciones experimentales, generando un total de 10 contrastes. Se consideraron transcritos expresados diferencialmente utilizando un FDR  $\leq 0.01$ .

Se llevó a cabo un análisis adicional mediante un análisis de componentes principales (ACP), utilizando los valores vst transformados para estabilizar la varianza. Este análisis permitió separar las muestras en un espacio 2D y detectar inconsistencias en los tratamientos. Además, para describir el patrón general de la respuesta transcripcional a las condiciones de luz, se utilizó un heatmap y un enfoque de agrupamiento, donde los genes se agruparon mediante una distancia euclidiana. Los valores de expresión normalizados se graficaron en heatmaps con puntuaciones  $z$  para los genes.

Los análisis de enriquecimiento GO se realizaron de forma independiente para cada catálogo de transcritos diferencialmente expresados obtenido de los contrastes mencionados anteriormente. Para este análisis, todos los transcritos anotados y expresados en las bibliotecas control se definieron como fondo. Los análisis definitivos se ejecutaron utilizando el paquete TopGO R (Alexa et al., 2006) mediante el algoritmo `weight01` y se utilizó un valor de  $p \leq 0.1$  para definir si los términos GO se encontraban enriquecidos. Se representaron las distribuciones de los tamaños de los efectos ( $\log_2FC$ ) de los genes anotados en los términos GO que cumplían con el límite de  $\leq 0.1$  mediante diagramas de dispersión horizontal y violín.



## 8.2.5 Análisis estadístico de los resultados transcriptómicos

Se seleccionó un conjunto específico de 113 genes anotados y caracterizados que se relacionan con la fotosíntesis, la actividad antioxidante y la biosíntesis de polisacáridos de la base de datos de transcriptomas. Se logró encontrar coincidencia para el 100% de estos genes utilizando los identificadores UNIPROT. Después, se comparó la distribución de las estimaciones de log<sub>2</sub>FC para el conjunto de los 113 genes seleccionados con una muestra aleatoria de ~6000 genes anotados, mediante diagramas de densidad. Para evaluar si las diferencias en el log<sub>2</sub>FC entre los dos conjuntos de genes fueron aleatorias, se simuló una distribución teórica para un estadístico “t” basado en una media poblacional de  $\mu = 0.030$ . Por último, se estimó la probabilidad de que el estadístico “t” observado fuera mayor que la media poblacional esperada y se obtuvo el intervalo de confianza de 0.95 para la distribución teórica log<sub>2</sub>FC. Se utilizaron la biblioteca Tidymodels R (Kuhn y Wickham, 2020) y técnicas de modelado estadístico para llevar a cabo este análisis.

## 8.3 Resultados

### 8.3.1 Perfil general transcriptómico en respuesta a la irradiancia y la calidad de luz

Se utilizó un enfoque basado en secuenciación de próxima generación (NGS) para analizar la respuesta transcripcional de todo el genoma de *Solieria filiformis* a diferentes combinaciones de condiciones de irradiancia y calidad de luz (Tabla 14). Se realizaron diecinueve bibliotecas de secuenciación 2x150 en el experimento de NGS, lo que resultó en un total de 547 millones de pares de lectura. El número bruto de pares de lectura varió de 20 millones a 36 millones por biblioteca, con un promedio de 19 millones (Apéndice 4). Este esfuerzo de secuenciación es suficiente para cubrir los aproximadamente 17,000 transcritos detectados en otros experimentos de ensamblaje de transcriptomas de algas rojas (Choi et al., 2013; Xie et al., 2013; Zhang et al., 2022).

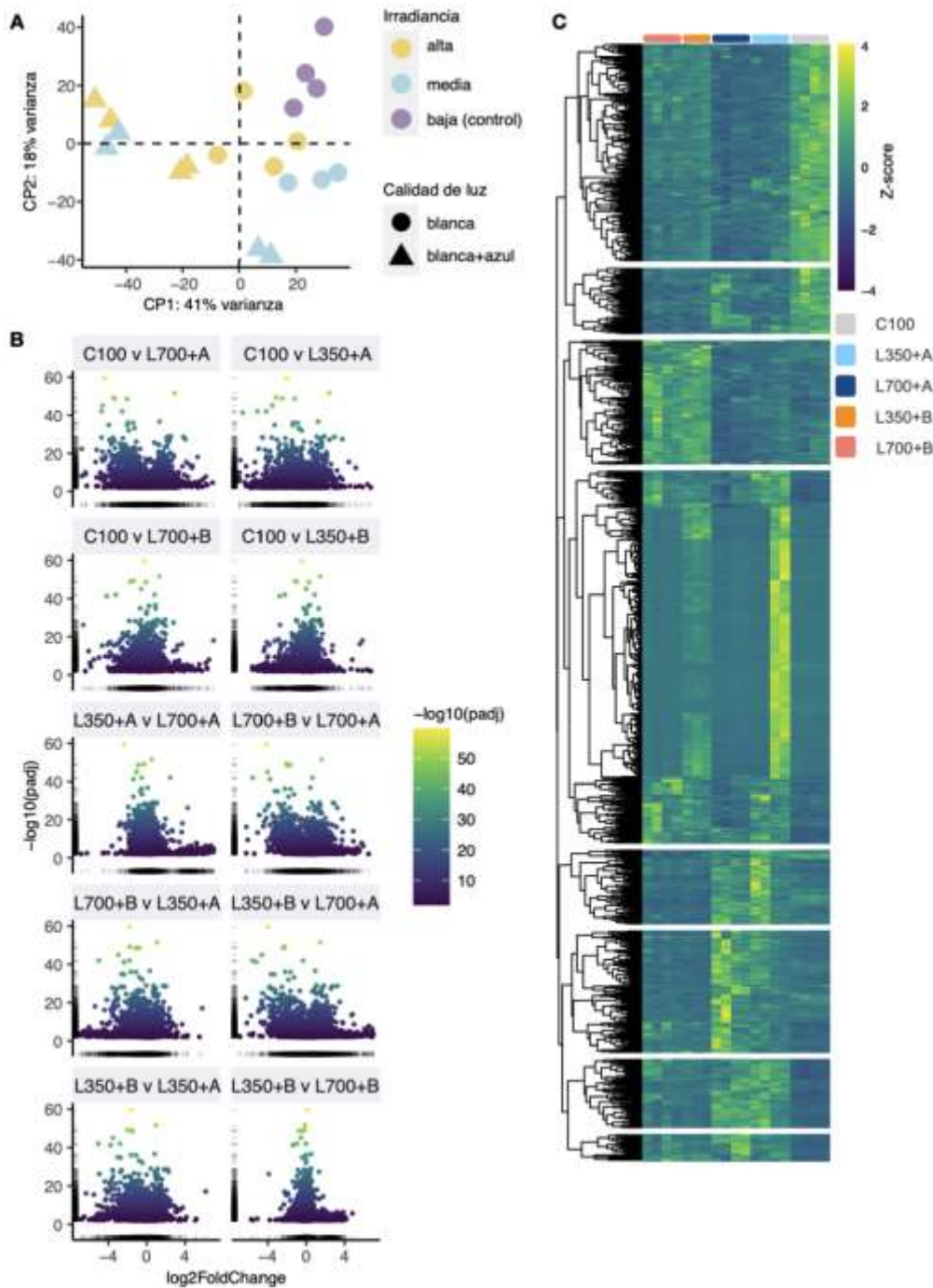
Posterior al ensamblaje *de novo*, se identificaron un total de 37,686 contigs que tenían una longitud superior a 200 nucleótidos. La longitud mediana de los contigs fue de 453 nucleótidos, y el contig más largo tuvo una longitud total de 22,657 nucleótidos. Estos resultados sugieren que el enfoque de ensamblaje capturó una amplia gama de transcritos que incluyen mRNA codificadores de proteínas, así como RNA largos no codificantes (lncRNA) y otras moléculas de RNA. Es importante tener en cuenta que como el ensamblaje se realizó solo utilizando las bibliotecas del control, el empalme alternativo causado por los tratamientos de luz no se incluyó en el transcrito de referencia. Sin embargo,

aunque el enfoque no tuvo en cuenta las diferencias discretas en la diversidad de transcritos en el experimento completo, sigue siendo adecuado para capturar las diferencias cuantitativas en la abundancia de transcritos en respuesta a las condiciones experimentales.

Tras mapear las lecturas sin procesar de cada biblioteca al conjunto de 37,686 transcritos, se encontró que el número medio de lecturas emparejadas alineadas fue de 19.5 millones (65%). Mientras que el mínimo y el máximo fueron de 5.7 millones (23%) y 31.73 millones (86%), respectivamente. Estos porcentajes se encuentran dentro del rango esperado para un transcriptoma de referencia (Xie et al., 2014; Conesa et al., 2016). Sin embargo, el porcentaje más bajo de lecturas asignadas de una biblioteca específica (23%) podría deberse a una calidad deficiente de la biblioteca de cDNA o que una gran parte de las lecturas en la biblioteca fueron transcritas a partir de genes de RNA ribosomal.

Después de normalizar y eliminar los transcritos con baja expresión (mediana del recuento de lecturas por transcrito  $< 5$ ), se obtuvieron un total de 17,994 transcritos. Para identificar las diferencias transcripcionales entre las distintas condiciones experimentales, se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de las muestras de cada tratamiento (Fig. 24, A). Los resultados mostraron que el CP1 (41%) y el CP2 (18%) explicaron alrededor del 60% de la variabilidad en la expresión debida a las diferentes condiciones de luz. Además, se observó una alta congruencia entre las muestras, como se puede ver en la distribución de cada réplica. Cabe mencionar que se eliminó una de las 20 muestras secuenciadas para el análisis *in silico* debido a inconsistencias en los resultados, lo que sugiere una alta variabilidad biológica o un mal manejo de esa réplica en particular.

De los 17,994 transcritos que se expresaron de manera consistente, un total de 6090 (33%) presentaron una coincidencia de alta calidad en la base de datos SWISSPROT. Este porcentaje es similar al que se ha observado en otras algas rojas, como *Pyropia tenera*, *Pyropia haitanensis*, *Kappaphycus alvarezii* y *Pyropia yezoensis* (Choi et al., 2013; Wang et al., 2015; Zhang et al., 2015; Zhang et al., 2020). Esto indica que una gran parte de estos transcritos podrían codificar proteínas menos conocidas u otras clases de RNA, como los RNA no codificantes largos (lncRNA). En promedio, cada gen transcribió 1.53 isoformas. Valores altos de transcritos que codifican para una única proteína ( $> 100$  transcritos por proteína) se identificaron y anotaron como elementos transponibles (transposón). La mediana de longitud para los transcritos anotados fue de 1189 nucleótidos, mientras que los contigs



**Figura 24.** El análisis transcripcional del genoma completo de *Solieria filiformis* reveló un papel significativo tanto de la irradiancia como la calidad de luz en los cambios en la abundancia de transcritos. A) El gráfico de dispersión que muestra PC1 y PC2 sugiere un marcado efecto de la luz azul en la abundancia de transcritos. B) Gráficos de volcán que muestran la distribución de los tamaños del efecto y la relevancia de los análisis de abundancia en los transcritos diferenciales entre los contrastes. Los gráficos de alfombra muestran la densidad de cada variable. C) Los valores de expresión normalizados se muestran como “scores” Z para las 19 bibliotecas empleadas en el análisis transcriptómico. El dendrograma en el lado izquierdo denota los grupos de genes agrupados con base en la distancia euclidiana.

sin coincidencia en la base de datos tuvieron una mediana de longitud de 396 nucleótidos, lo que sugiere que es más probable que los contigs más largos codifiquen a proteínas conocidas.

Para investigar qué parte del transcriptoma y qué mecanismos moleculares están involucrados en la respuesta fisiológica de *S. filiformis* a las condiciones de luz del experimento, se realizaron análisis de expresión génica diferencial. De los 6090 transcritos expresados y anotados de manera consistente, un conjunto de 2621 (43%) mostró una expresión diferencial consistente en los 10 contrastes (Fig. 24, B). Se observó variabilidad en los tamaños del efecto de las diferencias en la acumulación de transcritos en los conjuntos de genes entre los diferentes tratamientos. Los resultados indican que la adición de luz azul, seguido de la irradiancia alta (L700) tuvieron un efecto claro en el tamaño del efecto (Fig. 24, B), lo que se reflejó en una mayor supresión o inducción del conglomerado de genes.

Entre los 2621 transcritos expresados diferencialmente, la relación de regulación al alza y a la baja varió entre 35/65 y 57/43. Por ejemplo, en comparación con las condiciones control (C100), el tratamiento L700+A mostró una proporción de regulación al alza/a la baja de 45/55, mientras que esta proporción fue de 57/43 al comparar C100 contra L350+A. Estas proporciones observadas difieren significativamente de la hipótesis nula de una proporción 50/50 ( $p < 0.01$  en la prueba binomial), lo que sugiere que la irradiancia juega un papel importante en la respuesta fisiológica a la luz.

Por el contrario, en las comparaciones entre el control (C100) y los tratamientos L700+B y L350+B, las proporciones fueron de 50/50 y 52/48, respectivamente. Estas proporciones no se desvían significativamente de la proporción esperada 50/50 ( $p < 0.01$  en la prueba binomial). En conjunto, estos resultados sugieren que, sin importar las condiciones de irradiancia, la calidad de luz desempeña un papel fundamental en la dirección de la respuesta transcripcional de *S. filiformis* ante la foto estimulación.

Por otro lado, en la Fig. 24, C, se presentan los niveles de expresión normalizados (scores Z) para los genes de las 19 librerías para observar la variación entre las réplicas y sus patrones generales (genes inactivos o activos) en relación con las condiciones lumínicas. Se ha documentado ampliamente que los genes que participan en procesos biológicos comunes se expresan de manera coordinada. Los enfoques de agrupamiento son una estrategia adecuada para identificar grupos de genes expresados coordinadamente.

En este estudio, se realizó un análisis de agrupamiento basado en la distancia euclidiana de perfiles de expresión génica normalizados, lo que permitió identificar ocho grupos principales (Fig. 24, C). El dendrograma vertical agrupa los genes en clústeres según sus patrones de expresión (genes co-

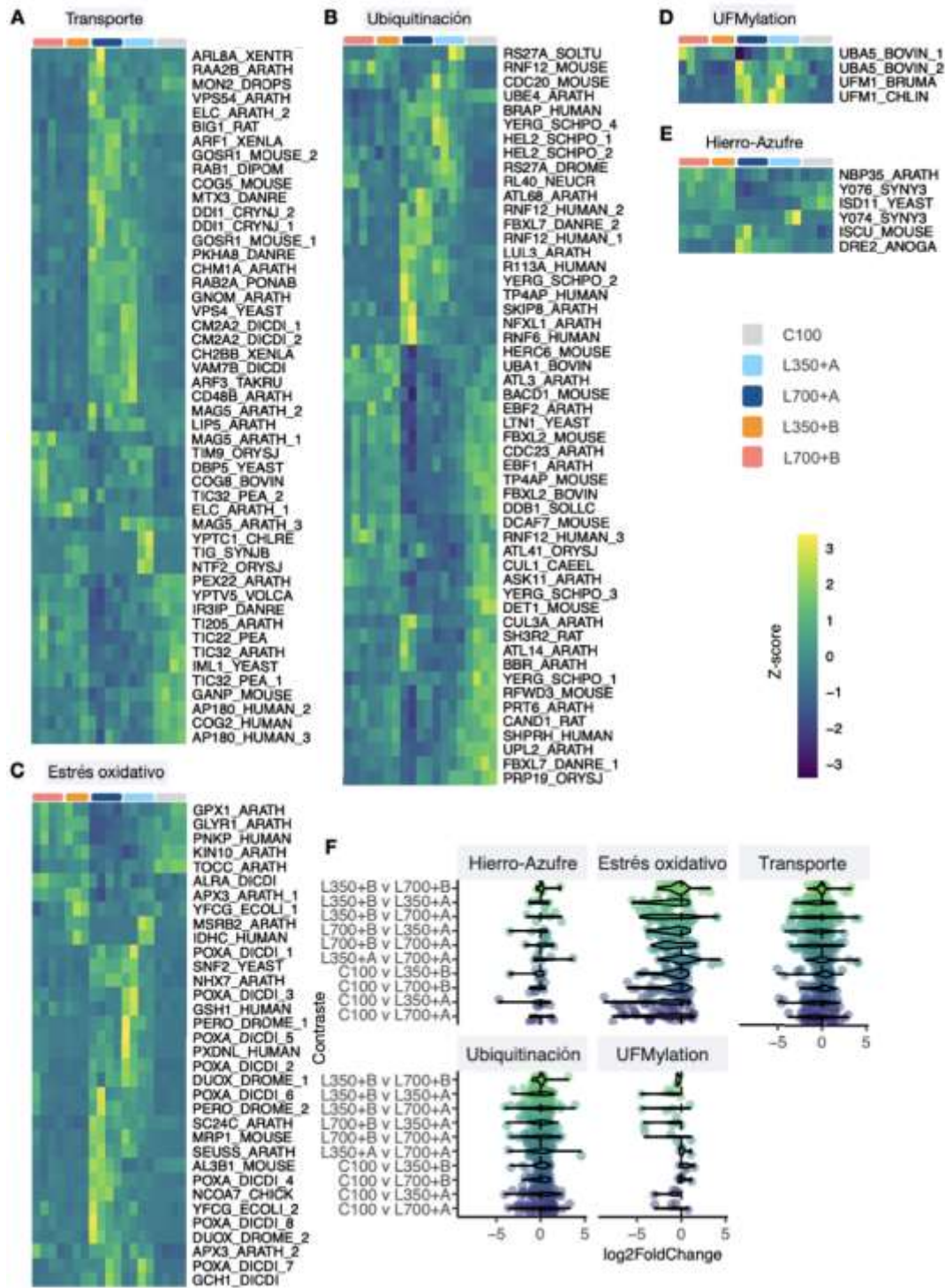
expresados). Se observó una clara homogeneidad en la expresión de los genes entre las réplicas de cada tratamiento. En los dos primeros grupos, las irradiancias media y alta inactivaron la mayoría de los genes en comparación con el control (luz baja). Sin embargo, en los clústeres restantes, los genes se encontraban suprimidos con luz baja, y en los últimos cuatro grupos, la luz azul sobreexpresó al alza el conglomerado de genes. Por otro lado, en el tercer clúster, la adición de luz azul inactivó la mayoría de estos. Es importante destacar que la irradiancia tuvo un efecto significativo en el grupo más abundante, donde la irradiancia media activó los genes, independientemente de la calidad de la luz.

Estos resultados sugieren que la luz azul, sin importar la irradiancia, puede tener tanto efectos de regulación a la baja como al alza en algunos grupos de genes. Por otro lado, en irradiancias altas o medias, la luz blanca tiende a estimular una respuesta de inducción en otros grupos de genes. En conjunto, estos resultados sugieren que la irradiancia y la calidad de la luz juegan roles diferentes, pero quizás complementarios en la fisiología de *S. filiformis*. La irradiancia podría estar influyendo en la magnitud de los cambios de expresión génica, mientras que la calidad de luz modulando la dirección de estos.

### 8.3.2 Funciones biológicas enriquecidas asociadas a la respuesta de los tratamientos lumínicos

Para identificar los procesos biológicos que intervienen en la respuesta fisiológica de *S. filiformis* a las condiciones de luz probadas, se llevó a cabo un análisis de enriquecimiento de conjuntos de genes. En este análisis, se utilizó el catálogo completo de 6090 genes como fondo, y el conjunto de 2621 genes con expresión diferencial como conjunto de prueba. De manera general, el análisis GO permitió clasificar los genes que presentaban enriquecimiento significativo ( $p < 0.1$ ) en cinco nodos (Fig. 25): transporte proteico (GO:0015031), sistema de ubiquitinación (GO:0016567), respuesta a estrés oxidativo (GO:0006979), ruta de UFMylation (GO:0071569) y complejo hierro/azufre (GO:0016226). Estos procesos biológicos tienen una clara asociación con las maquinarias moleculares relacionadas con la fotosíntesis.

Al contrastar los tratamientos experimentales, se observó que los genes relacionados con la UFMylation y los de estrés oxidativo estaban principalmente regulados a la baja, mientras que los del complejo hierro/azufre se encontraban al alza. En particular, la luz azul tuvo un efecto represor en el proceso de UFMylation, el cual es responsable de mediar las modificaciones covalentes en proteínas y



**Figura 25.** Los genes asociados con procesos biológicos enriquecidos en *Solieria filiformis* exhiben patrones de agrupamiento claros. A-E) Se utilizan heatmaps para mostrar los valores de expresión génica normalizados (scores Z) para funciones biológicas específicas. Los genes se agruparon utilizando la distancia euclidiana. Los genes asociados a procesos biológicos modulados por la luz muestran expresión diferencial consistente entre las condiciones lumínicas. F) Se presenta la distribución de los tamaños de los efectos (Log2FC) a través de diagramas de violín y de dispersión horizontal que comparan todas las condiciones de luz.

está íntimamente ligado con las ubiquitinas. Por otro lado, los genes que participan en los procesos de estrés oxidativo se sobreexpresaron con luz alta en comparación con aquellos tratamientos irradiados con luz media. No se observaron cambios significativos en las categorías de transporte y ubiquitinación al comparar las condiciones de luz probadas (Fig. 25, F).

En general, los genes relacionados con los procesos mencionados en cada uno de los tratamientos presentaron patrones de expresión constantes. La Fig. 25, A-E muestra los genes asociados con cada una de las categorías enriquecidas presentadas previamente, su anotación funcional y sus niveles de expresión en cada uno de los tratamientos experimentales. En particular, es importante destacar que el efecto de la luz azul tuvo un impacto significativo en los genes relacionados con el estrés oxidativo y la UFMylation. Los tratamientos con luz azul activaron una mayor cantidad de genes en comparación con el control, donde solo se irradió con luz blanca.

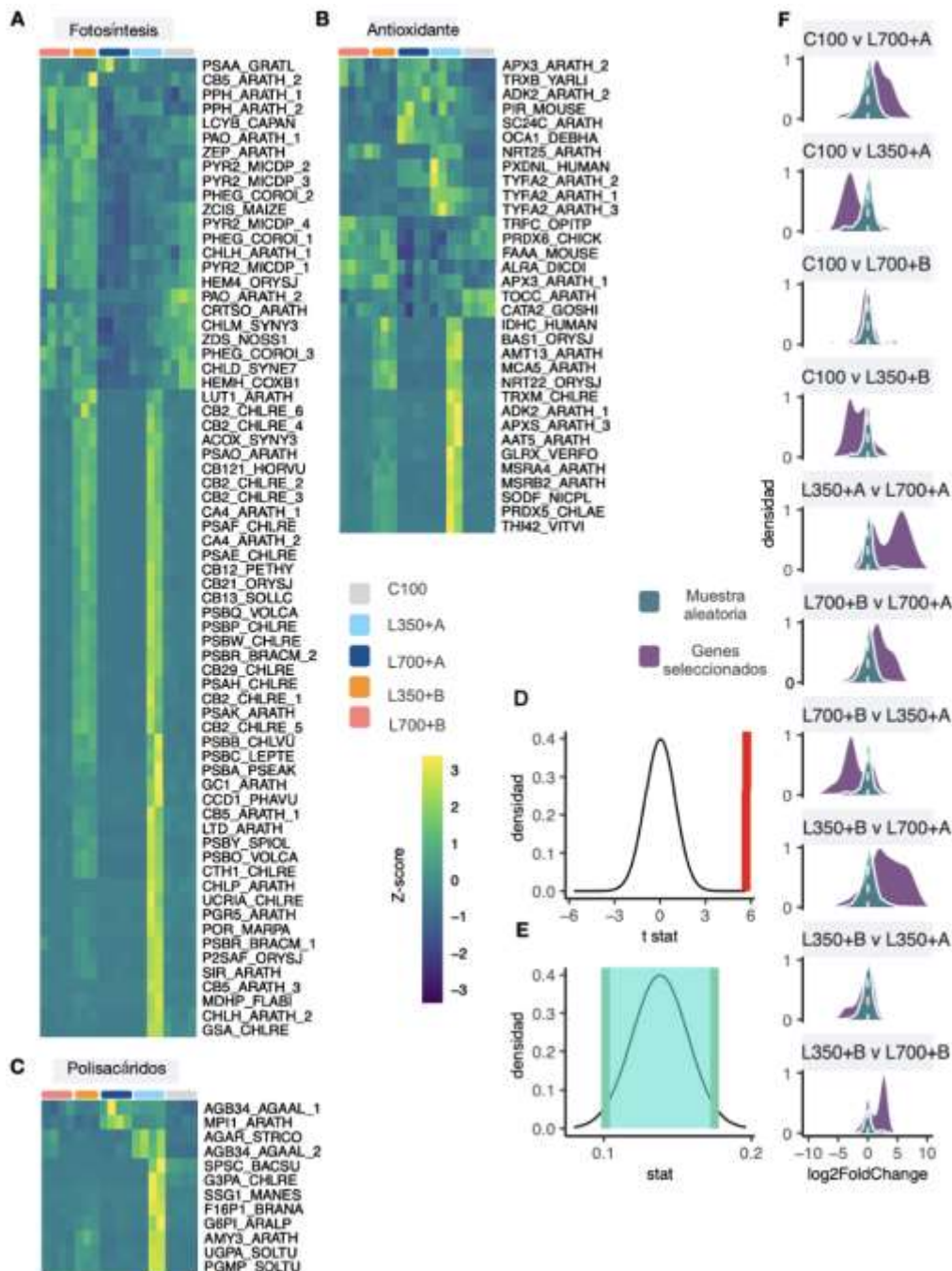
Considerando los datos fisiológicos y metabólicos obtenidos en el Capítulo II y los resultados del análisis transcriptómico, la respuesta de *S. filiformis* a la irradiancia y calidad de luz se puede dividir en tres rubros principales: fotosíntesis, sistema antioxidante y síntesis de polisacáridos. En las siguientes secciones, se describen y detallan los genes significativos que, aunque no mostraron enriquecimiento en el análisis, son relevantes para complementar la información de este trabajo y explicar de manera más robusta el efecto de la luz en la respuesta de *S. filiformis*.

### 8.3.3 Análisis metabólico y transcriptómico general de *S. filiformis* en respuesta a los tratamientos lumínicos

En los diagramas de densidad de los 10 contrastes (Fig. 26, F), se compararon las distribuciones de estimaciones del  $\log_2FC$  entre los genes seleccionados (fotosíntesis, antioxidante, polisacáridos) y los aleatorios. Se observó una clara tendencia entre los contrastes, y es importante mencionar que la muestra aleatoria de genes no presentó una expresión diferencial significativa, mientras que el set de genes relevantes para el estudio sí presentó. La modulación principal de esta expresión diferencial fue por la irradiancia en la mayoría de los contrastes. Los tratamientos con irradiancia media (L350) tendieron a inducir los genes relevantes, mientras que las irradiancias altas (L700) reprimieron la mayoría de los genes en comparación con el resto de los tratamientos.

La segunda variable que indujo la mayor parte de los genes según los contrastes fue la calidad de luz azul, por lo que de manera general el tratamiento que expuso al alza la mayor cantidad de los genes seleccionados fue L350+A y el que reprimió la mayor cantidad fue L700+A. Por otro lado, los gráficos de densidad para el contraste C100 v L700+A (Fig. 26, D-E) mostraron que el grupo





**Figura 26.** Los genes anotados con función específica muestran una clara respuesta de *Solieria filiformis* a la irradiancia y calidad de luz. A-C) Heatmaps muestran los valores normalizados de la expresión (scores Z) en todos los tratamientos de luz. D-E) Gráficos de densidad que representan la distribución teórica de la puntuación “t” ( $\mu = 0.0309$ ) y el intervalo de confianza de 0.95 para todos los genes expresados en el transcriptoma de *S. filiformis* (C100 v L750+A), respectivamente. La línea roja muestra la puntuación “t” observada, lo que sugiere una clara desviación del grupo seleccionado de genes respecto a la media esperada. F) Diagramas de densidad que representan las distribuciones del tamaño del efecto tanto para una muestra aleatoria como para el conjunto seleccionado de genes en cada una de las diez comparaciones entre los tratamientos de luz.



seleccionado de genes presentó aleatoriedad, ya que presentó una clara desviación con respecto a la media esperada o teórica. Por lo tanto, se puede afirmar que el set de genes seleccionados tiende a presentar expresión diferencial como respuesta a las condiciones lumínicas probadas, y que el grupo de genes relevantes tiene un comportamiento distinto al resto del transcriptoma.

### 8.3.4 Respuesta fotosintética a la irradiancia y la calidad de luz

El análisis transcriptómico permitió identificar los genes relacionados con la fotosíntesis, incluyendo las proteínas asociadas con los fotosistemas, los complejos de absorción y los pigmentos, los cuales desempeñan un papel fundamental en los procesos fisiológicos de las algas. En la Fig. 26, A se pueden observar los resultados del análisis, donde la mayoría de los genes que participan en las rutas fotosintéticas se encontraron significativamente regulados al alza en irradiancias medias (L350). Estos genes están directamente relacionados con el PSII, como el gen *psbA* que codifica la proteína D1 del fotosistema II, la proteína del centro de reacción del fotosistema II CP47 (*psbB*), CP43 (*psbC*), el complejo de proteínas del núcleo del PSII, entre otros (Apéndice 5).

En cuanto al fotosistema I (PSI, por sus siglas en inglés), solo se identificaron seis genes, de los cuales el gen *psaA* se encontró marcadamente regulado al alza en L700+A. Además, el gen *PGR5* y los genes que median la transferencia de energía y electrones entre los fotosistemas, como la subunidad de hierro-azufre del complejo citocromo *b6-f* (*petC*) y la subunidad O del fotosistema I (*psaO*), se encontraron todos regulados al alza en L350+A, solo este último también fue inducido con L350+B. El gen *psbP* que codifica para la proteína 2 del potenciador de la evolución del oxígeno se encontró marcadamente inducido en L350+A al contrastar con el resto de los tratamientos.

El segundo grupo más grande de genes identificados está relacionado con el complejo de recolección de luz (LHC, por sus siglas en inglés), el cual es responsable de la transferencia de energía y los procesos de fotoprotección que son regulados por las condiciones de luz. Dentro de este grupo, se encontró el gen que codifica la proteína 4 de unión clorofila *a-b* (*LHCA4*), el cual se observó regulado al alza en condiciones de irradiancia media (L350). Además, se encontraron otros genes que codifican proteínas de unión clorofila *a-b* (*LHCI*, *LHCA1*, *LHB4*, *CABLL-1*, *CAB1R*, *CAB8*) y la proteína LHCP de translocación de defectos (*LTD*), todos regulada al alza en irradiancia media, principalmente para L350+A. Estos genes son los encargados de regular la acumulación de pigmentos en las plantas.

Con respecto al transporte de electrones, se identificó el gen *cpeD*, el cual se encontró notablemente inducido en L700+B, solo reprimido al adicionar luz azul, pero en alta irradiancia (L700+A), y se traduce en el polipéptido conector de 27,9 kDa de la proteína ficobilisoma asociada a la ficoeritrina. El mismo efecto se observó con el gen *PHEG* también relacionado con la síntesis de este pigmento.

En relación con la síntesis de clorofila, se encontraron varios genes significativamente regulados al alza en L350+A, incluyendo *chlH*, que está relacionado con la subunidad de la proteína magnesio-quelatasa, y *chlP*, que también participa en la síntesis de tocoferoles. Además, se identificó otro gen, *porA*, que codifica para la protoclorofilida reductasa y fue sobre inducido en el tratamiento previamente mencionado. El gen *PAO*, que participa en el catabolismo de la clorofila (feofórbido a oxigenasa), fue significativamente inducido en irradiancia baja y media.

Asimismo, se encontraron los genes *GSA*, que produce glutamato-1-semialdehído 2,1-aminomutasa, y *CTH1*, que traduce a la magnesio-protoporfirina IX monometil éster [oxidativo] ciclasa 2, siendo activados marcadamente en L350+A. Ocho genes relacionados con la biosíntesis de carotenoides, entre los que se encuentran *ACO* y *CCD1* expresados al alza en irradiancia media, *ZCIS* inducido en L700+B y *crtQ* en los tratamientos con luz blanca. El resto, que codifican para licopeno y zeaxantina, se encontraron marcadamente inducidos con luz blanca (Apéndice 5).

### 8.3.5 Respuesta antioxidante a la irradiancia y la calidad de luz

*Solieria filiformis* es capaz de sintetizar compuestos biológicos para enfrentar el estrés oxidativo en los procesos fotosintéticos causados por condiciones de alta irradiancia. Los resultados del análisis transcriptómico (Fig. 26, B) indican que el tratamiento L350+A indujo significativamente genes que sintetizan metabolitos encargados de eliminar los peróxidos de hidrógeno, como la L-ascorbato peroxidasa S y 3 (*APXS*, *APX3*). Además, se identificaron otros genes relacionados con metabolitos como la tiorredoxina tipo M (*trxM*) y la superóxido dismutasa (*SODB*), los cuales son responsables de la eliminación de los radicales superóxido y la transferencia de electrones (Apéndice 6). También se encontró la peroxiredoxina-5 (*PRDX5*), que se encarga de reducir la actividad de la peroxidasa. Estos tres genes se encontraron inducidos al alza en L350+A.

Finalmente, se identificaron otros genes, que colaboran con la eliminación de radicales libres y cuentan con una potente actividad antioxidante como la metacaspasa-5 (*AMC5*), la péptido metionina

sulfóxido reductasa A4 (MSR4) y la 2-Cys peroxirredoxina (BAS1) inducidos con luz media (L350); además de la tirosina-proteína fosfatasa (OCA1) y la pirina (Pir) marcadamente al alza en L700+A.

Aunque no se encontraron genes directamente implicados en la síntesis de aminoácidos tipo micosporina, se identificaron ocho genes relacionados con el transporte de nitrógeno a nivel celular (Apéndice 6). Estos genes incluyen el NRT2.2, que codifica para el transportador de nitrato de alta afinidad 2.2, ASP5, que es responsable de la aspartato aminotransferasa, y AMT1-3, que está relacionado con la sección 3 del transportador de amonio 1. Se observó una regulación al alza de todos estos genes en irradiancia media, mientras que el gen NRT2.5 se encontró inducido en L350+A y L700+B.

### 8.3.6 Modulación de la síntesis de polisacáridos por la irradiancia y la calidad de luz

La mayoría de los genes relacionados con la síntesis de carbohidratos y polisacáridos se encontraron regulados a la baja en la mayoría de los tratamientos, excepto en L350+A donde se observaron significativamente inducidos (Fig. 26, C). Por ejemplo, se identificaron genes como PGMP, GBSS, AMY3 y agaB34 (L700+A), que codifican para la fosfoglucomutasa, la almidón sintasa 1 unida a gránulos, la alfa-amilasa 3 y la beta-agarasa, respectivamente, de los cuales solo este último mostró una inducción marcada por la luz azul (Apéndice 7). Además, el gen dagA, relacionado con la actividad de la beta-agarasa y la UDP-glucosa pirofosforilasa (UGP) que actúa como donante de glucosilo, también se encontraron sobre inducidos en L350+A.

Por otro lado, se identificaron tres genes que codifican para la glucosa-6-fosfato isomerasa (GPIC), la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa A (GAPA), y la fructosa-1,6-bisfosfatasa (FBP). Además, se encontró que el gen spsC, relacionado con la proteína de biosíntesis de polisacáridos, estaba inducido en condiciones de irradiancia baja (C100) y media (L350).

## 8.4 Discusión

Hasta el momento, la investigación sobre la respuesta transcriptómica de algas rojas a diferentes condiciones de luz se ha limitado a un número reducido de especies. Por lo tanto, la creación de un ensamblaje del transcriptoma y un catálogo de expresión génica de *Solieria filiformis* representa un recurso valioso que podría mejorar y acelerar el estudio de los mecanismos fisiológicos y moleculares de esta alga en respuesta a las distintas condiciones de luz. Con base al análisis de enriquecimiento, se pudieron clasificar los procesos más importantes según la expresión de los genes que participan en

ellos. Uno de los grupos con mayor número de genes se relaciona con el transporte, que abarca el movimiento de nutrientes, agua, sales, gases y otros compuestos dentro de la célula y entre células. Se observó una tendencia similar en un estudio previo sobre *Pyropia haitanensis*, en el que la mayoría de los genes estaban relacionados con el movimiento de carbohidratos, coenzimas, metabolitos y aminoácidos (Xie et al., 2013).

El transporte puede verse afectado por factores ambientales como la luz y la disponibilidad de nutrientes en el medio. Por ejemplo, la luz puede regular la expresión de los transportadores de nutrientes en la célula al actuar como una señal para la fotosíntesis, lo que afecta la absorción y transporte de nutrientes. Además, la luz también puede influir en la distribución de pigmentos fotosintéticos y proteínas asociadas a la membrana celular, lo que a su vez puede influir en el transporte de iones y moléculas a través de la membrana.

La irradiancia también afecta el transporte de electrones y la producción de adenosín trifosfato (ATP, por sus siglas en inglés) en la cadena de transporte de electrones, lo que influye en la capacidad de las algas para generar energía a partir de la fotosíntesis (Carrillo y Vallejos, 1983). La exposición a ciertos tipos de luz puede estimular la producción de compuestos bioactivos en algunas algas, como es el caso de *S. filiformis*. En este trabajo se observó que la exposición a luz azul alta (L700+A) indujo un grupo significativo de genes relacionados con procesos de transporte, seguido del tratamiento L700+B. Esto sugiere que las altas irradiancias activaron la maquinaria de transporte de iones en *S. filiformis*, lo que implica un gasto energético para equilibrar los fotosistemas y lidiar con las condiciones lumínicas.

Además, *S. filiformis* presentó los valores más bajos de  $F_v/F_m$  en condiciones de irradiancia alta, lo que sugiere que necesitó activar ciertos mecanismos relacionados con el transporte para lidiar con dicha condición. Es importante destacar que los talos utilizados fueron cosechados de tanques al aire libre expuestos a condiciones lumínicas variables y que la cepa utilizada no estaba adherida a un sustrato, lo que podría haber contribuido a su capacidad para sobrevivir en irradiancias altas. Otro de los grupos con mayor número de genes se relaciona con el estrés oxidativo, pero se hablará de él más adelante en esta sección debido a su importancia para este trabajo y su relación con los metabolitos evaluados.

El siguiente grupo está asociado con el proceso de ubiquitinación, el cual está ligado a otro proceso llamado UFMylation que también mostró relevancia en el análisis. La ubiquitinación es un proceso crucial en el cual las proteínas son etiquetadas con moléculas de ubiquitina, marcándolas para su degradación o reciclaje. En las algas y plantas superiores, este proceso es importante para regular la

respuesta a la fotosíntesis, el estrés, la diferenciación celular, la homeostasis proteica y el crecimiento (Hoecker, 2017; Kim et al., 2017; Gabilly et al., 2019; Tokutsu et al., 2019). Se ha demostrado que la ubiquitinación es necesaria para la reparación del daño del DNA después de la exposición a la radiación UV y la luz azul. Además, la exposición a la luz puede activar o desactivar enzimas específicas involucradas en la ubiquitinación, afectando la estabilidad y función de las proteínas celulares (Zhang et al., 2015; Xu y Xue, 2019; Ponnu, 2020).

Los resultados de este trabajo sugieren que las irradiancias altas (L700) y medias (L350) reprimieron la mayoría de los genes involucrados en el proceso de ubiquitinación, mientras que solo se observó su activación en el control (C100). Esto podría indicar un estrés oxidativo significativo en irradiancias por encima de los  $350 \mu\text{mol fotones m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ , lo que podría resultar en un desequilibrio en el metabolismo proteico. Para corroborar esta hipótesis, sería necesario medir los metabolitos relacionados con la capacidad antioxidante, sin embargo, como se describe más adelante los genes que participan en su síntesis fueron identificados en este análisis y mostraron expresión diferencial.

La UFMylation es un proceso similar a la ubiquitinación, pero implica la adición de una sola ubiquitina (UFM1), sugiriendo una función específica. En las plantas, la UFMylation es importante en la regulación de la fotosíntesis y la adaptación al ambiente (Wei y Xu, 2016; Banerjee et al., 2020). Aunque aún se están investigando los detalles exactos de este proceso en estos organismos, se sabe que la UFMylation está influenciada por la luz ya que se lleva a cabo en los cloroplastos. La exposición a diferentes longitudes de onda de la luz puede afectar la actividad de la enzima UFM1 ligasa y, por lo tanto, la UFMylation (Habisov et al., 2016). En este trabajo, se observó que la luz azul tuvo un efecto significativo en la inducción de dos genes que codifican para la UFM1 ligasa.

En cuanto a los genes relacionados con el complejo hierro/azufre, se identificaron seis que resultaron significativos en este estudio. Sin embargo, en la mayoría de los tratamientos, estos genes estaban ligeramente inducidos, excepto en L350+B y L700+B donde se encontraban marcadamente al alza. Los complejos hierro-azufre son parte fundamental de los centros de reacción de la fotosíntesis. Estos centros contienen clústeres de hierro y azufre que actúan como cofactores y permiten a las proteínas realizar sus funciones y absorber la energía luminosa necesaria para la fotosíntesis. Además, son esenciales para la transferencia eficiente de electrones y la producción de energía. Una exposición excesiva a la irradiancia puede tener efectos negativos en los complejos hierro-azufre y por ende en los procesos fotosintéticos. También tienen otras funciones importantes en las algas, como la regulación del metabolismo y la respuesta al estrés (Sandmann y Malkin, 1983; Kim y Jung, 1992; Balk y Pilon, 2011).

### 8.4.1 Efecto de las condiciones de luz en el aparato fotosintético y los pigmentos

Los pigmentos son fundamentales en los procesos de fotosíntesis, ya que intervienen en la transferencia energética y en la protección de las macroalgas cuando la irradiancia es demasiado alta. En este estudio, se observó que la síntesis de clorofila *a* fue mayor en los tratamientos con luz blanca, lo que se correlacionó con valores de fotosíntesis máxima superiores al exponer a *S. filiformis* a irradiancias altas. Sin embargo, se observó una expresión marcadamente a la baja de chlH, chlP y GSA, genes que participan en la biosíntesis de Chl *a* en los tratamientos con irradiancias altas. Esto podría explicarse, debido a la necesidad de sintetizar mayor cantidad de Chl *a* en condiciones de irradiancia media. Por el contrario, un estudio con *Gracilariopsis* reportó que los genes CHL eran inducidos con luz blanca (Zhang et al., 2022).

Además, se encontró que la mayoría de los genes relacionados con los complejos de absorción de energía (LHCl, LHCA1, LHCB4, LHCB5) se expresaron marcadamente al alza en condiciones de irradiancia media (L350+A, L350+B), lo que sugiere que *S. filiformis* fue más eficiente en la absorción energética bajo estas condiciones independientemente de la calidad de luz. Aunado a lo anterior, en condiciones de irradiancia media y luz blanca la mayoría de los genes relacionados con los carotenoides se encontraron significativamente al alza, los que concuerda con el tratamiento que generó la mayor concentración de carotenoides en el presente estudio (L350+B). Un estudio con *Macrocystis pyrifera* también mostró una inducción de los genes relacionados con los complejos de absorción (LHC) en organismos expuestos a irradiancias similares a las del diseño experimental utilizado (Konotchick et al., 2013).

La proteína potenciadora de evolución de oxígeno 2 (OEE2) es una proteína esencial en el proceso de fotosíntesis en las algas, ya que forma parte del complejo proteico del fotosistema II (PSII), que es el responsable de la oxidación del agua y la producción de oxígeno. Se ha demostrado que la OEE2 tiene una función importante en la protección del PSII contra daños oxidativos y en la regulación de la eficiencia fotosintética en condiciones de luz excesiva (Mayfield et al., 1987). La exposición a la luz azul induce la expresión de genes (psb) que codifican para OEE2 en algunas plantas superiores (Lopez-Juez y Hughes, 1995). Los resultados de este trabajo mostraron una marcada expresión al alza del gen psbP y del grupo que codifica a esta proteína en condiciones de luz azul e irradiancia media.

Por otro lado, se observó que el gen psbA, el cual codifica a la proteína D1 responsable de recibir la energía de excitación y formar el núcleo de reacción del PSII (Edelman y Mattoo, 2008), se

encontraba también inducido en el tratamiento L350+A. Zhang et al. (2022) reportaron un resultado similar en el alga roja *Gracilariopsis lemaneiformis* al adicionar luz azul. Esto sugiere que *S. filiformis* tuvo la capacidad de procesar efectivamente la irradiancia media suplementada. Además, fue en esta condición (L350) donde la mayoría de los genes relacionados con la fotosíntesis se encontraban inducidos. Por otro lado, Heinrich et al. (2015) sugieren que la exposición a radiación UV tiene mayor efecto en la expresión génica que la irradiancia media-alta, sin embargo, en este experimento no se suministró luz UV.

Algo similar sucedió con el gen *porA* que estuvo sobreexpresado en L350+A. Este gen codifica a la protoclorofilida reductasa (POR), una enzima que cataliza la reducción de protoclorofilida, un precursor de la clorofila, a clorofilida mediante la transferencia de electrones desde la ferredoxina a través del complejo ferredoxina-POR. En particular, la POR juega un papel importante en la fotoprotección, la fotoinhibición y la recuperación de la fotosíntesis posterior a una condición estresante (Heyes y Hunter, 2005). En condiciones de irradiancia media-alta, se ha observado un aumento en la expresión y la actividad de la POR en plantas superiores, lo que sugiere que juega un papel importante en la adaptación a irradiancias elevadas (Maplestone y Griffiths, 1980).

#### 8.4.2 Efecto de las condiciones de luz en el sistema antioxidante

Se observó que la luz azul afectó significativamente la expresión de genes relacionados con procesos antioxidantes, como MSBR2 y SEC24C. El gen VTE1, que protege los complejos fotosintéticos y participa en la síntesis de tocoferoles, ha sido reportado previamente como activado por altas irradiancias en plantas terrestres (Dłuzewska et al., 2015; Kumar et al., 2020). Sin embargo, en este experimento, se observó que VTE1 estaba sobreexpresado en condiciones de baja luz (C100). De manera similar, se encontró que el gen MSBR2, que se ha reportado que se estimula con luz alta (Dos Santos et al., 2005), estaba activado en condiciones de irradiancia media (L350) en este análisis.

Aunado a lo anterior, algunos genes encargados de la destrucción de radicales superóxido también fueron modulados por la luz azul, como PXDNL, aunque sólo algunos de ellos se encontraron sobreexpresados. Este gen se encontró marcadamente inducido en los tratamientos con luz azul, al igual que TRR1 y OCA1. Estos genes codifican proteínas involucradas en la regulación del estado de oxidación de proteínas, en mantener un equilibrio redox adecuado dentro de la célula, en procesos de protección antioxidantes, eliminación de peróxidos orgánicos y respuesta al estrés ambiental (Gelhaye et al., 2005; Ambruso, 2013; Lee et al., 2020; Bheri et al., 2021). El hecho de que estos genes se

encontraran sobreexpresados en luz azul sugiere que estas condiciones pudieran ser estresantes para *S. filiformis*. Además, los porcentajes de la capacidad antioxidante del extracto metanólico fueron mayores en luz azul. En general, la irradiancia media (L350) indujo la mayor cantidad de genes del sistema antioxidante.

Se ha demostrado que las especies reactivas de oxígeno pueden influir en la expresión de genes y la síntesis de ciertos metabolitos (Ramel et al., 2012; Dietzel et al., 2015; L. Wang et al., 2016). La luz azul tuvo un impacto significativo en la actividad antioxidante de los extractos metanólicos y de buffer de fosfatos, aumentando y disminuyendo en irradiancias altas, respectivamente. Además, los genes relacionados con el transporte de nitrógeno y el metabolismo energético, que están involucrados en la síntesis de micosporinas, fueron modulados por la calidad de luz en los tratamientos con irradiancia media (L350). Estos genes se suprimieron en irradiancias altas (L700) y se activaron en las medias, lo que coincide con la síntesis de micosporinas observada en este estudio. En particular, se observó un aumento en la cantidad de shinorine y palythine en el tratamiento L350+B.

#### 8.4.3 Efecto de las condiciones de luz en la producción de carragenato

En este estudio, se encontró que el contenido de carragenato de *S. filiformis* disminuyó en L350+A, mientras que en la irradiancia alta se observó un incremento al adicionar luz azul. Estos resultados no correspondieron con los hallazgos del análisis transcriptómico, que mostraron una regulación al alza de genes relacionados con la síntesis de polisacáridos en el tratamiento L350+A. Por ejemplo, los genes PGMP y GBSS, que regulan la síntesis de glucosa y amilosa respectivamente, se encontraban sobre inducidos en este tratamiento. El gen *spsC* se encontraba también regulado al alza en condiciones de irradiancia media, el cual juega un papel importante en la síntesis de polisacáridos (Charnock y Davies, 1999; Knurr et al., 2003).

La irradiancia alta con luz azul (L700+A) estimuló la inducción de solo dos genes que están relacionados con la síntesis de polisacáridos. Uno es *agaB34* que se encarga de la síntesis de beta agarasa y el otro *PMI1* que regula el proceso de la manosa-6-fosfato. Esta enzima cataliza la conversión de la manosa-6-fosfato a la fructosa-6-fosfato, que es un intermediario clave en la vía metabólica de la síntesis de polisacáridos. Se ha observado que la actividad de la *MPI1* aumentó en talos de *Macrocystis pyrifera* que habitan a 10 m de profundidad donde predomina la calidad de luz azul, lo que sugiere que la síntesis de manosa puede estar regulada por la disponibilidad de ciertas longitudes de onda (Loescher



et al., 1992; Paul et al., 2020). Además, se ha demostrado que la luz tiene un efecto importante en la regulación de GAPA (Li et al., 1997), este patrón fue observado en los resultados con *S. filiformis*.

La alta irradiancia puede generar especies reactivas de oxígeno (ROS) y fotoinhibición, lo que podría llevar a la optimización de la síntesis de polisacáridos (Torres et al., 1991; Han et al., 2015). Esta condición en conjunto con la luz azul (L700+A) promovió la síntesis de carragenato en *S. filiformis*. No obstante, la supresión notoria de genes involucrados en la síntesis de polisacáridos en irradiancias altas y la alta producción de carragenato en la irradiancia baja (C100) sugieren que *S. filiformis* pudo haber carecido de la habilidad para enfrentar el estrés lumínico y, en cambio, haber asignado sus recursos energéticos a optimizar la fotosíntesis y almacenar almidón (Freile-Pelegrín y Robledo, 2006).

Es importante destacar que la irradiancia alta suprimió genes relacionados con el transporte y asimilación del nitrógeno y el metabolismo energético, lo que podría provocar una deficiencia de nitrógeno. Se ha demostrado que una deficiencia de nitrógeno puede estimular la síntesis de polisacáridos (Hsieh et al., 2006). Sin embargo, en este experimento, no se observó una disminución del nitrógeno en el tejido algal de *S. filiformis*.

## 8.5 Conclusiones

Los análisis metabólicos y transcriptómicos combinados permitieron entender cómo las condiciones de luz afectan a los genes implicados en los procesos fotosintéticos, antioxidantes y la síntesis de polisacáridos en *S. filiformis*. Es importante destacar que los genes seleccionados para el análisis presentado en este trabajo se basan en estudios previos con una anotación funcional conocida, y muchos de ellos mostraron una inducción o represión significativa bajo las condiciones probadas.

- La irradiancia media en ambas calidades de luz (L350+B y L350+A) indujo genes importantes para la fotosíntesis, producción de pigmentos y el sistema antioxidante.
- El tratamiento L350+A indujo la mayoría de los genes que participan en la síntesis de carragenato.
- La irradiancia alta tuvo un efecto represor o inducción baja en el set de genes seleccionados, excepto en dos genes implicados en la producción de polisacáridos y un grupo importante en la fotosíntesis.
- L700+A y C100 (control) fueron los tratamientos que tuvieron más genes expresados a la baja.

- Estos hallazgos sugieren que la irradiancia y la calidad de luz podrían desempeñar roles diferentes, pero complementarios en la fisiología de *S. filiformis*, la primera probablemente mediando la magnitud y la segunda la dirección de los cambios de expresión génica.
- Los datos de  $F_v/F_m$ ,  $F_{max}$ , Chl *a*, actividad antioxidante del extracto metanólico y síntesis de shinorine y palythine mostraron una relación importante con lo observado en el análisis transcriptómico.
- Los resultados de este trabajo podrían ayudar a comprender como *S. filiformis* se adapta a diferentes condiciones de luz y pueden ser útiles para su cultivo y aprovechamiento.
- Para un análisis más detallado, se recomienda agrupar los genes por rutas metabólicas para observar posibles inducciones o represiones en cascada.

## 9. CONCLUSIÓN GENERAL

El crecimiento, la respuesta fotosintética, el perfil de pigmentos, la síntesis de compuestos bioactivos y la actividad antioxidante de los extractos de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis* son modulados por las condiciones de irradiancia y calidad de luz. Ambas especies mostraron un crecimiento significativo a irradiancia baja y con adición de luz azul, lo que está relacionado con las condiciones donde generalmente habitan. No obstante, *S. filiformis* presentó mayores tasas de crecimiento, cantidad de pigmentos y valores de fotosíntesis máxima que *G. cornea*. Lo anterior, podría estar relacionado con la capacidad de aclimatación observada en los cultivos de *S. filiformis* y sugiere una alta plasticidad para sobrevivir en condiciones que podrían ser estresantes para otras especies similares.

Este trabajo presentó la primera caracterización de MAAs en *S. filiformis* que, a pesar de ser un alga bentónica, sin exposición a desecación o alta irradiancia, puede sintetizar estos metabolitos bajo las condiciones experimentales utilizadas en este trabajo. Estos compuestos están considerados como los antioxidantes más potentes en la naturaleza. Adicionalmente, se probó la factibilidad de modular la actividad antioxidante de *G. cornea* y *S. filiformis* en cultivos controlados. Lo anterior permite considerar a estas especies como candidatas para un cultivo a mayor escala.

*S. filiformis* muestra características y atributos de organismo modelo entre las especies de algas tropicales, ya que tiene una amplia resistencia a factores abióticos, por lo que podría ser utilizada en futuros estudios para optimizar su potencial uso en la industria nutracéutica. Este trabajo sugiere una estrategia de cultivo bajo condiciones idóneas para la generación de biomasa que promueve la síntesis de polifenoles, polisacáridos y pigmentos.

Esta investigación utilizó los análisis metabólicos y transcriptómicos combinados como una herramienta para entender cómo las condiciones de luz afectan la expresión génica y, por lo tanto, los procesos fisiológicos en *S. filiformis*. Lo anterior, permitió identificar genes importantes que se ven afectados por diferentes condiciones de luz, lo que sugiere que la irradiancia y la calidad de la luz desempeñan roles diferentes pero complementarios en la fisiología de esta alga.

1. *G. cornea* y *S. filiformis* ajustaron su crecimiento, su perfil de pigmentos y su actividad antioxidante bajo las condiciones de calidad de luz experimentales. La luz azul optimizó el crecimiento y la síntesis de ficobiliproteínas en *S. filiformis*, y la capacidad antioxidante en *G. cornea*. Mientras que, la luz blanca aumentó el contenido de carotenoides, además de la

producción de micosporinas y polisacáridos en *S. filiformis* y la luz verde la clorofila *a* en ambas especies.

2. Las altas intensidades de luz optimizaron la respuesta fotosintética y la capacidad antioxidante en los extractos de *S. filiformis* mientras que las irradiancias intermedias promovieron la producción de pigmentos en ambas especies y la actividad fotosintética y antioxidante de *G. cornea*. En *S. filiformis* la luz baja indujo la síntesis de micosporinas y carragenato.
3. Los cambios en la expresión génica observados y los genes relevantes identificados en este estudio son una valiosa contribución al conocimiento de los mecanismos que regulan la fisiología de *S. filiformis* en respuesta a diferentes condiciones de luz. Esta información puede ser de gran utilidad para el cultivo y la aplicación biotecnológica de esta alga.

## 10. LITERATURA CITADA

- Abdala-Díaz, R. T., Cabello-Pasini, A., Pérez-Rodríguez, E., Conde Álvarez, R. M. y Figueroa, F. L. (2006). Daily and seasonal variations of optimum quantum yield and phenolic compounds in *Cystoseira tamariscifolia* (Phaeophyta). *Marine Biology*, 148, 459–465. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0102-6>
- Alexa, A., Rahnenführer, J. y Lengauer, T. (2006). Improved scoring of functional groups from gene expression data by decorrelating GO graph structure. *Bioinformatics*, 22(13), 1600–1607. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTL140>
- Ali Anvar, S. A. y Nowruzi, B. (2021). A Review of Phycobiliproteins of Cyanobacteria: Structure, Function and Industrial Applications in Food and Pharmaceutical Industries. *Research and Innovation in Food Science and Technology*, 10(2), 181–198. <https://doi.org/10.22101/JRIFST.2021.288378.1247>
- Altschul, S. F., Madden, T. L., Schäffer, A. A., Zhang, J., Zhang, Z., Miller, W. y Lipman, D. J. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Research*, 25(17), 3389–3402. <https://doi.org/10.1093/NAR/25.17.3389>
- Álvarez-Gómez, F., Bouzon, Z. L., Korbee, N., Celis-Plá, P., Schmidt, C. y Figueroa, F. L. (2017). Combined effects of UVR and nutrients on cell ultrastructure, photosynthesis and biochemistry in *Gracilariopsis longissima* (Gracilariales, Rhodophyta). *Algal Research*, 26, 190–202. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2017.07.022>
- Álvarez-Gómez, F., Korbee, N., Casas-Arrojo, V., Abdala-Díaz, R. T. y Figueroa, F. L. (2019). UV Photoprotection, Cytotoxicity and Immunology Capacity of Red Algae Extracts. *Molecules*, 24(341), 1–16. <https://doi.org/10.3390/molecules24020341>
- Álvarez-Gómez, F., Korbee, N. y Figueroa, F. L. (2019). Effects of UV radiation on photosynthesis, antioxidant capacity and the accumulation of bioactive compounds in *Gracilariopsis longissima*, *Hydropuntia cornea* and *Halopithys incurva* (Rhodophyta). *Journal of Phycology*, 55, 1258–1273. <https://doi.org/10.1111/jpy.12899>
- Ambruso, D. R. (2013). Peroxiredoxin-6 and NADPH Oxidase Activity. *Methods in Enzymology*, 527, 145–167. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405882-8.00008-8>
- Andersson, M., Schubert, H., Pedersén, M. y Snoeijs, P. (2006). Different patterns of carotenoid composition and photosynthesis acclimation in two tropical red algae. *Marine Biology*, 149(3), 653–665. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0174-3>
- Araújo, I. W. F. de, Rodrigues, J. A. G., Vanderlei, E. D. S. O., de Paula, G. A., Lima, T. D. B. y Benevides, N. M. B. (2012). Iota-carrageenans from *Solieria filiformis* (Rhodophyta) and their effects in the inflammation and coagulation. *Acta Scientiarum. Technology*, 34(2), 127–135. <https://doi.org/10.4025/actascitechnol.v34i2.11201>
- Araújo, I. W. F. de, Vanderlei, E. D. S. O., Rodrigues, J. A. G., Coura, C. O., Quinderé, A. L. G., Fontes, B. P., de Queiroz, I. N. L., Jorge, R. J. B., Bezerra, M. M., Rodrigues E Silva, A. A., Chaves, H. V., Monteiro, H. S. A., de Paula, R. C. M. y Benevides, N. M. B. (2011). Effects of a sulfated polysaccharide isolated from the red seaweed *Solieria filiformis* on models of nociception and inflammation. *Carbohydrate Polymers*, 86(3), 1207–1215. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2011.06.016>
- Arnao, M. B., Cano, A. y Acosta, M. (2001). Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section The hydrophilic and lipophilic contribution to total antioxidant activity. *Food Chemistry*, 73(2), 239–244.
- Balk, J. y Pilon, M. (2011). Ancient and essential: the assembly of iron–sulfur clusters in plants. *Trends in Plant Science*, 16(4), 218–226. <https://doi.org/10.1016/J.TPLANTS.2010.12.006>

- Banerjee, S., Kumar, M. y Wiener, R. (2020). Decrypting UFMylation: How Proteins Are Modified with UFM1. *Biomolecules*, *10*(1442), 1–14. <https://doi.org/10.3390/biom10101442>
- Barceló-Villalobos, M., Figueroa, F. L., Korbee, N., Álvarez-Gómez, F. y Abreu, M. H. (2017). Production of Mycosporine-Like Amino Acids from *Gracilaria vermiculophylla* (Rhodophyta) Cultured Through One Year in an Integrated Multi-trophic Aquaculture (IMTA) System. *Marine Biotechnology*, *19*(3), 246–254. <https://doi.org/10.1007/S10126-017-9746-8/TABLES/4>
- Barsanti, L. y Gualtieri, P. (2014). *Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology* (2a ed.). CRC Press. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Beaulieu, L. (2019). Insights into the Regulation of Algal Proteins and Bioactive Peptides Using Proteomic and Transcriptomic Approaches. *Molecules*, *24*(1708), 1–14.
- Bedoux, G., Hardouin, K., Marty, C., Taupin, L., Vandanjon, L. y Bourgougnon, N. (2014). Chemical characterization and photoprotective activity measurement of extracts from the red macroalga *Solieria chordalis*. *Botanica Marina*, *57*(4), 291–301. <https://doi.org/10.1515/BOT-2013-0118/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Bedoux, G., Pliego-Cortés, H., Dufau, C., Hardouin, K., Boulho, R., Freile-Peigrín, Y., Robledo, D. y Bourgougnon, N. (2020). Production and properties of mycosporine-like amino acids isolated from seaweeds. *Advances in Botanical Research*, *95*, 213–245. <https://doi.org/10.1016/BS.ABR.2019.11.004>
- Beer, S. y Levy, I. (1983). Effects of Photon Fluence Rate and Light Spectrum Composition on Growth, Photosynthesis and Pigment Relations in *Gracilaria* sp. *Journal of Phycology*, *19*(4), 516–522. <https://doi.org/10.1111/j.0022-3646.1983.00516.x>
- Beppu, F., Niwano, Y., Tsukui, T., Hosokawa, M. y Miyashita, K. (2009). Single and repeated oral dose toxicity study of fucoxanthin (FX), a marine carotenoid, in mice. *The Journal of Toxicological Sciences*, *34*(5), 501–510.
- Bheri, M., Mahiwal, S., Sanyal, S. K. y Pandey, G. K. (2021). Plant protein phosphatases: What do we know about their mechanism of action? *The FEBS Journal*, *288*(3), 756–785. <https://doi.org/10.1111/FEBS.15454>
- Bischof, K., Gómez, I., Molis, M., Hanelt, D., Karsten, U., Lüder, U., Roleda, M. Y., Zacher, K. y Wiencke, C. (2006). Ultraviolet radiation shapes seaweed communities. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology 2006 5:2*, *5*(2), 141–166. <https://doi.org/10.1007/S11157-006-0002-3>
- Bischof, K. y Rautenberger, R. (2012). Seaweed Responses to Environmental Stress: Reactive Oxygen and Antioxidative Strategies. *En: C. Wiencke y K. Bischof (Eds.), Seaweed Biology* (1a ed., pp. 109–132). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-28451-9>
- Bonomi Barufi, J., Figueroa, F. L. y Plastino, E. M. (2015). Effects of light quality on reproduction, growth and pigment content of *Gracilaria birdiae* (Rhodophyta: Gracilariales). *Scientia Marina*, *79*(1), 1–10. <https://doi.org/10.3989/scimar.04049.12A>
- Bonomi Barufi, J., Teresa Mata, M., Cabral Oliveira, M. y Figueroa, F. L. (2012). Nitrate reduces the negative effect of UV radiation on photosynthesis and pigmentation in *Gracilaria tenuistipitata* (Rhodophyta): the photoprotection role of mycosporine-like amino acids. *Phycologia*, *51*, 636–648. <https://doi.org/10.2216/10.77.1>
- Borlongan, I. A., Nishihara, G. N., Shimada, S. y Terada, R. (2017). Photosynthetic performance of the red alga *Solieria pacifica* (Solieriaceae) from two different depths in the sublittoral waters of Kagoshima, Japan. *Journal of Applied Phycology*, *29*, 3077–3088. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1209-0>
- Boulho, R., Marty, C., Freile-Peigrín, Y., Robledo, D., Bourgougnon, N. y Bedoux, G. (2017). Antiherpetic (HSV-1) activity of carrageenans from the red seaweed *Solieria chordalis* (Rhodophyta, Gigartinales) extracted by microwave-assisted extraction (MAE). *Journal of Applied Phycology*, *29*, 2219–2228. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1192-5>

- Boutet, E., Lieberherr, D., Tognolli, M., Schneider, M., Bansal, P., Bridge, A. J., Poux, S., Bougueleret, L. y Xenarios, I. (2016). Uniprotkb/swiss-prot, the manually annotated section of the uniprot knowledgebase: How to use the entry view. *Methods in Molecular Biology*, 1374, 23–54. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3167-5\\_2/FIGURES/23](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3167-5_2/FIGURES/23)
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. y Berset, C. (1995). Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm Wiss u.Technol*, 28, 25–30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P. y Pachter, L. (2016). Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nature Biotechnology* 2016 34:5, 34(5), 525–527. <https://doi.org/10.1038/nbt.3519>
- Brodie, J. y Lewis, J. (2007). *Unravelling the algae - the past, present, and future of algal systematics* (J. Brodie y J. Lewis, Eds.; 1a ed.). CRC Press.
- Brown, M. T. (1995). Interactions between environmental variables on growth rate and carrageenan content of *Solieria chordalis* (Solieriaceae, Rhodophyceae) in culture. *Journal of Applied Phycology*, 7, 427–432.
- Brunet, C., Johnsen, G., Lavaud, J. y Roy, S. (2015). Selected pigment applications in oceanography: Pigments and photoacclimation processes. *Phytoplankton Pigments: Characterization, Chemotaxonomy and Applications in Oceanography*, 1, 445–471. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Bryant, D. A. (1982). Phycoerythrocyanin and Phycoerythrin: Properties and Occurrence in Cyanobacteria. *Journal of General Microbiology*, 128(1982), 835–844. <https://doi.org/10.1099/00221287-128-4-835>
- Büchel, C. y Wilhelm, C. (1993). *In vivo* Analysis of slow chlorophyll fluorescence induction kinetics in algae: progress, problems and perspectives. *Photochemistry and Photobiology*, 58(1), 137–148. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.1993.TB04915.X>
- Burlot, A. S., Freile-Pelegrián, Y., Bourgougnon, N., Pliego-Cortés, H., Boulho, R., Penuela, A., Spain, O., Choulot, M., Bondu, S., Terme, N., Latire, T., Bedoux, G., Michalak, I., Robledo, D. y Deslandes, E. (2023). Concise review of the genus *Solieria* J. Agardh, 1842. *Journal of Applied Phycology*, 1, 1–22. <https://doi.org/10.1007/S10811-023-02934-Z/FIGURES/6>
- Bux, F. y Chisti, Y. (2016). Algae biotechnology. Products and processes. *Green Energy and Technology, March*, 344. <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-12334-9>
- Carmona, R., Vergara, J. J., Lahaye, M. y Niell, F. X. (1998). Light quality affects morphology and polysaccharide yield and composition of *Gelidium sesquipedale* (Rhodophyceae). *Journal of Applied Phycology*, 10, 323–331.
- Carrillo, N. y Vallejos, R. H. (1983). The light-dependent modulation of photosynthetic electron transport. *Trends in Biochemical Sciences*, 8(2), 52–56. [https://doi.org/10.1016/0968-0004\(83\)90389-4](https://doi.org/10.1016/0968-0004(83)90389-4)
- Chaloub, R. M., Reinert, F., Nassar, C. A. G., Fleury, B. G., Mantuano, D. G. y Larkum, A. W. D. (2010). Photosynthetic properties of three Brazilian seaweeds. *Brasil. Bot.*, 33(2), 371–374.
- Charnock, S. J. y Davies, G. J. (1999). Structure of the nucleotide-diphospho-sugar transferase, SpsA from *Bacillus subtilis*, in native and nucleotide-complexed forms. *Biochemistry*, 38(20), 6380–6385. <https://doi.org/10.1021/BI990270Y/ASSET/IMAGES/LARGE/BI990270YF00004.JPEG>
- Chen, B., Zou, D., Zhu, M. y Yang, Y. (2017). Effects of CO<sub>2</sub> levels and light intensities on growth and amino acid contents in red seaweed *Gracilaria lemaneiformis*. *Aquaculture Research*, 48(6), 2683–2690. <https://doi.org/10.1111/ARE.13100>
- Chen, S., Zhou, Y., Chen, Y. y Gu, J. (2018). fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics*, 34, 884–890. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/bty560>
- Chernomorsky, S., Segelman, A. y Poretz, R. D. (1999). Effect of dietary chlorophyll derivatives on mutagenesis and tumor cell growth. *Teratogenesis Carcinogenesis and Mutagenesis*, 19(5), 313–322. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6866\(1999\)19:5<313::AID-TCM1>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6866(1999)19:5<313::AID-TCM1>3.0.CO;2-G)

- Chew, Y. L., Lim, Y. Y., Omar, M. y Khoo, K. S. (2008). Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. *LWT - Food Science and Technology*, 41(6), 1067–1072. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.06.013>
- Choi, S., Hwang, M. S., Im, S., Kim, N., Jeong, W. J., Park, E. J., Gong, Y. G. y Choi, D. W. (2013). Transcriptome sequencing and comparative analysis of the gametophyte thalli of *Pyropia tenera* under normal and high temperature conditions. *Journal of Applied Phycology*, 25(4), 1237–1246. <https://doi.org/10.1007/s10811-012-9921-2>
- Clinton J. Dawes. (1998). *Marine Botany, 2nd Edition*. 496. <https://www.wiley.com/en-us/Marine+Botany%2C+2nd+Edition-p-9780471192084>
- Collén, J. y Davison, I. R. (1999). Stress tolerance and reactive oxygen metabolism in the intertidal red seaweeds *Mastocarpus stellatus* and *Chondrus crispus*. *Plant, Cell and Environment*, 22(9), 1143–1151. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.1999.00477.x>
- Collén, J., Guisle-Marsollier, I., Léger, J. J. y Boyen, C. (2007). Response of the transcriptome of the intertidal red seaweed *Chondrus crispus* to controlled and natural stresses. *New Phytologist*, 176(1), 45–55. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2007.02152.x>
- Conesa, A., Madrigal, P., Tarazona, S., Gomez-Cabrero, D., Cervera, A., McPherson, A., Szczesniak, M. W., Gaffney, D. J., Elo, L. L., Zhang, X. y Mortazavi, A. (2016). A survey of best practices for RNA-seq data analysis. *Genome Biology*, 17(13), 1–19. <https://doi.org/10.1186/s13059-016-0881-8>
- Coura, C. O., de Araújo, I. W. F., Vanderlei, E. S. O., Rodrigues, J. A. G., Quinderé, A. L. G., Fontes, B. P., de Queiroz, I. N. L., de Menezes, D. B., Bezerra, M. M., e Silva, A. A. R., Chaves, H. v., Jorge, R. J. B., Evangelista, J. S. A. M. y Benevides, N. M. B. (2012). Antinociceptive and Anti-Inflammatory Activities of Sulphated Polysaccharides from the Red Seaweed *Gracilaria cornea*. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 110(4), 335–341. <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00811.x>
- Craigie, J. S. (2011). Seaweed extract stimuli in plant science and agriculture. *Journal of Applied Phycology*, 23(3), 371–393. <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9560-4>
- Davalli, P., Mitic, T., Caporali, A., Lauriola, A. y D'Arca, D. (2016). ROS, Cell Senescence, and Novel Molecular Mechanisms in Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3565127>
- Dawes, C. J., Orduña-Rojas, J. y Robledo, D. (1999). Response of the tropical red seaweed *Gracilaria cornea* to temperature, salinity and irradiance. *Journal of Applied Phycology*, 10(5), 419–425. <https://doi.org/10.1023/A:1008021613399>
- de Jesus Raposo, M. F., de Morais, R. M. S. C. y de Morais, A. M. M. B. (2013). Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. *En: Life Sciences* (Vol. 93, Número 15, pp. 479–486). <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2013.08.002>
- de Keyser, E., Dhooghe, E., Christiaens, A., van Labeke, M. C. y van Huylenbroeck, J. (2019). LED light quality intensifies leaf pigmentation in ornamental pot plants. *Scientia Horticulturae*, 253, 270–275. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.006>
- de la Coba, F., Aguilera, J., Figueroa, F. L., De Gálvez, M. V. y Herrera, E. (2009). Antioxidant activity of mycosporine-like amino acids isolated from three red macroalgae and one marine lichen. *Journal Of Applied Phycology*, 21, 161–169. <https://doi.org/10.1007/s10811-008-9345-1>
- Demmig-Adams, B., Adams III, W. W. y Mattoo, A. K. (2008). Photoprotection, photoinhibition, gene regulation, and environment. *En: Advances in Photosynthesis and Respiration* (Vol. 21). Springer.
- Devi, K. P., Suganthi, N., Kesika, P. y Pandian, S. K. (2008). Bioprotective properties of seaweeds: In vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 8(38). <https://doi.org/10.1186/1472-6882-8-38>



- Diehl, N., Michalik, D., Zuccarello, G. C. y Karsten, U. (2019). Stress metabolite pattern in the eulittoral red alga *Pyropia plicata* (Bangiales) in New Zealand – mycosporine-like amino acids and heterosides. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 510, 23–30. <https://doi.org/10.1016/J.JEMBE.2018.10.002>
- Dietzel, L., Gläßer, C., Liebers, M., Hiekel, S., Courtois, F., Czarnecki, O., Schlicke, H., Zubo, Y., Börner, T., Mayer, K., Grimm, B. y Pfannschmidt, T. (2015). Identification of Early Nuclear Target Genes of Plastidial Redox Signals that Trigger the Long-Term Response of *Arabidopsis* to Light Quality Shifts. *Molecular Plant*, 8(8), 1237–1252. <https://doi.org/10.1016/J.MOLP.2015.03.004>
- Dłuzewska, J., Zieliński, K., Nowicka, B., Szymańska, R. y Kruk, J. (2015). New prenyl lipid metabolites identified in *Arabidopsis* during photo-oxidative stress. *Plant, cell & environment*, 38(12), 2698–2706. <https://doi.org/10.1111/PCE.12580>
- Dong, Z. C. y Chen, Y. (2013). Transcriptomics: Advances and approaches. *Science China Life Sciences*, 56(10), 960–967. <https://doi.org/10.1007/s11427-013-4557-2>
- Dos Santos, C. V., Cuiné, S., Rouhier, N. y Rey, P. (2005). The *Arabidopsis* plastidic methionine sulfoxide reductase B proteins. Sequence and activity characteristics, comparison of the expression with plastidic methionine sulfoxide reductase A, and induction by photooxidative stress. *Plant physiology*, 138(2), 909–922. <https://doi.org/10.1104/PP.105.062430>
- Duanmu, D., Rockwell, N. C. y Lagarias, J. C. (2017). Algal light sensing and photoacclimation in aquatic environments. *Plant, Cell & Environment*, 40(11), 2558–2570. <https://doi.org/10.1111/PCE.12943>
- Dufossé, L., Galaup, P., Yaron, A., Arad, S. M., Blanc, P., Murthy, K. N. C. y Ravishankar, G. A. (2005). Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: A scientific oddity or an industrial reality? *Trends in Food Science and Technology*, 16(9), 389–406. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2005.02.006>
- Dumay, J., Morançais, M., Munier, M., le Guillard, C. y Fleurence, J. (2014). Phycoerythrins: Valuable proteinic pigments in red seaweeds. *En: Advances in Botanical Research* (Vol. 71). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-408062-1.00011-1>
- Eastaugh, N., Walsh, V., Chaplin, T. y Siddall, R. (2004). *The Pigment Compendium* (1a ed.). Elsevier Butterworth-Heinemann. <https://doi.org/10.4324/9780080943596>
- Edelman, M. y Mattoo, A. K. (2008). D1-protein dynamics in photosystem II: the lingering enigma. *Photosynthesis Research* 2008 98:1, 98(1), 609–620. <https://doi.org/10.1007/S11120-008-9342-X>
- Emerson, R. y Rabinowitch, E. (1960). Red Drop and Role of Auxiliary Pigments in Photosynthesis. *Plant Physiology*, 35(4), 477–485. <https://doi.org/10.1104/PP.35.4.477>
- Espín, J. C., García-Conesa, M. T. y Tomás-Barberán, F. A. (2007). Nutraceuticals: Facts and fiction. *En: Phytochemistry* (Vol. 68, Números 22–24, pp. 2986–3008). <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.09.014>
- Falkowski, P. G. y LaRoche, J. (1991). Acclimation to spectral irradiance in algae. *Journal of Phycology*, 27(1), 8–14. <https://doi.org/10.1111/J.0022-3646.1991.00008.X>
- Fayaz, M., Namitha, K. K., Murthy, K. N. C., Swamy, M. M., Sarada, R., Khanam, S., Subbarao, P. V. y Ravishankar, G. A. (2005). Chemical Composition, Iron Bioavailability, and Antioxidant Activity of *Kappaphycus alvarezzi* (Doty). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(3), 792–797. <https://doi.org/10.1021/jf0493627>
- Felaco, L., Olvera-Novoa, M. A. y Robledo, D. (2020). Multitrophic integration of the tropical red seaweed *Solieria filiformis* with sea cucumbers and fish. *Aquaculture*, 527, 735475. <https://doi.org/10.1016/J.AQUACULTURE.2020.735475>

- Figuerola, F. L., Aguilera, J. y Niell, F. X. (1995). Red and blue light regulation of growth and photosynthetic metabolism in *Porphyra umbilicalis* (Bangiales, Rhodophyta). *European Journal of Phycology*, 30(1), 11–18. <https://doi.org/10.1080/09670269500650761>
- Figuerola, F. L., Álvarez-Gómez, F., Bonomi-Barufi, J., Vega, J., Massocato, T. F., Gómez-Pinchetti, J. L. y Korbee, N. (2022). Interactive effects of solar radiation and inorganic nutrients on biofiltration, biomass production, photosynthetic activity and the accumulation of bioactive compounds in *Gracilaria cornea* (Rhodophyta). *Algal Research*, 68, 102890. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2022.102890>
- Figuerola, F. L., Bueno, A., Korbee, N., Santos, R., Mata, L. y Schuenhoff, A. (2008). Accumulation of Mycosporine-like Amino Acids in *Asparagopsis armata* Grown in Tanks with Fishpond Effluents of Gilthead Sea Bream, *Sparus aurata*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 39(5), 692–699. <https://doi.org/10.1111/J.1749-7345.2008.00199.X>
- Figuerola, F. L., Israel, A., Neori, A., Martínez, B., Malta, E. J., Put, A., Inken, S., Marquardt, R., Abdala, R. y Korbee, N. (2010). Effect of nutrient supply on photosynthesis and pigmentation to short-term stress (UV radiation) in *Gracilaria conferta* (Rhodophyta). *Marine Pollution Bulletin*, 60(10), 1768–1778. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2010.06.009>
- Figuerola, F. L., Korbee, N., Abdala, R., Jerez, C. G., López-de la Torre, M., Güenaga, L., Larrubia, M. A. y Gómez-Pinchetti, J. L. (2012). Biofiltration of fishpond effluents and accumulation of N-compounds (phycobiliproteins and mycosporine-like amino acids) versus C-compounds (polysaccharides) in *Hydropuntia cornea* (Rhodophyta). *Marine Pollution Bulletin*, 64(2), 310–318. <https://doi.org/10.1016/J.MARPOLBUL.2011.11.012>
- Figuerola, F. L., Salles, S., Aguilera, J., Jiménez, C., Mercado, J., Viñegla, B., Flores-Moya, A. y Altamirano, M. (1997). Effects of solar radiation on photoinhibition and pigmentation in the red alga *Porphyra leucosticta*. *Marine Ecology Progress Series*, 151, 81–90.
- Figuerola L., F., Aguilera, J., Jiménez, C., Vergara, J. J., Robles, M. D. y Niell, F. X. (1995). Growth, pigment synthesis and nitrogen assimilation in the red alga *Porphyra* sp (Bangiales, Rhodophyta) under blue and red light. *Scientia Marina*, 59(Supl. 1), 9–20.
- Franklin, L. A., Kräbs, G. y Kuhlenkamp, R. (2001). Blue light and UV-A radiation control the synthesis of mycosporine-like amino acids in *Chondrus crispus* (Florideophyceae). *Journal of Phycology*, 37(2), 257–270. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.2001.037002257.X>
- Freile-Peigrín, Y. y Robledo, D. (1997). Effects of Season on the Agar Content and Chemical Characteristics of *Gracilaria cornea* from Yucatán, México. *Botánica Marina*, 40, 285–290. <https://doi.org/10.1515/botm.1997.40.1-6.285>
- Freile-Peigrín, Y. y Robledo, D. (2006). Carrageenan of *Eucheuma isiforme* (Solieriaceae, Rhodophyta) from Yucatán, Mexico. II. Seasonal variations in carrageenan and biochemical characteristics. *Botánica Marina*, 49(1), 72–78. <https://doi.org/10.1515/BOT.2006.009/MACHINEREADABLECITATION/RIS>
- Freile-Peigrín, Y. y Robledo, D. (2013). Bioactive Phenolic Compounds from Algae. En: B. Hernández-Ledesma y M. Herrero (Eds.), *Bioactive Compounds from Marine Foods: Plant and Animal Sources* (1a ed., pp. 113–129). John Wiley & Sons Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118412893.ch6>
- Freile-Peigrín, Y., Robledo, D., Pedersén, M., Bruno, E. y Rönqvist, J. (2002). Effect of dark and salinity treatment in the yield and quality of agar from *Gracilaria cornea* (Rhodophyceae). *Ciencias Marinas*, 28(3), 289–296. <https://doi.org/10.7773/cm.v28i3.223>
- Fu, G., Liu, J., Wang, G., Yao, J., Wang, X. y Duan, D. (2010). Early development of *Costaria costata* (C. Agardh) Saunders and cultivation trials. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 28(4), 731–737. <https://doi.org/10.1007/s00343-010-9051-0>

- Fukumoto, L. R. y Mazza, G. (2000). Assessing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(8), 3597–3604. <https://doi.org/10.1021/JF000220W>
- Gabilly, S. T., Baker, C. R., Wakao, S., Crisanto, T., Guan, K., Bi, K., Guiet, E., Guadagno, C. R. y Niyogi, K. K. (2019). Regulation of photoprotection gene expression in *Chlamydomonas* by a putative E3 ubiquitin ligase complex and a homolog of CONSTANS. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(35), 17556–17562. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1821689116/SUPPL\\_FILE/PNAS.1821689116.SAPP.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1821689116/SUPPL_FILE/PNAS.1821689116.SAPP.PDF)
- Gallardo, T. (2015). *Marine Algae - Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology* (L. Pereira & J. M. Neto, Eds.; 1a ed., pp. 1–67). CRC Press. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:No+Title#0>
- Ganesan, P., Kumar, C. S. y Bhaskar, N. (2008). Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. *Bioresource Technology*, 99(8), 2717–2723. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.07.005>
- Gantt, E. y Lipschultz, C. A. (1974). Phycobilisomes of *Porphyridium Cruentum*. Pigment Analysis. *Biochemistry*, 13(14), 2960–2966. <https://doi.org/10.1021/bi00711a027>
- Gelhaye, E., Rouhier, N., Navrot, N. y Jacquot, J. P. (2005). The plant thioredoxin system. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(1), 24–35. <https://doi.org/10.1007/S00018-004-4296-4/METRICS>
- Ghedifa, A. Ben, Vega, J., Korbee, N., Mensi, F., Figueroa, F. L. y Sadok, S. (2021). Effects of light quality on the photosynthetic activity and biochemical composition of *Gracilaria gracilis* (Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 33(5), 3413–3425. <https://doi.org/10.1007/S10811-021-02496-Y/FIGURES/8>
- Glazer, a N., Apell, G. S., Hixson, C. S., Bryant, D. a, Rimon, S. y Brown, D. M. (1976). Biliproteins of cyanobacteria and Rhodophyta: Homologous family of photosynthetic accessory pigments. *Pnas*, 73(2), 428–431. <https://doi.org/10.1073/pnas.73.2.428>
- Glicksman, M. (1987). Utilization of seaweed hydrocolloids in the food industry. *Hydrobiologia*, 151/152, 31–47.
- Godínez-Ortega, J. L., Snoeijs, P., Robledo, D., Freile-Pelegrín, Y. y Pedersén, M. (2008). Growth and pigment composition in the red alga *Halymenia floresii* cultured under different light qualities. *Journal of Applied Phycology*, 20(3), 253–260. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9241-0>
- Goodwin, T. W. (1980). The biochemistry of the carotenoids. *En: Plants Vol. 1* (Chapman an, p. 377).
- Graherr, M. G., Haas, B. J., Yassour, M., Levin, J. Z., Thompson, D. A., Amit, I., Adiconis, X., Fan, L., Raychowdhury, R., Zeng, Q., Chen, Z., Mauceli, E., Hacohen, N., Gnirke, A., Rhind, N., Di Palma, F., Birren, B. W., Nusbaum, C., Lindblad-Toh, K. y Regev, A. (2011). Full-length transcriptome assembly from RNA-Seq data without a reference genome. *Nature Biotechnology*, 29(7), 644–652. <https://doi.org/10.1038/nbt.1883>
- Graham, M. H., Vásquez, J. A. y Buschmann, A. H. (2007). Global ecology of the giant kelp *Macrocystis*: from ecotopes to ecosystems. *Oceanography and Marine Biology*, 45(July 2015), 39–88. <https://doi.org/https://doi.org/10.1201/9781420050943.ch2>
- Green, L. A. y Neefus, C. D. (2016). Effects of temperature, light level, and photoperiod on the physiology of *Porphyra umbilicalis* Kützinger from the Northwest Atlantic, a candidate for aquaculture. *Journal of Applied Phycology*, 28(3), 1815–1826. <https://doi.org/10.1007/s10811-015-0702-6>
- Guedes, A. C., Amaro, H. M. y Malcata, F. X. (2011). Microalgae as sources of carotenoids. *Marine Drugs*, 9(4), 625–644. <https://doi.org/10.3390/md9040625>
- Guiry, M. D. (2012). How many species of algae are there? *Journal of Phycology*, 48(5), 1057–1063. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01222.x>

- Guo, H., Yao, J., Sun, Z. y Duan, D. (2015). Effect of temperature, irradiance on the growth of the green alga *Caulerpa lentillifera* (Bryopsidophyceae, Chlorophyta). *Journal of Applied Phycology*, 27(2), 879–885. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0358-7>
- Gupta, S. y Abu-Ghannam, N. (2011). Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 600–609. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2011.07.004>
- Habisov, S., Huber, J., Ichimura, Y., Akutsu, M., Rogova, N., Loehr, F., McEwan, D. G., Johansen, T., Dikic, I., Doetsch, V., Komatsu, M., Rogov, V. V. y Kirkin, V. (2016). Structural and functional analysis of a novel interaction motif within UFM1-activating enzyme 5 (UBA5) required for binding to ubiquitin-like proteins and ufmylation. *Journal of Biological Chemistry*, 291(17), 9025–9041. <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.715474>
- Han, P. P., Shen, S. G., Wang, H. Y., Sun, Y., Dai, Y. J. y Jia, S. R. (2015). Comparative metabolomic analysis of the effects of light quality on polysaccharide production of cyanobacterium *Nostoc flagelliforme*. *Algal Research*, 9, 143–150. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2015.02.019>
- Hardouin, K., Bouyer, R., Pliego-Cortés, H., le Men, T., Cérantola, S., Marty, C., Douzenel, P., Bedoux, G. y Bourgougnon, N. (2022). Chemical characterization of the introduced red alga *Polyopes lancifolius* (Halymeniales, Rhodophyta) from the Gulf of Morbihan, France. <https://doi.org/10.1080/00318884.2022.2117942>
- Hegemann, P. (2008). Algal sensory photoreceptors. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 167–189. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.59.032607.092847>
- Heinrich, S., Valentin, K., Frickenhaus, S. y Wiencke, C. (2015). Temperature and light interactively modulate gene expression in *Saccharina latissima* (Phaeophyceae). *Journal of Phycology*, 51(1), 93–108. <https://doi.org/10.1111/jpy.12255>
- Heyes, D. J. y Hunter, C. N. (2005). Making light work of enzyme catalysis: protochlorophyllide oxidoreductase. *Trends in Biochemical Sciences*, 30(11), 642–649. <https://doi.org/10.1016/J.TIBS.2005.09.001>
- Ho, C. L., Teoh, S., Teo, S. Sen, Rahim, R. A. y Phang, S. M. (2009). Profiling the transcriptome of *Gracilaria changii* (Rhodophyta) in response to light deprivation. *Marine Biotechnology*, 11(4), 513–519. <https://doi.org/10.1007/s10126-008-9166-x>
- Hoecker, U. (2017). The activities of the E3 ubiquitin ligase COP1/SPA, a key repressor in light signaling. *Current Opinion in Plant Biology*, 37, 63–69. <https://doi.org/10.1016/J.PBI.2017.03.015>
- Hogewoning, S. W., Trouwborst, G., Maljaars, H., Poorter, H., van Ieperen, W. y Harbinson, J. (2010). Blue light dose-responses of leaf photosynthesis, morphology, and chemical composition of *Cucumis sativus* grown under different combinations of red and blue light. *Journal of experimental botany*, 61(11), 3107–3117. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq132>
- Holdt, S. L. y Kraan, S. (2011). Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation. *Enr. Journal of Applied Phycology* (Vol. 23, Número 3, pp. 543–597). <https://doi.org/10.1007/s10811-010-9632-5>
- Hoyer, K., Karsten, U. y Wiencke, C. (2002). Induction of sunscreen compounds in Antarctic macroalgae by different radiation conditions. *Marine Biology*, 141(4), 619–627. <https://doi.org/10.1007/s00227-002-0871-0>
- Hsieh, C., Tseng, M. H. y Liu, C. J. (2006). Production of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* (CCRC 36041) under limitations of nutrients. *Enzyme and Microbial Technology*, 38(1–2), 109–117. <https://doi.org/10.1016/J.ENZMICTEC.2005.05.004>
- Huovinen, P., Gomez, I., Figueroa, F. L., Ulloa, N., Morales, V. y Lovengreen, C. (2004). Ultraviolet-absorbing mycosporine-like amino acids in red macroalgae from Chile. *Enr. Botanica Marina* (Vol. 47). <http://jwocky.gsfc.nasa.gov>
- Hurd, C. L., Harrison, P. J., Bischof, K. y Lobban, C. S. (2014). *Seaweed Ecology and Physiology*.

- Hurtado, A. Q., Gerung, G. S., Yasir, S. y Critchley, A. T. (2014). Cultivation of tropical red seaweeds in the BIMP-EAGA region. *Journal of Applied Phycology*, 26(2), 707–718. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0116-2>
- Hwang, E. K., Park, C. S. y Baek, J. M. (2006). Artificial seed production and cultivation of the edible brown alga, *Sargassum fulvellum* (Turner) C. Agardh: Developing a new species for seaweed cultivation in Korea. *Journal of Applied Phycology*, 18(3–5), 251–257. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9021-2>
- Im, S., Choi, S., Hwang, M. S., Park, E. J., Jeong, W. J. y Choi, D. W. (2015). *De novo* assembly of transcriptome from the gametophyte of the marine red algae *Pyropia seriata* and identification of abiotic stress response genes. *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1343–1353. <https://doi.org/10.1007/S10811-014-0406-3/TABLES/4>
- Jackson, S. G. y McCandless, E. L. (1978). Simple, rapid, turbidometric determination of inorganic sulfate and/or protein. *Analytical Biochemistry*, 90(2), 802–808. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(78\)90171-9](https://doi.org/10.1016/0003-2697(78)90171-9)
- Jia, S., Wang, G., Liu, G., Qu, J., Zhao, B., Jin, X., Zhang, L., Yin, J., Liu, C., Shan, G., Wu, S., Liu, T., Wang, X. y Yu, J. (2020). High-quality *de novo* genome assembly of *Kappaphycus alvarezii* based on both PacBio and HiSeq sequencing. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/2020.02.15.950402>
- Jiang, H., Gao, K. y Helbling, E. W. (2008). UV-absorbing compounds in *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) with special reference to effects of desiccation. *Journal of Applied Phycology*, 20(4), 387–395. <https://doi.org/10.1007/S10811-007-9268-2/FIGURES/5>
- Jiang, H., Zou, D., Lou, W., Deng, Y. y Zeng, X. (2018). Effects of seawater acidification and alkalization on the farmed seaweed, *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta), grown under different irradiance conditions. *Algal Research*, 31, 413–420. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2018.02.033>
- Jímenez-Escrig, A., Jímenez-Jímenez, I., Pulido, R. y Saura-Calixto, F. (2001). Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 530–534.
- Jung, W.-K., Choi, I., Oh, S., Park, S.-G., Seo, S.-K., Lee, S.-W., Lee, D.-S., Heo, S.-J., Jeon, Y.-J., Je, J.-Y., Ahn, C.-B., Soo Kim, J., Soo Oh, K., Kim, Y.-M., Moon, C. y Choi, I.-W. (2009). Anti-asthmatic effect of marine red alga (*Laurencia undulata*) polyphenolic extracts in a murine model of asthma. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 293–297. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.012>
- Kathiresan, S., Sarada, R., Bhattacharya, S. y Ravishankar, G. A. (2007). Culture media optimization for growth and phycoerythrin production from *Porphyridium purpureum*. *Biotechnology and Bioengineering*, 96(3), 456–463. <https://doi.org/10.1002/bit>
- Kenny, O., Brunton, N. P. y Smyth, T. J. (2015). *In Vitro* Protocols for Measuring the Antioxidant Capacity of Algal Extracts. *Enr: Methods in Molecular Biology* (Vol. 1308). [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2684-8\\_24](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2684-8_24)
- Kim, C. S. y Jung, J. (1992). Iron-Sulfur centers as endogenous blue light sensitizers in cells: A study with an artificial non-heme iron protein. *Photochemistry and Photobiology*, 56(1), 63–68. <https://doi.org/10.1111/J.1751-1097.1992.TB09603.X>
- Kim, J. K., Mao, Y., Kraemer, G. y Yarish, C. (2015). Growth and pigment content of *Gracilaria tikvahiae* McLachlan under fluorescent and LED lighting. *Aquaculture*, 436, 52–57. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.10.037>
- Kim, J. K., Woo, S., Yun, H., Yum, S., Choi, E., Do, J.-R., Jo, J.-H., Kim, D., Lee, S. y Lee, T. K. (2005). Total Phenolic Contents and Biological Activities of Korean Seaweed Extracts. *Food Science and Biotechnology*, 14(6), 798–802.
- Kim, J. Y., Song, J. T. y Seo, H. S. (2017). COP1 regulates plant growth and development in response to light at the post-translational level. *Journal of Experimental Botany*, 68(17), 4737–4748. <https://doi.org/10.1093/JXB/ERX312>

- Kim, K. y Lee, I. (1996). The germling growth of *Enteromorpha intestinalis* (Chlorophyta) in laboratory culture under different combinations of irradiance and salinity and temperature and salinity. *Phycologia*, 35(4), 327–331. <https://doi.org/10.2216/i0031-8884-35-4-327.1>
- Kim, R. K., Uddin, N., Hyun, J. W., Kim, C., Suh, Y. y Lee, S. J. (2015). Novel anticancer activity of phloroglucinol against breast cancer stem-like cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 286(3), 143–150. <https://doi.org/10.1016/J.TAAP.2015.03.026>
- Kloareg, B. y Quatrano, R. S. (1988). Structure of the cell walls of marine algae and ecophysiological functions of the matrix polysaccharides. *Oceanography and Marine Biology*, 26, 259–315.
- Knurr, J., Benedek, O., Heslop, J., Vinson, R. B., Boydston, J. A., McAndrew, J., Kearney, J. F. y Turnbough, C. L. (2003). Peptide Ligands that Bind Selectively to Spores of *Bacillus subtilis* and Closely Related Species. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(11), 6841–6847. <https://doi.org/10.1128/AEM.69.11.6841-6847.2003/ASSET/0A1F1874-5DAE-4251-B2CC-25D3BC8A9CBD/ASSETS/GRAPHIC/AM1130319004.JPEG>
- Konotchick, T., Dupont, C. L., Valas, R. E., Badger, J. H. y Allen, A. E. (2013). Transcriptomic analysis of metabolic function in the giant kelp, *Macrocystis pyrifera*, across depth and season. *New Phytologist*, 198(2), 398–407. <https://doi.org/10.1111/nph.12160>
- Korbee, N., Figueroa, F. L. y Aguilera, J. (2005). Effect of light quality on the accumulation of photosynthetic pigments, proteins and mycosporine-like amino acids in the red alga *Porphyra leucosticta* (Bangiales, Rhodophyta). *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 80(2), 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2005.03.002>
- Korbee, N., Mata, M. T. y Figueroa, F. L. (2010). Photoprotection mechanisms against ultraviolet radiation in *Heterocapsa* sp. (Dinophyceae) are influenced by nitrogen availability: Mycosporine-like amino acids vs. xanthophyll cycle. *Limnology and Oceanology*, 55(2), 899–908.
- Kraan, S. (2013). Pigments and minor compounds in algae. *Enr. Functional Ingredients from Algae for Foods and Nutraceuticals* (pp. 205–253). Woodhead Publishing Limited. <https://doi.org/10.1533/9780857097590.3.149>
- Kräbs, G., Bischof, K., Hanelt, D., Karsten, U. y Wiencke, C. (2002). Wavelength-dependent induction of UV-absorbing mycosporine-like amino acids in the red alga *Chondrus crispus* under natural solar radiation. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 268(1), 69–82. [https://doi.org/10.1016/S0022-0981\(01\)00380-X](https://doi.org/10.1016/S0022-0981(01)00380-X)
- Kuhn, M. y Wickham, H. (2020). *Tidymodels: a collection of packages for modeling and machine learning using tidyverse principles*. <https://www.tidymodels.org/>.
- Kumar, A., Prasad, A., Sedlářová, M., Ksas, B., Havaux, M. y Pospíšil, P. (2020). Interplay between antioxidants in response to photooxidative stress in *Arabidopsis*. *Free Radical Biology and Medicine*, 160, 894–907. <https://doi.org/10.1016/J.FREERADBIOMED.2020.08.027>
- Kumar, H. D. y Singh, H. N. (1979). Rhodophyta. *Enr. H. D. Kumar y H. N. Singh (Eds.), A Textbook on Algae* (1a ed., p. 216). The Macmillan Press LTD. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Kumar, K. S., Ganesan, K. y Rao, P. V. S. (2008). Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty - An edible seaweed. *Food Chemistry*, 107(1), 289–295. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.08.016>
- La Barre, S., Roullier, C. y Boustie, J. (2014). Mycosporine-Like Amino Acids (MAAs) in Biological Photosystems. *Outstanding Marine Molecules: Chemistry, Biology, Analysis*, 9783527334650, 333–360. <https://doi.org/10.1002/9783527681501.CH15>
- Lalegerie, F., Lajili, S., Bedoux, G., Taupin, L., Stiger-Pouvreau, V. y Connan, S. (2019). Photoprotective compounds in red macroalgae from Brittany: Considerable diversity in mycosporine-like amino acids (MAAs). *Marine Environmental Research*, 147, 37–48. <https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2019.04.001>

- Langmead, B., Trapnell, C., Pop, M. y Salzberg, S. L. (2009). Ultrafast and memory-efficient alignment of short DNA sequences to the human genome. *Genome Biology*, 10(3). <https://doi.org/10.1186/gb-2009-10-3-r25>
- Larkum, A. W. D. (2003). *Light-Harvesting Systems in Algae*. 277–304. [https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2\\_13](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2_13)
- Larkum, A. W. D. y Barrett, J. (1983). Light-harvesting Processes in Algae. *Advances in Botanical Research*, 10(C), 1–219. [https://doi.org/10.1016/S0065-2296\(08\)60260-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2296(08)60260-8)
- Larkum, A. W. D., Drew, E. A. y Crossett, R. N. (1967). The Vertical Distribution of Attached Marine Algae in Malta. *Journal of Ecology*, 55(2), 361–371.
- Larkum, A. y Weyrauch, S. (1977). Photosynthetic Action Spectra and Light-Harvesting in *Griffithsia monilis* (Rhodophyta). *Photochemistry and Photobiology*, 25(1), 65–72. <https://doi.org/10.1111/j.1751-1097.1977.tb07425.x>
- Lashkari, D. A., Derisi, J. L., Mccusker, J. H., Namath, A. F., Gentile, C., Hwang, S. Y., Brown, P. O. y Davis, R. W. (1997). Yeast microarrays for genome wide parallel genetic and gene expression analysis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 94(24), 13057–13062. <https://doi.org/10.1073/pnas.94.24.13057>
- Le, B., Shin, J. A., Kang, M. G., Sun, S., Yang, S. H. y Chung, G. (2018). Enhanced growth rate and ulvan yield of *Ulva pertusa* using light-emitting diodes (LEDs). *Aquaculture International*, 26(4), 937–946. <https://doi.org/10.1007/s10499-018-0260-4>
- le Guillard, C., Dumay, J., Donnay-Moreno, C., Bruzac, S., Ragon, J. Y., Fleurence, J. y Bergé, J. P. (2015). Ultrasound-assisted extraction of R-phycoerythrin from *Grateloupia turuturu* with and without enzyme addition. *Algal Research*, 12, 522–528. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.11.002>
- Lee, S. W., Kim, H. K., Naidansuren, P., Ham, K. A., Choi, H. S., Ahn, H. Y., Kim, M., Kang, D. H., Kang, S. W. y Joe, Y. A. (2020). Peroxidase is essential for endothelial cell survival and growth signaling by sulfilimine crosslink-dependent matrix assembly. *The FASEB Journal*, 34(8), 10228–10241. <https://doi.org/10.1096/FJ.201902899R>
- Leukart, P. y Lüning, K. (1994). Minimum spectral light requirements and maximum light levels for long-term germling growth of several red algae from different water depths and a green alga. *European Journal of Phycology*, 29(2), 103–112. <https://doi.org/10.1080/09670269400650551>
- Li, A. D., Stevens, F. J., Huppe, H. C., Kersanach, R. y Anderson, L. E. (1997). *Chlamydomonas reinhardtii* NADP-linked glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase contains the cysteine residues identified as potentially domain-locking in the higher plant enzyme and is light activated. *Photosynthesis Research*, 51(3), 167–177. <https://doi.org/10.1023/A:1005876204043/METRICS>
- Li, Z., Zhang, Z., Yan, P., Huang, S., Fei, Z. y Lin, K. (2011). RNA-Seq improves annotation of protein-coding genes in the cucumber genome. *BMC Genomics*, 12(540), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-12-540>
- Liang, X., Zhong, C., Tang, L., Lin, Q. y Yan, X. (2022). Exploration on long-term acclimation of *Pyropia haitanensis* thalli to monochromatic lights based on physiological characteristics and transcriptome analysis. *Journal of Applied Phycology*, 34(1), 565–576. <https://doi.org/10.1007/S10811-021-02626-6/FIGURES/7>
- Lin, G., Liu, X., Yan, X., Liu, D., Yang, C., Liu, B., Huang, Y. y Zhao, C. (2018). Role of Green Macroalgae *Enteromorpha prolifera* Polyphenols in the Modulation of Gene Expression and Intestinal Microflora Profiles in Type 2 Diabetic Mice. *International journal of molecular sciences*, 20(1). <https://doi.org/10.3390/IJMS20010025>
- Liou, G.-Y. y Storz, P. (2010). Reactive oxygen species in cancer. *Free Radical Research*, 44(5), 3–9. <https://doi.org/10.3109/10715761003667554.Reactive>

- Littler, D. S. y Littler, M. M. (2000). *Caribbean Reef Plants: An Identification Guide to the Reef Plants of the Caribbean, Bahamas, Florida and Gulf of Mexico*. 700 color photographs, 565 black-and-white plates. Offshore Graphics, Inc., Washington, D.C. 542. <https://www.nhbs.com/caribbean-reef-plants-book>
- Littler, M. M., Littler, D. S., Blair, S. M. y Norris, J. N. (1985). Deepest Known Plant Life Discovered on an Uncharted Seamount. *Science*, 227(4682), 57–59. <https://doi.org/10.1126/SCIENCE.227.4682.57>
- Lockart, D. J. y Winzeler, E. A. (2000). Genomics, gene expression and DNA arrays. *Nature*, 405(Junio), 827–836.
- Loescher, W. H., Huw Tyson, R., Everard, J. D., Redgwell, R. J. y Bielecki, R. L. (1992). Mannitol Synthesis in Higher Plants Evidence for the Role and Characterization of a NADPH-Dependent Mannose 6-Phosphate Reductase. *Plant Physiology*, 98(4), 1396–1402. <https://doi.org/10.1104/PP.98.4.1396>
- Lopez-Figueroa, F. y Niell, F. X. (1989). Red-light and blue-light photoreceptors controlling chlorophyll a synthesis in the red alga *Porphyra umbilicalis* and in the green alga *Ulva rigida*. *Physiologia Plantarum*, 76, 391–397.
- Lopez-Juez, E. y Hughes, M. J. G. (1995). Effect of blue light and red light on the control of chloroplast acclimation of light-grown pea leaves to increased fluence rates. *Photochemistry and photobiology*, 61(1), 106–111. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201301500313>
- Losantos, R., Funes-Ardoiz, I., Aguilera, J., Herrera-Ceballos, E., García-Iriepa, C., Campos, P. J. y Sampedro, D. (2017). Rational Design and Synthesis of Efficient Sunscreens To Boost the Solar Protection Factor. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 56(10), 2632–2635. <https://doi.org/10.1002/ANIE.201611627>
- Love, M. I., Huber, W. y Anders, S. (2014). Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2. *Genome Biology*, 15(12), 1–21. <https://doi.org/10.1186/S13059-014-0550-8/FIGURES/9>
- Lüning, K. (1981). Light. En: C. S. Lobban y M. J. Wynne (Eds.), *The Biology of Seaweeds* (pp. 326–355). Black-well Scientific.
- Lüning, K. y Dring, M. J. (1985). Action spectra and spectral quantum yield of photosynthesis in marine macroalgae with thin and thick thalli. *Marine Biology*, 87(2), 119–129. <https://doi.org/10.1007/BF00539419>
- Mandal, S., Yadav, S., Yadav, S. y Nema, R. K. (2009). Antioxidants: A Review. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 1(1), 102–104. <https://doi.org/1872-2121/08>
- Maplestone, R. E. y Griffiths, W. T. (1980). Light modulation of the activity of protochlorophyllide reductase. *Biochemical Journal*, 189(1), 125–133. <https://doi.org/10.1042/BJ1890125>
- Matanjun, P., Mohamed, S., Mustapha, N. M., Muhammad, K. y Ming, C. H. (2008). Antioxidant activities and phenolics content of eight species of seaweeds from north Borneo. *Journal of Applied Phycology*, 20(4), 367–373. <https://doi.org/10.1007/S10811-007-9264-6/FIGURES/3>
- Matsuhiro, B. y Zanlungo, A. B. (1983). Colorimetric determination of 3,6-anhydrogalactose in polysaccharides from red seaweeds. *Carbohydrate Research*, 118(C), 276–279. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(83\)88056-2](https://doi.org/10.1016/0008-6215(83)88056-2)
- Maxwell, K. y Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence-a practical guide. *Journal of Experimental Botany*, 51(345), 659–668.
- Mayfield, S. P., Rahire, M., Frank, G., Zuber, H. y Rochaix, J. D. (1987). Expression of the nuclear gene encoding oxygen-evolving enhancer protein 2 is required for high levels of photosynthetic oxygen evolution in *Chlamydomonas reinhardtii*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 84(3), 749–753. <https://doi.org/10.1073/PNAS.84.3.749>



- McNulty, H., Jacob, R. F. y Mason, R. P. (2008). Biologic Activity of Carotenoids Related to Distinct Membrane Physicochemical Interactions. *American Journal of Cardiology*, 101(10 SUPPL.). <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.004>
- Monro, K. y Poore, A. G. B. (2009). Performance benefits of growth-form plasticity in a clonal red seaweed. *Biological Journal of the Linnean Society*, 97, 80–89. <https://academic.oup.com/biolinnean/article/97/1/80/2447958>
- Morais, H., Abram, A. y Ferreira, F. (2006). Carotenoids biosynthesis -a review. *Revista Lusófona de Humanidades e Tecnologias*, 1(10), 22–42. <http://revistas.ulusofona.pt/index.php/rhumanidades/article/view/1270>
- Morán-Santibañez, K., Cruz-Suárez, L. E., Ricque-Marie, D., Robledo, D., Freile-Pelegrián, Y., Peña-Hernández, M. A., Rodríguez-Padilla, C. y Trejo-Avila, L. M. (2016). Synergistic Effects of Sulfated Polysaccharides from Mexican Seaweeds against Measles Virus. *BioMed Research International*, 2016, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2016/8502123>
- Myers, J. (1971). Enhancement Studies in Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology*, 22, 289–312. [www.annualreviews.org](http://www.annualreviews.org)
- Mysliwa-Kurdziel, B. y Solymosi, K. (2016). Phycobilins and Phycobiliproteins Used in Food Industry and Medicine. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17(13). <https://doi.org/10.2174/1389557516666160912180155>
- Na, H. J., Moon, P. D., Lee, H. J., Kim, H. R., Chae, H. J., Shin, T., Seo, Y., Hong, S. H. y Kim, H. M. (2005). Regulatory effect of atopic allergic reaction by *Carpopeltis affinis*. *Journal of ethnopharmacology*, 101(1–3), 43–48. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2005.03.026>
- Nan, F., Feng, J., Lv, J., Liu, Q. y Xie, S. (2018). Transcriptome analysis of the typical freshwater rhodophytes *Sheathia arcuata* grown under different light intensities. *PLoS ONE*, 13(5). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0197729>
- Narasimhan, M. K., Pavithra, S. K., Krishnan, V. y Chandrasekaran, M. (2013). *In vitro* Analysis of Antioxidant, Antimicrobial and Antiproliferative Activity of *Enteromorpha antenna*, *Enteromorpha linza* and *Gracilaria corticata* Extracts. *Jundishapur journal of natural pharmaceutical products*, 8(4), 151–159. <https://doi.org/10.17795/JJNPP-11277>
- Nguyen, P. T., Ruangchuay, R. y Lueangthuwapranit, C. (2017). Effect of shading colours on growth and pigment content of *Gracilaria fisheri* (Xia & Abbott) Abbott, Zhang & Xia (Gracilariales, Rhodophyta). *Aquaculture Research*, 48(3), 1119–1130. <https://doi.org/10.1111/are.12954>
- Nielsen, H. D. y Nielsen, S. L. (2008). Evaluation of imaging and conventional PAM as a measure of photosynthesis in thin- and thick-leaved marine macroalgae. *Aquatic Biology*, 3(2), 121–131. <https://doi.org/10.3354/AB00069>
- Noctor, G., Mhamdi, A. y Foyer, C. H. (2016). Oxidative stress and antioxidative systems: Recipes for successful data collection and interpretation. *Plant Cell and Environment*, 39(5), 1140–1160. <https://doi.org/10.1111/pce.12726>
- Ocarra, P. (1965). Purification and N-terminal analyses of algal biliproteins. *Biochemical Journal*, 94(1), 171. <https://doi.org/10.1042/BJ0940171>
- Orduña-Rojas, J. y Robledo, D. (1999). Effects of Irradiance and Temperature on the Release and Growth of Carpospores from *Gracilaria cornea* J. Agardh (Gracilariales, Rhodophyta). *Botanica Marina*, 42(4), 315–319. <https://doi.org/10.1515/BOT.1999.035>
- Orduña-Rojas, J., Robledo, D. y Dawes, C. J. (2002a). Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, Mexico. I. Seasonal Physiological and Biochemical Responses. *Botanica Marina*, 45(5), 453–458. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.046>
- Orduña-Rojas, J., Robledo, D. y Dawes, C. J. (2002b). Studies on the tropical agarophyte *Gracilaria cornea* J. Agardh (Rhodophyta, Gracilariales) from Yucatán, México. II. Biomass assessment and

- reproductive phenology. *Botanica Marina*, 45(5), 459–464. <https://doi.org/10.1515/BOT.2002.047>
- O’Sullivan, A. M., O’Callaghan, Y. C., O’Grady, M. N., Queguineur, B., Hanniffy, D., Troy, D. J., Kerry, J. P. y O’Brien, N. M. (2011). *In vitro* and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the west coast of Ireland. *Food Chemistry*, 126(3), 1064–1070. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.127>
- Ozgen, M., Reese, R. N., Tulio, A. Z., Scheerens, J. C. y Miller, A. R. (2006). Modified 2,2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic Acid (ABTS) Method to Measure Antioxidant Capacity of Selected Small Fruits and Comparison to Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) and 2,2'-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) Methods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(4), 1151–1157. <https://doi.org/10.1021/jf051960d>
- Ozsolak, F. y Milos, P. M. (2011). RNA sequencing: advances, challenges and opportunities. *Nature Reviews Genetics*, 12(2), 87–98. <https://doi.org/10.1038/nrg2934>
- Pagels, F., Guedes, A. C., Amaro, H. M., Kijjoa, A. y Vasconcelos, V. (2019). *Phycobiliproteins from cyanobacteria: Chemistry and biotechnological applications*. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2019.02.010>
- Palthur, M. P., Palthur, S. S. S. y Chitta, S. K. (2010). Nutraceuticals: A Conceptual Definition. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2(3), 19–27. <https://doi.org/10.1007/s00289-015-1441-1>
- Pan-utai, W. y Iamtham, S. (2019). Extraction, purification and antioxidant activity of phycobiliprotein from *Arthrospira platensis*. *Process Biochemistry*, 82, 189–198. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2019.04.014>
- Parjikolaei, B. R., Kloster, L., Bruhn, A., Rasmussen, M. B., Fretté, X. C. y Christensen, K. V. (2013). Effect of Light Quality and Nitrogen Availability on the Biomass Production and Pigment Content of *Palmaria palmata* (Rhodophyta). *Chemical Engineering Transactions*, 32, 967–972. <https://doi.org/10.3303/CET1332162>
- Parsons, T. R., Maita, Y. y Lalli, C. M. (1984). Determination of Chlorophylls and Total Carotenoids: Spectrophotometric Method. *A Manual of Chemical & Biological Methods for Seawater Analysis*, 101–104. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-030287-4.50032-3>
- Paul, S., Salavarría, E., Gil-Kodaka, P. y Villena, G. K. (2020). A *de novo* transcriptomic approach to study the influence of marine water depth in *Macrocystis pyrifera* algininate production. *Aquatic Botany*, 163(Jun), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2020.103211>
- Peinado, N. K., Abdala Díaz, R. T., Figueroa, F. L. y Helbling, E. W. (2004). Ammonium and UV radiation stimulate the accumulation of mycosporine-like amino acids in *Porphyra columbina* (Rhodophyta) from Patagonia, Argentina. *Journal of Phycology*, 40(2), 248–259. <https://doi.org/10.1046/J.1529-8817.2004.03013.X>
- Peña-Rodríguez, A., Mawhinney, T. P., Ricque-Marie, D. y Cruz-Suárez, L. E. (2011). Chemical composition of cultivated seaweed *Ulva clathrata* (Roth) C. Agardh. *Food Chemistry*, 129(2), 491–498. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2011.04.104>
- Peñuela, A., Bourgougnon, N., Bedoux, G., Robledo, D., Madera-Santana, T. y Freile-Pelegrín, Y. (2021). Anti-Herpes simplex virus (HSV-1) activity and antioxidant capacity of carrageenan-rich enzymatic extracts from *Solieria filiformis* (Gigartinales, Rhodophyta). *International Journal of Biological Macromolecules*, 168, 322–330. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2020.12.064>
- Peñuela, A., Robledo, D., Bourgougnon, N., Bedoux, G., Hernández-Núñez, E. y Freile-Pelegrín, Y. (2018). Environmentally Friendly Valorization of *Solieria filiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) from IMTA Using a Biorefinery Concept. *Marine drugs*, 16(12). <https://doi.org/10.3390/MD16120487>

- Pereira, L. (2016). Edible Seaweeds Listed by Geographic Region. *En: Edible Seaweeds of the World* (1a ed., p. 453). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/b19970>
- Pereira, R. y Yarish, C. (2008). Mass production of marine macroalgae. *En: Ecological Engineering* (pp. 2236–2247).
- Pereira-Pacheco, F., Robledo, D., Rodríguez-Carvajal, L. y Freile-Peigrín, Y. (2007). Optimization of native agar extraction from *Hydropuntia cornea* from Yucatán, México. *Bioresource Technology*, 98(6), 1278–1284. <https://doi.org/10.1016/J.BIORTECH.2006.05.016>
- Pliego-Cortés, H., Bedoux, G., Boulho, R., Taupin, L., Freile-Peigrín, Y., Bourgougnon, N. y Robledo, D. (2019). Stress tolerance and photoadaptation to solar radiation in *Rhododymenia pseudopalmata* (Rhodophyta) through mycosporine-like amino acids, phenolic compounds, and pigments in an Integrated Multi-Trophic Aquaculture system. *Algal Research*, 41(December 2018), 101542. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101542>
- Pliego-Cortés, H., Caamal-Fuentes, E., Montero-Muñoz, J., Freile-Peigrín, Y. y Robledo, D. (2017). Growth, biochemical and antioxidant content of *Rhododymenia pseudopalmata* (Rhodymeniales, Rhodophyta) cultivated under salinity and irradiance treatments. *Journal of Applied Phycology*, 29(5), 2595–2603. <https://doi.org/10.1007/s10811-017-1085-7>
- Pliego-Cortés, H., Hardouin, K., Bedoux, G., Marty, C., Cérantola, S., Freile-Peigrín, Y., Robledo, D. y Bourgougnon, N. (2022). Sulfated Polysaccharides from Seaweed Strandings as Renewable Source for Potential Antivirals against Herpes simplex Virus 1. *Marine Drugs*, 20(116), 1–22. <https://doi.org/10.3390/md20020116>
- Ponnu, J. (2020). Molecular mechanisms suppressing COP1/SPA E3 ubiquitin ligase activity in blue light. *Physiologia Plantarum*, 169(3), 418–429. <https://doi.org/10.1111/PPL.13103>
- Prior, R. L., Fan, E., Ji, H., Howell, A., Nio, C., Payne, M. J. y Reed, J. (2010). Multi-laboratory validation of a standard method for quantifying proanthocyanidins in cranberry powders. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90, 1473–1478. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3966>
- Punampalam, R., Khoo, K. S. y Sit, N. W. (2018). Evaluation of antioxidant properties of phycobiliproteins and phenolic compounds extracted from *Bangia atropurpurea*. *Malaysian Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 14(2), 289–297. <https://doi.org/10.11113/MJFAS.V14N2.1096>
- Radmer, R. J. (1996). Algal Diversity and Commercial Algal Products. *BioScience*, 46(4), 263–270. <https://doi.org/10.2307/1312833>
- Ragan, M. A. y Gutell, R. R. (1995). Are red algae plants? *Botanical Journal of the Linnean Society*, 118(2), 81–105. [https://doi.org/10.1016/S0024-4074\(95\)80010-7](https://doi.org/10.1016/S0024-4074(95)80010-7)
- Ramel, F., Birtic, S., Ginies, C., Soubigou-Taconnat, L., Triantaphylidès, C. y Havaux, M. (2012). Carotenoid oxidation products are stress signals that mediate gene responses to singlet oxygen in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(14), 5535–5540. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1115982109/SUPPL\\_FILE/SD01.XLS](https://doi.org/10.1073/PNAS.1115982109/SUPPL_FILE/SD01.XLS)
- Ramus, J. (1981). The capture and transduction of light energy. *En: C. S. Lobban y M. J. Wynne (Eds.), The Biology of Seaweeds* (pp. 458–492). Blackwell Scientific.
- Rasmussen, R. S. y Morrissey, M. T. (2007). Marine Biotechnology for Production of Food Ingredients. *Advances in Food and Nutrition Research*, 52(06), 237–292. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(06\)52005-4](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(06)52005-4)
- Raven, J. A. (2011). The cost of photoinhibition. *Physiologia Plantarum*, 142(1), 87–104. <https://doi.org/10.1111/J.1399-3054.2011.01465.X>
- Rebours, C., Marinho-Soriano, E., Zertuche-González, J. A., Hayashi, L., Vásquez, J. A., Kradolfer, P., Soriano, G., Ugarte, R., Abreu, M. H., Bay-Larsen, I., Hovelsrud, G., Rødven, R. y Robledo, D. (2014). Seaweeds: An opportunity for wealth and sustainable livelihood for coastal communities. *Journal of Applied Phycology*, 26(5), 1939–1951. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0304-8>

- Rice-Evans, C. A., Miller, J. N. y Paganga, G. (1997). Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends in Plant Science*, 2(4), 152–159. [https://ac.els-cdn.com/S1360138597010182/1-s2.0-S1360138597010182-main.pdf?\\_tid=a4231f48-e95b-47ab-a146-77eb2542d2b1&acdnat=1548939957\\_9fdd9b3290350efa5a11a76712fab485](https://ac.els-cdn.com/S1360138597010182/1-s2.0-S1360138597010182-main.pdf?_tid=a4231f48-e95b-47ab-a146-77eb2542d2b1&acdnat=1548939957_9fdd9b3290350efa5a11a76712fab485)
- Rodríguez, A., Kleinbeck, K., Mizenina, O., Kizima, L., Levendosky, K., Jean-Pierre, N., Villegas, G., Ford, B. E., Cooney, M. L., Teleshova, N., Robbiani, M., Herold, B. C., Zydowsky, T. y Fernández Romero, J. A. (2014). *In vitro* and *in vivo* evaluation of two carrageenan-based formulations to prevent HPV acquisition. *Antiviral Research*, 108(1), 88–93. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2014.05.018>
- Rodríguez-Félix, A., Madera-Santana, T. J. y Freile-Pelegrín, Y. (2018). Formulation, Properties and Performance of Edible Films and Coatings from Marine Sources in Vegetable and Fruits. *Biopackaging*, 90–191. <https://doi.org/10.1201/9781315152349-5>
- Rotem, A., Roth-Bejerano, N. y Arad, S. (Malis) (1986). Effect of controlled environmental conditions on starch and agar contents of *Gracilaria* sp. (Rhodophyceae). *Journal of Phycology*, 22(2), 117–121. <https://doi.org/10.1111/J.1529-8817.1986.TB04153.X>
- Rowan, K. S. (1989). *Photosynthetic Pigments of Algae*. Cambridge University Press.
- Roy, S. y Rhim, J. W. (2019). Agar-based antioxidant composite films incorporated with melanin nanoparticles. *Food Hydrocolloids*, 94, 391–398. <https://doi.org/10.1016/J.FOODHYD.2019.03.038>
- Sandmann, G. y Malkin, R. (1983). Iron-Sulfur Centers and Activities of the Photosynthetic Electron Transport Chain in Iron-Deficient Cultures of the Blue-Green Alga *Aphanocapsa*. *Plant Physiology*, 73(3), 724–728. <https://doi.org/10.1104/PP.73.3.724>
- Saroussi, S. y Beer, S. (2007). Alpha and quantum yield of aquatic plants derived from PAM fluorometry: Uses and misuses. *Aquatic Botany*, 86(1), 89–92. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2006.09.003>
- Sasso, S., Pohnert, G., Lohr, M., Mittag, M. y Hertweck, C. (2012). Microalgae in the postgenomic era: A blooming reservoir for new natural products. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(4), 761–785. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00304.x>
- Schiedt, K. (1998). Absorption and metabolism of carotenoids in birds, fish and crustaceans. *En: Carotenoids, volume 3: Biosynthesis and metabolism* (pp. 285–358).
- Schmidt, É. C., Pereira, B., dos Santos, R. W., Gouveia, C., Costa, G. B., Faria, G. S. M., Scherner, F., Horta, P. A., Martins, R. de P., Latini, A., Ramlov, F., Maraschin, M. y Bouzon, Z. L. (2012). Responses of the macroalgae *Hypnea musciformis* after *in vitro* exposure to UV-B. *Aquatic Botany*, 100, 8–17. <https://doi.org/10.1016/J.AQUABOT.2012.03.004>
- Schneider, G., Figueroa, F. L., Vega, J., Avilés, A., Horta, P. A., Korbee, N. y Bonomi-Barufi, J. (2022). Effects of UV–visible radiation on growth, photosynthesis, pigment accumulation and UV-absorbing compounds in the red macroalga *Gracilaria cornea* (Gracilariales, Rhodophyta). *Algal Research*, 64, 102702. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2022.102702>
- Schneider, G., Figueroa, F. L., Vega, J., Chaves, P., Álvarez-Gómez, F., Korbee, N. y Bonomi-Barufi, J. (2020). *Photoprotection properties of marine photosynthetic organisms grown in high ultraviolet exposure areas: Cosmeceutical applications*. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101956>
- Seifried, H. E., Anderson, D. E., Fisher, E. I. y Milner, J. A. (2007). A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *En: Journal of Nutritional Biochemistry* (Vol. 18, Número 9, pp. 567–579). <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2006.10.007>
- Sekar, S. y Chandramohan, M. (2008). Phycobiliproteins as a commodity: Trends in applied research, patents and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 20(2), 113–136. <https://doi.org/10.1007/s10811-007-9188-1>

- Sharakhshane, A. (2017). White LED Lighting for Plants. *bioRxiv*, 1–16. <https://doi.org/10.1101/215095>
- Shin, T., Ahn, M., Hyun, J. W., Kim, S. H. y Moon, C. (2014). Antioxidant marine algae phlorotannins and radioprotection: a review of experimental evidence. *Acta histochemica*, 116(5), 669–674. <https://doi.org/10.1016/J.ACTHIS.2014.03.008>
- Silkina, A., Bazes, A., Vouvé, F., le Tilly, V., Douzenel, P., Mouget, J. L. y Bourgoignon, N. (2009). Antifouling activity of macroalgal extracts on *Fragilaria pinnata* (Bacillariophyceae): A comparison with Diuron. *Aquatic Toxicology*, 94(4), 245–254. <https://doi.org/10.1016/J.AQUATOX.2009.07.004>
- Singh, S. P. y Singh, P. (2015). Effect of temperature and light on the growth of algae species: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 50, 431–444. <https://doi.org/10.1016/J.RSER.2015.05.024>
- Sinha, R. P., Klisch, M., Gröniger, A. y Häder, D.-P. (2000). Mycosporine-like amino acids in the marine red alga *Gracilaria cornea* - effects of UV and heat. *Environmental and Experimental Botany*, 43(1), 33–43. [https://doi.org/10.1016/s0098-8472\(99\)00043-x](https://doi.org/10.1016/s0098-8472(99)00043-x)
- Smith, J. H. C. y Benitez, A. (1955). Chlorophylls: Analysis in Plant Materials. *Modern Methods of Plant Analysis / Moderne Methoden der Pflanzenanalyse*, 142–196. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-64961-5\\_6](https://doi.org/10.1007/978-3-642-64961-5_6)
- Smith, R. C. y Tyler, J. E. (1976). Transmission of Solar Radiation into Natural Waters. *Photochemical and Photobiological Reviews*, 117–155. [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2574-1\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-2574-1_3)
- Sonani, R. R., Singh, N. K., Kumar, J., Thakar, D. y Madamwar, D. (2014). Concurrent purification and antioxidant activity of phycobiliproteins from *Lyngbya* sp. A09DM: An antioxidant and anti-aging potential of phycoerythrin in *Caenorhabditis elegans*. *Process Biochemistry*, 49(10), 1757–1766. <https://doi.org/10.1016/J.PROCBIO.2014.06.022>
- Sousa, W. M., Silva, R. O., Bezerra, F. F., Bingana, R. D., Barros, F. C. N., Costa, L. E. C., Sombra, V. G., Soares, P. M. G., Feitosa, J. P. A., de Paula, R. C. M., Souza, M. H. L. P., Barbosa, A. L. R. y Freitas, A. L. P. (2016). Sulfated polysaccharide fraction from marine algae *Solieria filiformis*: Structural characterization, gastroprotective and antioxidant effects. *Carbohydrate Polymers*, 152, 140–148. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.06.111>
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Bourbon, A. I., Pinheiro, A. C., Martins, J. T., Teixeira, J. A., Coimbra, M. A. y Vicente, A. A. (2012). Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Food Hydrocolloids*, 27(2), 287–292. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2011.10.005>
- Souza, B. W. S., Cerqueira, M. A., Martins, J. T., Quintas, M. A. C., Ferreira, A. C. S., Teixeira, J. A. y Vicente, A. A. (2011). Antioxidant potential of two red seaweeds from the Brazilian coasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(10), 5589–5594. <https://doi.org/10.1021/jf200999n>
- Spolaore, P., Joannis-Cassan, C., Duran, E. y Isambert, A. (2006). Commercial Applications of Microalgae. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 101(2), 87–96. <https://doi.org/10.1263/jbb.101.87>
- Stengel, D. B., Connan, S. y Popper, Z. A. (2011). Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Enr. Biotechnology Advances* (Vol. 29, Número 5, pp. 483–501). <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.05.016>
- Stephanie, B., Eric, D., Sophie, M., Christian, B. y Yu, G. (2010). Carrageenan from *Solieria chordalis* (Gigartinales): Structural analysis and immunological activities of the low molecular weight fractions. *Carbohydrate Polymers*, 81, 448–460. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.046>
- Sun, L., Wang, S., Gong, X. y Chen, L. (2004). A rod-linker-contained R-phycoerythrin complex from the intact phycobilisome of the marine red alga *Polysiphonia urceolata*. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 76, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2004.07.003>

- Swanson, A. K. y Druehl, L. D. (2002). Induction, exudation and the UV protective role of kelp phlorotannins. *Aquatic Botany*, 73(3), 241–253. [https://doi.org/10.1016/S0304-3770\(02\)00035-9](https://doi.org/10.1016/S0304-3770(02)00035-9)
- Talarico, L. (1996). Phycobiliproteins and phycobilisomes in red algae: adaptive response to light. En: F. L. Figueroa, C. Jiménez, J. L. Perez-Llorens y F. X. Niell (Eds.), *Underwater Light and Algal Photobiology* (pp. 205–222). CSIC.
- Talarico, L. y Maranzana, G. (2000). Light and adaptive responses in red macroalgae: an overview. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 56(1), 1–11. [https://doi.org/10.1016/S1011-1344\(00\)00046-4](https://doi.org/10.1016/S1011-1344(00)00046-4)
- Tanna, B. y Mishra, A. (2020). Recent Advances in the Transcriptomics of Seaweeds. En: *Encyclopedia of Marine Biotechnology* (pp. 1909–1917). <https://doi.org/10.1002/9781119143802.ch83>
- Telfer, A. (2002). What is  $\beta$ -carotene doing in the photosystem II reaction centre? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 357(1426), 1431–1440. <https://doi.org/10.1098/RSTB.2002.1139>
- Terao, J. (1989). Antioxidant Activity of  $\beta$ -Carotene-Related Carotenoids in Solution. *Lipids*, 24(7), 659–661.
- Thien, V. Y., Rodrigues, K. F., Voo, C. L. Y., Wong, C. M. V. L. y Yong, W. T. L. (2021). Comparative Transcriptome Profiling of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae) in Response to Light of Different Wavelengths and Carbon Dioxide Enrichment. *Plants* 2021, Vol. 10, Page 1236, 10(6), 1236. <https://doi.org/10.3390/PLANTS10061236>
- Tokutsu, R., Fujimura-Kamada, K., Matsuo, T., Yamasaki, T. y Minagawa, J. (2019). The CONSTANS flowering complex controls the protective response of photosynthesis in the green alga *Chlamydomonas*. *Nature Communications* 2019 10:1, 10(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11989-x>
- Tollin, G. (1962). The primary process of photosynthesis: An interpretation of the Emerson effect and of the light-induced spectral changes at 7,000 Å. *Journal of Theoretical Biology*, 2(2), 105–116. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(62\)90039-5](https://doi.org/10.1016/0022-5193(62)90039-5)
- Torres, M., Niell, F. X. y Algarra, P. (1991). Photosynthesis of *Gelidium sesquipedale*: effects of temperature and light on pigment concentration, C/N ratio and cell-wall polysaccharides. *Hydrobiologia*, 221, 77–82.
- Torres, P. B., Chow, F. y Santos, D. Y. A. C. (2015). Growth and photosynthetic pigments of *Gracilariopsis tenuifrons* (Rhodophyta, Gracilariaceae) under high light in vitro culture. *Journal of Applied Phycology*, 27(3), 1243–1251. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0418-z>
- Torres, P., Santos, J. P., Chow, F., Ferreira, M. J. P. y Dos Santos, Y. A. C. (2018). *Comparative analysis of in vitro antioxidant capacities of mycosporine-like amino acids (MAAs)*. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.007>
- Tsekos, I., Niell, F. X., Aguilera, J., López-Figueroa, F. y Delivopoulos, S. G. (2002). Ultrastructure of the vegetative gametophytic cells of *Porphyra leucosticta* (Rhodophyta) grown in red, blue and green light. *Phycological Research*, 50(4), 251–264. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1835.2002.00284.x>
- Turkmen, N., Sedat Velioğlu, Y., Sari, F. y Polat, G. (2007). Effect of Extraction Conditions on Measured Total Polyphenol Contents and Antioxidant and Antibacterial Activities of Black Tea. *Molecules*, 12, 484–496. <http://www.mdpi.org>
- UniProtKB. (2022). <https://www.uniprot.org/help/uniprotkb>
- Usman, A., Khalid, S., Usman, A., Hussain, Z. y Wang, Y. (2017). Algal Polysaccharides, Novel Application, and Outlook. *Algae Based Polymers, Blends, and Composites: Chemistry, Biotechnology and Materials Science*, 115–153. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812360-7.00005-7>
- Vásquez, J. A., Zuñiga, S., Tala, F., Piaget, N., Rodríguez, D. C. y Vega, J. M. A. (2014). Economic valuation of kelp forests in northern Chile: values of goods and services of the ecosystem. *Journal of Applied Phycology*, 26(2), 1081–1088. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0173-6>

- Vásquez-Elizondo, R. M. y Enríquez, S. (2016). Coralline algal physiology is more adversely affected by elevated temperature than reduced pH. *Scientific Reports*, 6, 1–14. <https://doi.org/10.1038/srep19030>
- Vázquez-Delfín, E., Robledo, D. y Freile-Pelegrín, Y. (2014). Microwave-assisted extraction of the Carrageenan from *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae, Rhodophyta). *Journal of Applied Phycology*, 26, 901–907. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0090-8>
- Vega, J., Schneider, G., Moreira, B. R., Herrera, C., Bonomi-Barufi, J., Figueroa, F. L., Novais, S. y Félix, C. (2021). *Mycosporine-Like Amino Acids from Red Macroalgae: UV-Photoprotectors with Potential Cosmeceutical Applications*. <https://doi.org/10.3390/app11115112>
- Wada, N., Sakamoto, T. y Matsugo, S. (2015). Mycosporine-like amino acids and their derivatives as natural antioxidants. *Antioxidants*, 4(3), 603–646. <https://doi.org/10.3390/ANTIOX4030603>
- Wang, G. (2002). Isolation and Purification of Phycoerythrin from Red Alga *Gracilaria verrucosa* by Expanded-Bed-Adsorption and Ion-Exchange Chromatography. *Chromatographia*, 56, 509–513.
- Wang, L., Kim, C., Xu, X., Piskurewicz, U., Dogra, V., Singh, S., Mahler, H. y Apel, K. (2016). Singlet oxygen- and EXECUTER1-mediated signaling is initiated in grana margins and depends on the protease FtsH2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 113(26), E3792–E3800. [https://doi.org/10.1073/PNAS.1603562113/SUPPL\\_FILE/PNAS.201603562SI.PDF](https://doi.org/10.1073/PNAS.1603562113/SUPPL_FILE/PNAS.201603562SI.PDF)
- Wang, L., Mao, Y., Kong, F., Cao, M. y Sun, P. (2015). Genome-wide expression profiles of *Pyropia haitanensis* in response to osmotic stress by using deep sequencing technology. *BMC Genomics*, 16(1012), 1–18. <https://doi.org/10.1186/s12864-015-2226-5>
- Wang, Z., Gerstein, M. y Snyder, M. (2009). RNA-Seq: a revolutionary tool for transcriptomics. *Nature Reviews Genetics*, 10(1), 57–63. <https://doi.org/10.1038/nrg2484>
- Webb, P. (2021). Physical Oceanography. *En: Introduction to Oceanography* (pp. 1–383). Pressbooks.
- Wedchaparn, O., Ayisi, C. L., Huo, Y. y He, P. (2015). Effects of Different Light Intensity Fluctuations on Growth Rate, Nutrient Uptake and Photosynthetic Efficiency of *Gracilaria asiatica*. *Journal of Fisheries and Aquatic Science*, 10(6), 533–542. <https://doi.org/10.3923/jfas.2015.533.542>
- Wei, Y. y Xu, X. (2016). UFMylation: A Unique & Fashionable Modification for Life. *Genomics, Proteomics and Bioinformatics*, 14(3), 140–146. <https://doi.org/10.1016/J.GPB.2016.04.001>
- Wu, H. (2016). Effect of Different Light Qualities on Growth, Pigment Content, Chlorophyll Fluorescence, and Antioxidant Enzyme Activity in the Red Alga *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta). *BioMed Research International*, 2016, 8. <https://doi.org/10.1155/2016/7383918>
- Wu, S., Sun, J., Chi, S., Wang, L., Wang, X., Liu, C., Li, X., Yin, J., Liu, T. y Yu, J. (2014). Transcriptome sequencing of essential marine brown and red algal species in China and its significance in algal biology and phylogeny. *Acta Oceanologica Sinica*, 33(2), 1–12. <https://doi.org/10.1007/s13131-014-0435-4>
- Xie, C., Li, B., Xu, Y., Ji, D. y Chen, C. (2013). Characterization of the global transcriptome for *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) and development of cSSR markers. *BMC Genomics*, 14(107), 1–13. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-107>
- Xie, Y., Wu, G., Tang, J., Luo, R., Patterson, J., Liu, S., Huang, W., He, G., Gu, S., Li, S., Zhou, X., Lam, T. W., Li, Y., Xu, X., Wong, G. K. S. y Wang, J. (2014). SOAPdenovo-Trans: de novo transcriptome assembly with short RNA-Seq reads. *Bioinformatics*, 30(12), 1660–1666. <https://doi.org/10.1093/BIOINFORMATICS/BTU077>
- Xu, F. Q. y Xue, H. W. (2019). The ubiquitin-proteasome system in plant responses to environments. *Plant, Cell & Environment*, 42(10), 2931–2944. <https://doi.org/10.1111/PCE.13633>
- Xue, X., Gauthier, D. A., Turpin, D. H. y Weger, H. G. (1996). Interactions between Photosynthesis and Respiration in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii* (Characterization of Light-Enhanced Dark Respiration). *Plant Physiology*, 112(3), 1005–1014. <https://doi.org/10.1104/PP.112.3.1005>

- Yamanaka, R. y Akiyama, K. (1993). Cultivation and utilization of *Undaria pinnatifida* (wakame) as food. *Journal of Applied Phycology*, 5, 249–253.
- Yang, H., Mao, Y. X., Kong, F. N., Yang, G. P., Ma, F. y Wang, L. (2011). Profiling of the transcriptome of *Porphyra yezoensis* with Solexa sequencing technology. *Chinese Science Bulletin*, 56(20), 2119–2130. <https://doi.org/10.1007/s11434-011-4546-4>
- Yong, Y. S., Yong, W. T. L. y Anton, A. (2013). Analysis of formulae for determination of seaweed growth rate. *Journal of Applied Phycology*, 25(6), 1831–1834. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-0022-7>
- You, T. y Barnett, S. M. (2004). Effect of light quality on production of extracellular polysaccharides and growth rate of *Porphyridium cruentum*. *Biochemical Engineering Journal*, 19(3), 251–258. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2004.02.004>
- Zakaria, N. A., Ibrahim, D., Sulaiman, S. F. y Supardy, N. A. (2011). Assessment of antioxidant activity, total phenolic content and in-vitro toxicity of Malaysian red seaweed, *Acanthophora spicifera*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3(3), 182–191.
- Zhang, B., Sun, D., Zhang, X., Sun, X. y Xu, N. (2022). Transcriptomics and metabolomics reveal the adaptive mechanisms of *Gracilariopsis lemaneiformis* in response to blue light. *Algal Research*, 66. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2022.102760>
- Zhang, B., Xie, X., Liu, X., He, L., Sun, Y. y Wang, G. (2020). The carbonate concentration mechanism of *Pyropia yezoensis* (Rhodophyta): evidence from transcriptomics and biochemical data. *BMC Plant Biology*, 20(1), 1–12. <https://doi.org/10.1186/s12870-020-02629-4>
- Zhang, Q., Zhang, J., Shen, J., Silva, A., Dennis, D. A. y Barrow, C. J. (2006). A simple 96-well microplate method for estimation of total polyphenol content in seaweeds. *Journal of Applied Phycology*, 18, 445–450. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9048-4>
- Zhang, Z., Li, J., Liu, H., Chong, K. y Xu, Y. (2015). Roles of ubiquitination-mediated protein degradation in plant responses to abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*, 114, 92–103. <https://doi.org/10.1016/J.ENVEXPBOT.2014.07.005>
- Zhang, Z., Pang, T., Li, Q., Zhang, L., Li, L. y Liu, J. (2015). Transcriptome sequencing and characterization for *Kappaphycus alvarezii*. *European Journal of Phycology*, 50(4), 400–407. <https://doi.org/10.1080/09670262.2015.1069403>
- Zhen, S. y van Iersel, M. W. (2017). Far-red light is needed for efficient photochemistry and photosynthesis. *Journal of Plant Physiology*, 209, 115–122. <https://doi.org/10.1016/J.JPLPH.2016.12.004>
- Zubia, M., Fabre, M. S., Kerjean, V., Lann, K. le, Stiger-Pouvreau, V., Fauchon, M. y Deslandes, E. (2009). Antioxidant and antitumoural activities of some Phaeophyta from Brittany coasts. *Food Chemistry*, 116(3), 693–701. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2009.03.025>
- Zubia, M., Freile-Peigrín, Y. y Robledo, D. (2014). Photosynthesis, pigment composition and antioxidant defences in the red alga *Gracilariopsis tenuifrons* (Gracilariales, Rhodophyta) under environmental stress. *Journal of Applied Phycology*, 26(5), 2001–2010. <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0325-3>
- Zubia, M., Robledo, D. y Freile-Peigrín, Y. (2007). Antioxidant activities in tropical marine macroalgae from the Yucatan Peninsula, Mexico. *Journal of Applied Phycology*, 19(5), 449–458. <https://doi.org/10.1007/s10811-006-9152-5>

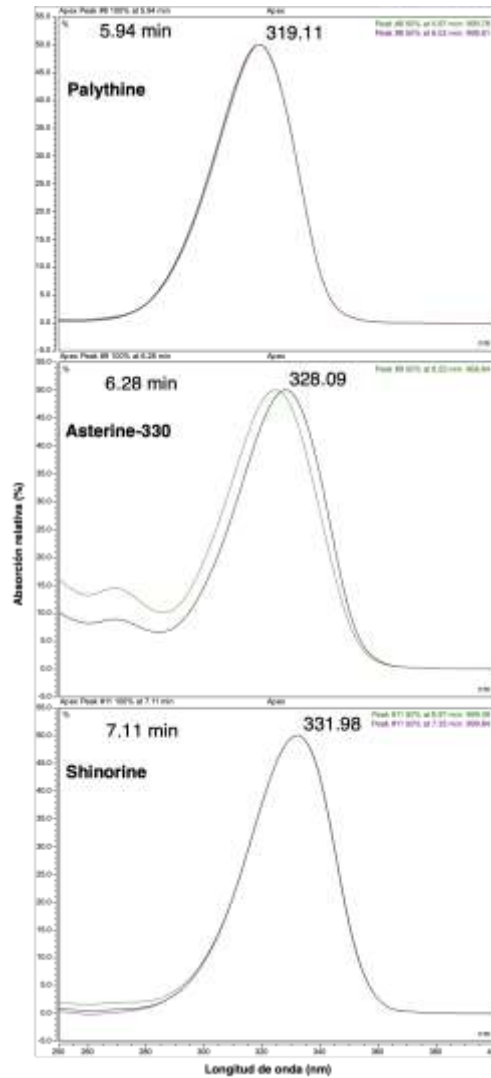


## 11. APÉNDICES

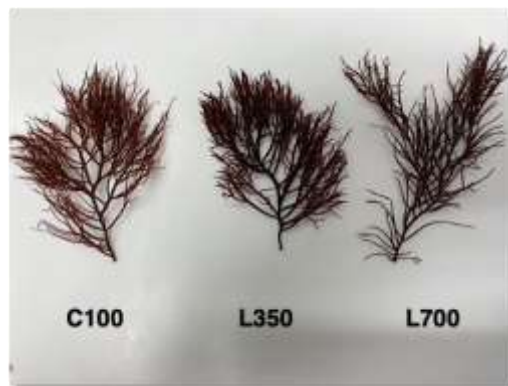
**Apéndice 1.** Valores estadísticos  $p$  y del tamaño del efecto ( $n^2$ ) para cada una de las variables fisiológicas y metabólicas evaluadas en los tratamientos experimentales de luz en el cultivo de *Gracilaria cornea* y *Solieria filiformis*.

Análisis	Calidad de luz		Irradiancia		Calidad x irradiancia		Valor más alto	
	<i>Gracilaria cornea</i>	<i>Solieria filiformis</i>	<i>Gracilaria cornea</i>	<i>Solieria filiformis</i>	<i>Gracilaria cornea</i>	<i>Solieria filiformis</i>	<i>Gracilaria cornea</i>	<i>Solieria filiformis</i>
F <sub>v</sub> /F <sub>m</sub>	p=0.772	p=0.030, n <sup>2</sup> =0.048	p=0.550	p<.001, n <sup>2</sup> =0.461	p=0.550	p<.001, n <sup>2</sup> =0.147	L350+B	L350+B
F <sub>máx</sub>	p=0.014, n <sup>2</sup> =0.081	p=0.119	p=0.007, n <sup>2</sup> =0.108	p<.001, n <sup>2</sup> =0.520	p<.001, n <sup>2</sup> =0.746	p<.001, n <sup>2</sup> =0.388	L350+A	L700+B
RL	p=0.037, n <sup>2</sup> =0.246	p=0.049, n <sup>2</sup> =0.255	p=0.118	p=0.359	p=0.021, n <sup>2</sup> =0.321	p=0.032, n <sup>2</sup> =0.320	L700+A	L700+B
Fe	p<.001, n <sup>2</sup> =0.439	p=0.051	p=0.020, n <sup>2</sup> =0.141	p=0.110	p=0.003, n <sup>2</sup> =0.284	p=0.168	L350+A	L700+A
Chl <i>a</i>	p=0.029, n <sup>2</sup> =0.080	p=0.002, n <sup>2</sup> =0.714	p<.001, n <sup>2</sup> =0.636	p=0.790	p=0.003, n <sup>2</sup> =0.193	p=0.740	L350+A	L350+B
Car	p=0.069	p=0.003, n <sup>2</sup> =0.670	p<.001, n <sup>2</sup> =0.631	p=0.543	p=0.039, n <sup>2</sup> =0.122	p=0.416	L350+A	L350+B
Cl <sub>a</sub> /Fe	p=0.005, n <sup>2</sup> =0.368	p<.001, n <sup>2</sup> =0.757	p=0.006, n <sup>2</sup> =0.352	p=0.006, n <sup>2</sup> =0.097	p=0.126	p=0.007, n <sup>2</sup> =0.090	L350+B	L350+B
F <sub>c</sub>	p=0.222	p=0.005, n <sup>2</sup> =0.302	p=0.472	p=0.002, n <sup>2</sup> =0.460	p=0.151	p=0.109	L350+A	L700+B
C	p=0.030, n <sup>2</sup> =0.334	p=0.302	p=0.952	p=0.091	p=0.253	p=0.848	L700+A	L700+B
N	p=0.017, n <sup>2</sup> =0.294	p=0.144	p=0.089	p=0.014, n <sup>2</sup> =0.361	p=0.054	p=0.892	L350+A	L700+B
C:N	p=0.096	p=0.602	p=0.183	p=0.717	p=0.024, n <sup>2</sup> =0.295	p=0.840	L350+B	L700+B
CTF	p=0.342	p=0.087	p=0.640	p=0.238	p=0.142	p=0.008, n <sup>2</sup> =0.473	L700+B	L350+B
Met ABTS	p=0.334	p=0.004, n <sup>2</sup> =0.633	p=0.688	p=0.695	p=0.301	p=0.863	L700+A	L700+A
Met FRAP	p=0.022, n <sup>2</sup> =0.423	p=0.724	p=0.707	p=0.303	p=0.130	p=0.956	L700+B	L700+B
Met DPPH	p=0.021, n <sup>2</sup> =0.417	-	p=0.626	-	p=0.111	-	L350+A	-

Pal	-	p=0.368	-	p=0.230	-	p=0.016, n <sup>2</sup> =0.698	-	L350+B
Ast	-	p=0.746	-	p=0.480	-	p=0.068	-	L350+B
Shi	-	p=0.080	-	p=0.117	-	p=0.048, n <sup>2</sup> =0.371	-	L350+B
Buffer FRAP	p<.001, n <sup>2</sup> =0.837	p=0.007, n <sup>2</sup> =0.442	p<.001, n <sup>2</sup> =0.070	p=0.048, n <sup>2</sup> =0.160	p<.001, n <sup>2</sup> =0.085	p=0.869	L350+A	L700+B
Buffer ABTS	p<.001, n <sup>2</sup> =0.601	p=0.050	p=0.014, n <sup>2</sup> =0.105	p=0.006, n <sup>2</sup> =0.366	p=0.002, n <sup>2</sup> =0.208	p=0.006, n <sup>2</sup> =0.365	L700+A	L700+B
Buffer DPPH	-	p=0.193	-	p=0.002, n <sup>2</sup> =0.597	-	p=0.117	-	L700+A
Carrag	-	p=0.137	-	p=0.609	-	p<.001, n <sup>2</sup> =0.769	-	L350+B
3-6 AG	-	p=0.136	-	p=0.546	-	p=0.005, n <sup>2</sup> =0.576	-	L350+B
SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>	-	p=0.985	-	p=0.054	-	p=0.278	-	L350+B



**Apéndice 2.** Cromatogramas con los espectros de absorción y tiempos de retención de los aminoácidos tipo micospolina (MAAs): palythine, asterine-330 y shinorine identificados en *Solieria filiformis*.



**Apéndice 3.** Morfología de los talos de *Solieria filiformis* bajo las diferentes irradiancias evaluadas en el capítulo II, de izquierda a derecha: irradiancia baja, media y alta.

**Apéndice 4.** Información general de la secuenciación de RNA entre los tratamientos experimentales de luz en el cultivo de *Solieria filiformis*.

<b>Muestra</b>	<b>% Lecturas identificadas</b>	<b>Millones de lecturas pares</b>	<b>Número de lecturas mapeadas</b>	<b>% Mapeo</b>
L700_B_1	5.6284	32.2769935	28.011319	86.78416408
L700_B_2	3.8373	22.0056335	18.811697	85.48582344
L700_B_3	5.0878	29.176833	25.333998	86.82915654
L700_B_4	4.7066	26.9907785	23.433492	86.82036348
L350_B_1	4.977	28.541432	10.157075	35.58712471
L350_B_2	4.5535	26.112801	11.907834	45.60151935
L350_B_4	6.2416	35.7934905	15.976431	44.6350182
L700_A_1	4.4172	25.331166	16.556824	65.36147606
L700_A_2	4.2105	24.1458105	5.718393	23.68275441
L700_A_3	4.6777	26.8250465	6.378393	23.77775189
L700_A_4	4.4286	25.396541	21.697785	85.43598516
L350_A_1	5.0964	29.226151	13.598871	46.52980476
L350_A_2	4.7121	27.022319	23.322699	86.30902107
L350_A_3	3.6426	20.889094	17.484766	83.70284513
L350_A_4	4.6303	26.5532235	22.423469	84.44725741
C100_1	6.409	36.7534735	31.739082	86.3566868
C100_2	4.906	28.1342705	24.44493	86.88666728
C100_3	4.6721	26.7929325	23.044887	86.01106654
C100_4	4.0972	23.496073	19.453199	82.79340552
<b>Total</b>		<b>547.0406725</b>	<b>359.495144</b>	

**Apéndice 5.** Listado de genes, con su respectiva anotación funcional, que participan en los procesos fotosintéticos y los 10 contrastes de su expresión diferencial entre los tratamientos experimentales en el cultivo de *Solieria filiformis*.

Nombre de gen	ID de gen	C100/ L350_B	C100/ L700_B	C100/ L350_A	C100/ L700_A	L350_B/ L700_B	L350_B/ L350_A	L350_B/ L700_A	L700_B/ L350_A	L700_B/ L700_A	L350_A/ L700_A	Anotación funcional
psaA	PSAA_GRATL	-1.19	-2.80	-3.04	-4.05	-1.61	-1.85	-2.86	-0.23	-1.24	-1.01	Photosystem I P700 chlorophyll a apoprotein A1
psaE	PSAE_CHLRE	-3.35	-0.70	-3.09	3.66	2.64	0.26	7.01	-2.38	4.36	6.75	Photosystem I reaction center subunit IV
psaF	PSAF_CHLRE	-3.48	-0.70	-3.11	3.05	2.77	0.36	6.53	-2.40	3.76	6.17	Photosystem I reaction center subunit III
psaH	PSAH_CHLRE	-2.98	0.18	-2.79	3.28	3.16	0.18	6.26	-2.98	3.09	6.08	Photosystem I reaction center subunit VI
psaK	PSAK_ARATH	-4.03	-0.83	-3.87	2.80	3.20	0.16	6.83	-3.04	3.63	6.67	Photosystem I reaction center subunit psaK
psaO	PSAO_ARATH	-2.93	0.28	-2.46	3.44	3.21	0.47	6.37	-2.74	3.15	5.90	Photosystem I subunit O
psbA	PSBA_PSEAK	-3.16	-0.90	-3.96	2.03	2.25	-0.80	5.19	-3.06	2.93	6.00	Photosystem II protein D1
psbB	PSBB_CHLVU	-3.52	-1.59	-3.64	3.39	1.93	-0.12	6.91	-2.05	4.98	7.04	Photosystem II CP47 reaction center protein
psbC	PSBC_LEPTE	-3.31	-0.91	-3.43	2.51	2.40	-0.11	5.83	-2.52	3.43	5.95	Photosystem II CP43 reaction center protein
psbO	PSBO_VOLCA	-2.37	0.58	-2.70	5.18	2.95	-0.33	7.56	-3.29	4.60	7.89	Oxygen-evolving enhancer protein 1
psbP	PSBP_CHLRE	-2.93	-0.22	-2.85	21.00	2.71	0.08	23.93	-2.62	21.22	23.85	Oxygen-evolving enhancer protein 2
psbQ	PSBQ_VOLCA	-2.42	0.32	-2.54	4.43	2.75	-0.12	6.85	-2.87	4.10	6.97	Oxygen-evolving enhancer protein 3
psbR	PSBR_BRACM	-2.30	-1.28	-3.93	4.17	1.01	-1.63	6.11	-2.65	5.09	7.75	Photosystem II 10 kDa polypeptide
psbW	PSBW_CHLRE	-2.50	0.40	-2.45	4.46	2.91	0.05	6.96	-2.85	4.05	6.91	Photosystem II reaction center W protein

psbY	PSBY_SPIOL	-3.81	-1.12	-4.56	1.63	2.68	-0.75	5.44	-3.43	2.76	6.19	Photosystem II core complex proteins
HCF136	P2SAF_ORYSJ	-1.55	0.94	-3.23	1.44	2.49	-1.68	3.00	-4.18	0.50	4.68	Photosystem II stability/assembly factor HCF136
cpeD	PYR2_MICDP	-0.37	-0.44	1.76	4.45	-0.06	2.13	4.82	2.20	4.89	2.68	Phycobilisome 27.9 kDa linker polypeptide
PHEG	PHEG_COROI	-0.31	-0.29	0.99	1.82	0.01	1.31	2.14	1.29	2.12	0.83	R-phycoerythrin gamma chain
LHCI	CB12_PETHY	-2.62	0.04	-2.49	5.41	2.66	0.12	8.03	-2.54	5.36	7.90	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein
LHCA1	CB121_HORVU	-3.05	-0.15	-2.60	3.88	2.89	0.44	6.94	-2.45	4.04	6.49	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein 1B-21
LHCA4	CA4_ARATH	-3.13	-0.18	-2.61	5.29	2.95	0.52	7.53	-2.43	4.57	7.01	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein 4
LHCB4	CB29_CHLRE	-2.23	0.32	-2.24	1.84	2.56	-0.01	4.07	-2.57	1.51	4.09	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein CP29
LHCB5	CB5_ARATH	-1.58	1.52	-2.40	2.68	3.10	-0.82	7.78	-3.93	4.67	8.60	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein CP26
CABLL-1	CB2_CHLRE	-2.80	0.19	-2.76	2.26	3.00	0.04	8.31	-2.95	5.31	8.27	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein of LHCI type I
CAB1R	CB21_ORYSJ	-3.09	-0.59	-2.87	2.27	2.49	0.21	5.36	-2.28	2.87	5.15	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein 1
CAB8	CB13_SOLLC	-2.97	0.01	-2.91	4.35	2.98	0.06	7.33	-2.92	4.34	7.26	Chlorophyll <i>a-b</i> binding protein 8
GC1	GC1_ARATH	-1.65	0.74	-3.38	1.51	2.40	-1.72	3.17	-4.12	0.77	4.90	Epimerase family protein SDR39U1 homolog
MDHP	MDHP_FLABI	-1.05	0.53	-3.83	2.76	1.58	-2.78	3.82	-4.36	2.23	6.60	Malate dehydrogenase [NADP]
petC	UCRIA_CHLRE	-0.72	1.10	-3.81	3.66	1.83	-3.08	4.39	-4.91	2.55	7.47	Cytochrome <i>b6-f</i> complex iron-sulfur subunit

SIR	SIR_ARATH	-2.71	-0.21	-3.99	0.75	2.49	-1.27	3.46	-3.77	0.96	4.74	Assimilatory sulfite reductase (ferredoxin)
PGR5	PGR5_ARATH	-1.49	0.17	-3.37	2.42	1.66	-1.87	3.91	-3.54	2.24	5.79	Protein PROTON GRADIENT REGULATION 5
LTD	LTD_ARATH	-1.44	1.55	-2.11	2.03	2.99	-0.66	3.48	-3.66	0.48	4.14	Protein LHCP TRANSLOCATION DEFECT
chlD	CHLD_SYNE7	0.28	0.39	0.81	1.98	0.11	0.53	1.69	0.42	1.58	1.16	Magnesium-chelatase subunit ChlD
chlH	CHLH_ARATH	-0.75	-0.65	0.00	3.20	0.10	0.76	2.43	0.65	2.33	1.67	Magnesium-chelatase subunit ChlH
chlM	CHLM_SYNY3	0.17	0.45	0.92	1.90	0.27	0.74	1.72	0.47	1.45	0.97	Magnesium-protoporphyrin O-methyltransferase
chlP	CHLP_ARATH	2.09	5.48	-2.66	3.68	3.39	-4.75	1.59	-8.15	-1.80	6.34	Geranylgeranyl diphosphate reductase
porA	POR_MARPA	-0.79	1.78	-3.18	20.58	2.57	-2.38	21.38	-4.96	18.80	23.77	Protochlorophyllide reductase
GSA	GSA_CHLRE	2.60	4.42	-1.59	4.46	1.82	-4.19	1.86	-6.02	0.03	6.06	Glutamate-1-semialdehyde 2,1-aminomutase
PAO	PAO_ARATH	-0.89	0.03	0.95	4.28	0.93	1.85	2.50	0.92	1.57	0.64	Pheophorbide a oxygenase
CTH1	CTH1_CHLRE	-1.87	0.61	-2.25	3.41	2.48	-0.38	5.29	-2.86	2.80	5.67	Magnesium-protoporphyrin IX monomethyl ester [oxidative] cyclase 2
UROS	HEM4_ORYSJ	-0.14	-0.03	0.56	1.46	0.10	0.71	1.60	0.60	1.49	0.89	Uroporphyrinogen-III synthase
hemH	HEMH_COXB1	0.05	0.28	1.06	1.76	0.23	1.00	1.70	0.77	1.47	0.69	Ferrochelatase
PPH	PPH_ARATH	-0.87	-0.90	-0.24	-0.52	-0.03	0.63	0.64	0.66	0.68	0.01	Pheophytinase
LUT1	LUT1_ARATH	-3.46	-0.29	-1.95	3.85	3.17	1.51	7.32	-1.66	4.14	5.81	Carotene epsilon-monooxygenase
ACO	ACOX_SYNY3	-2.69	0.29	-2.00	3.81	2.99	0.68	6.50	-2.30	3.51	5.82	Apocarotenoid-15,15'-oxygenase

ZCIS	ZCIS_MAIZE	-0.01	-0.15	0.61	1.40	-0.13	0.63	1.42	0.77	1.55	0.78	15-cis-zeta-carotene isomerase
crtQ	ZDS_NOSS1	0.23	0.15	0.75	1.81	-0.08	0.51	1.57	0.60	1.66	1.06	Zeta-carotene desaturase
CRTISO	CRTSO_ARATH	0.43	0.45	1.08	1.33	0.02	0.65	0.90	0.62	0.87	0.24	Polycopene isomerase
LCY1	LCYB_CAPAN	-0.45	-0.24	0.84	1.05	0.21	1.30	1.51	1.09	1.30	0.21	Lycopene beta cyclase
ZEP	ZEP_ARATH	-1.06	-0.68	-0.06	0.69	0.38	0.99	1.76	0.61	1.37	0.76	Zeaxanthin epoxidase
CCD1	CCD1_PHAVU	-2.52	-0.64	-3.96	-0.29	1.88	-1.43	2.22	-3.31	0.34	3.66	Carotenoid 9,10(9',10')-cleavage dioxygenase 1

**Apéndice 6.** Listado de genes, con su respectiva anotación funcional, que participan en el sistema antioxidante y los 10 contrastes de su expresión diferencial entre los tratamientos experimentales en el cultivo de *Solieria filiformis*.

Nombre de gen	ID de gen	C100/ L350_B	C100/ L700_B	C100/ L350_A	C100/ L700_A	L350_B/ L700_B	L350_B/ L350_A	L350_B/ L700_A	L700_B/ L350_A	L700_B/ L700_A	L350_A/ L700_A	Anotación funcional
VTE1	TOCC_ARATH	0.72	1.13	0.88	1.39	0.41	0.16	0.67	-0.25	0.25	0.51	Tocopherol cyclase
alrA	ALRA_DICDI_1	-0.68	-0.94	0.03	-0.19	-0.26	0.71	0.48	0.98	0.75	-0.22	Aldose reductase A
MSR4	MSRA4_ARATH	-3.68	-1.62	-4.43	0.66	2.06	-0.75	4.35	-2.81	2.29	5.10	Peptide methionine sulfoxide reductase A4



MSRB2	MSRB2_ARATH	-3.09	0.16	-3.38	0.95	3.26	-0.28	4.05	-3.55	0.79	4.34	Peptide methionine sulfoxide reductase B2
SEC24C	SC24C_ARATH	0.79	0.37	-0.32	-0.82	-0.41	-1.11	-1.61	-0.70	-1.19	-0.49	Protein transport protein SEC24 C
APX3	APX3_ARATH	-0.92	-0.60	-0.44	0.23	0.32	0.48	1.15	0.16	0.83	0.67	L-ascorbate peroxidase 3
APXS	APXS_ARATH	-4.05	-2.00	-5.19	-1.15	2.05	-1.13	2.90	-3.19	0.84	4.03	L-ascorbate peroxidase S
TRR1	TRXB_YARLI	-0.28	-1.20	-1.29	-1.56	-0.91	-1.01	-1.28	-0.09	-0.36	-0.27	Thioredoxin reductase
trxM	TRXM_CHLRE	-0.67	1.55	-2.96	3.33	2.23	-2.28	4.00	-4.51	1.77	6.29	Thioredoxin M-type
SODB	SODF_NICPL	-2.87	-0.83	-3.35	1.60	2.03	-0.48	4.48	-2.51	2.44	4.96	Superoxide dismutase [Fe]
PRDX5	PRDX5_CHLAE	-3.08	-1.02	-3.65	1.11	2.06	-0.57	4.20	-2.63	2.14	4.77	Peroxiredoxin-5
PRDX6	PRDX6_CHICK	-0.01	-0.04	0.33	0.34	-0.02	0.34	0.36	0.37	0.39	0.01	Peroxiredoxin-6
THI1-2	THI42_VITVI	-4.91	-2.03	-5.49	0.39	2.88	-0.58	5.30	-3.46	2.42	5.89	Thiamine thiazole synthase 2
GRX	GLRX_VERFO	-3.39	-1.64	-4.83	-1.47	1.74	-1.44	1.91	-3.18	0.16	3.35	Glutaredoxin
PXDNL	PXDNL_HUMAN	-4.39	-6.06	-8.70	-7.71	-1.66	-4.30	-3.31	-2.63	-1.65	0.98	Probable oxidoreductase PXDNL
Pir	PIR_MOUSE	2.27	-0.21	-1.72	-2.51	-2.48	-3.99	-4.78	-1.51	-2.30	-0.78	Pirin
IDH1	IDHC_HUMAN	-4.94	-2.60	-4.42	-0.97	2.34	0.52	3.96	-1.82	1.62	3.44	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic
AMC5	MCA5_ARATH	-5.54	-2.99	-4.85	0.57	2.55	0.68	6.12	-1.86	3.56	5.43	Metacaspase-5
OCA1	OCA1_DEBHA	-0.02	-0.57	-3.52	-4.60	-0.55	-3.50	-4.58	-2.94	-4.02	-1.07	Putative tyrosine-protein phosphatase OCA1
BAS1	BAS1_ORYSJ	-3.49	-0.58	-3.67	1.14	2.90	-0.17	4.63	-3.08	1.73	4.81	2-Cys peroxiredoxin BAS1
CAT2	CATA2_GOSHI	0.77	0.60	1.01	1.09	-0.17	0.24	0.31	0.41	0.49	0.07	Catalase isozyme 2
NRT2.2	NRT22_ORYSJ	-3.10	0.87	-2.49	2.77	3.98	0.61	5.88	-3.36	1.90	5.26	High-affinity nitrate transporter 2.2
NRT2.5	NRT25_ARATH	-3.25	-3.95	-4.25	-1.75	-0.69	-0.99	1.50	-0.30	2.20	2.50	High affinity nitrate transporter 2.5
ASP5	AAT5_ARATH	-2.68	-0.04	-4.07	1.42	2.63	-1.39	4.10	-4.03	1.46	5.49	Aspartate aminotransferase

AMT1-3	AMT13_ARATH	-3.70	-0.66	-4.14	-0.19	3.04	-0.43	3.51	-3.48	0.46	3.94	Ammonium transporter 1 member 3
ADK2	ADK2_ARATH	-2.36	0.93	-5.00	-1.60	3.30	-2.63	0.76	-5.94	-2.53	3.40	Adenosine kinase 2
TYRAAT2	TYRA2_ARATH	0.96	3.41	-1.45	1.88	2.44	-2.42	0.91	-4.87	-1.52	3.34	Arogenate dehydrogenase 2
trpC	TRPC_OPITP	-0.11	-0.39	0.90	1.24	-0.28	1.01	1.35	1.30	1.63	0.33	Indole-3-glycerol phosphate synthase
Fah	FAAA_MOUSE	-0.27	-0.04	0.43	1.12	0.23	0.71	1.39	0.47	1.16	0.68	Fumarylacetoacetase

**Apéndice 7.** Listado de genes, con su respectiva anotación funcional, que participan en la síntesis de polisacáridos y los 10 contrastes de su expresión diferencial entre los tratamientos experimentales en el cultivo de *Solieria filiformis*.

Nombre de gen	ID de gen	C100/ L350_B	C100/ L700_B	C100/ L350_A	C100/ L700_A	L350_B/ L700_B	L350_B/ L350_A	L350_B/ L700_A	L700_B/ L350_A	L700_B/ L700_A	L350_A/ L700_A	Anotación funcional
UGP	UGPA_SOLTU	-3.73	-1.64	-4.70	-1.25	2.09	-0.96	2.48	-3.06	0.38	3.45	UTP--glucose-1- phosphate uridylyltransferase
PGMP	PGMP_SOLTU	-4.11	-1.75	-5.28	-0.09	2.35	-1.16	4.02	-3.52	1.66	5.18	Phosphoglucomutas e

GBSS	SSG1_MANES	-0.95	1.45	-4.54	1.53	2.40	-3.59	2.48	-5.99	0.07	6.07	Granule-bound starch synthase 1
dagA	AGAR_STRCO	-4.19	-5.92	-8.06	-3.44	-1.73	-3.87	0.74	-2.14	2.47	4.61	Extracellular agarase
GPIC	G6PI_ARALP	-1.66	1.23	-3.44	1.21	2.90	-1.77	2.87	-4.67	-0.02	4.65	Glucose-6-phosphate isomerase
GAPA	G3PA_CHLRE	2.24	4.71	-2.00	6.86	2.46	-4.24	4.62	-6.71	2.15	8.87	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase A
FBP	F16P1_BRANA	-0.42	2.77	-3.54	1.79	3.20	-3.12	2.21	-6.32	-0.98	5.34	Fructose-1,6-bisphosphatase
spsC	SPSC_BACSU	4.65	6.31	-0.81	3.78	1.65	-5.47	-0.87	-7.12	-2.52	4.60	Spore coat polysaccharide biosynthesis protein SpsC
agaB34	AGB34_AGAAL	-0.79	-0.53	-1.80	-2.23	0.25	-1.01	-1.44	-1.27	-1.70	-0.42	Beta-agarase AgaB34
AMY3	AMY3_ARATH	-3.88	-0.91	-4.34	0.62	2.96	-0.45	4.51	-3.42	1.54	4.96	Alpha-amylase 3
PMI1	MPI1_ARATH	0.36	-0.00	-0.51	-1.39	-0.36	-0.88	-1.76	-0.51	-1.39	-0.88	Mannose-6-phosphate isomerase 1

---