



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
ESCUELA DE POSTGRADO
**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN
CONSERVACION Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

TESIS DOCTORAL:

COMUNIDADES BACTERIANAS EPÍFITAS DE *MACROCYSTIS*: EFECTO DEL
NITRÓGENO SOBRE LA INTERACCIÓN BACTERIA-KELP



Por

JULY ZIRET FLOREZ GUERRERO



UNIVERSIDAD DE LOS LAGOS

VICERRECTORÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO
ESCUELA DE POSTGRADO
**PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS, MENCIÓN
CONSERVACION Y MANEJO DE RECURSOS NATURALES**

COMUNIDADES BACTERIANAS EPÍFITAS DE *MACROCYSTIS*: EFECTO DEL
NITRÓGENO SOBRE LA INTERACCIÓN BACTERIA-KELP

Tesis presentada a la Universidad de Los Lagos como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias mención Conservación y Manejo de Recursos Naturales.

Por

JULY ZIRET FLOREZ GUERRERO

Profesor Patrocinante: Alejandro H. Buschmann Rubio

Profesor co-Patrocinante: Martha B. Hengst López

Comisión de Tesis: Carlos Valdivia
Daniel Varela

Junio 2019

RESUMEN

Durante la última década, el estudio de las comunidades microbianas asociadas a hospederos eucariotas y las interacciones que pueden establecer entre ellos, ha surgido como un enfoque relevante para comprender el efecto de diferentes estresores ambientales sobre el funcionamiento del hospedero, todo desarrollado bajo el concepto del holobionte. Aunque existen diferentes estudios que comparan la composición de la comunidad microbiana de macroalgas en diferentes hábitats, pocos han incorporado hasta ahora experimentos de manipulación para analizar el efecto de los factores ambientales sobre el holobionte macroalgal. Considerando lo anterior, en esta tesis se analizó: 1) el estado del arte con respecto al conocimiento de las interacciones bacteria-macroalga, la importancia de las metodologías utilizadas para su detección y clasificación, y la relevancia del análisis funcional para comprender la ecología del holobionte; 2) la estructura de las comunidades bacterianas asociadas a dos poblaciones genéticas de *M. pyrifera* en localidades con concentraciones de N y temperatura estacionalmente contrastantes; 3) las variaciones entre la estructura de las comunidades bacterianas epífitas de dos poblaciones genéticas de *M. pyrifera*, cultivadas en jardín común, y su relación con la capacidad de dichas poblaciones para responder a la baja disponibilidad de N durante el verano. Las aproximaciones metodológicas utilizadas, incluyeron el estudio de las comunidades bacterianas epífitas a partir de poblaciones genéticas naturales de *M. pyrifera*, y en experimentos de jardín común en condiciones de laboratorio y al aire libre, para abordar los diferentes objetivos de investigación. El estudio de las comunidades bacterianas asociadas a macroalgas desde la perspectiva del holobionte, debe considerar la composición taxonómica y funcional de dichas comunidades para mejorar la comprensión de las interacciones bacteria-macroalga.

La estructura de las comunidades bacterianas epífitas de las poblaciones de *M. pyrifera*-norte presentaron diferencias estacionales en comparación con las comunidades bacterianas asociadas a las poblaciones del sur. Además, aunque la temperatura afectó significativamente la estructura de las comunidades bacterianas asociadas a ambas poblaciones de kelp, la disponibilidad de N solo mostró una cierta importancia en las poblaciones de *M. pyrifera*-norte. Esto sugiere que las diferencias genéticas de ambas poblaciones de kelp y el efecto sinérgico entre múltiples factores ambientales podrían explicar los patrones observados.

La interacción bacteria-macroalga puede verse reflejada en la interacción macroalga-ambiente, lo que se evidenció en la correlación positiva entre la expresión del gen *GluSyn* en las macroalgas con la presencia de diferentes taxones bacterianos nitrato-amonificantes. Si consideramos que estas bacterias pueden aumentar la disponibilidad de NH_4^+ cuando el N es limitante, entonces las macroalgas pueden optimizar la asimilación de este nutriente mediante la regulación de la enzima glutamato sintasa, lo que estaría asociado con la respuesta favorable de *M. pyrifera*-norte al tratamiento de bajo N durante el verano. Por lo tanto, la capacidad y estrategias de asimilación de cada población genética del kelp también se muestra como un factor relevante en esta interacción.

El conocimiento generado en este estudio representa un punto de partida para el desarrollo de nuevas estrategias de manejo y conservación que consideren la complejidad del microbioma y de cómo interactúa con el hospedero con fines de optimizar el crecimiento y desarrollo de *M. pyrifera* tanto para el cultivo como para el mantenimiento de las praderas naturales de este valioso recurso.

Palabras claves: *gen funcional, holobionte, interacciones biológicas, marcadores moleculares, poblaciones genéticas, simbiosis.*

ABSTRACT

During the last decade, the study of microbial communities associated with eukaryotic hosts and the interactions they can establish between them, has emerged as a relevant approach to understand the effect of different environmental stressors on the functioning of the host, all developed under the holobiont concept. Although there are different studies comparing the microbial community composition associated to macroalgae in different habitats, few have so far incorporated manipulation experiments to analyze the effect of environmental factors on the macroalgal holobiont. Considering the above, this thesis analyzed: 1) the state of the art with respect to the knowledge of bacteria-macroalgae interactions, the importance of the methodologies used for the detection and bacterial classification, and the relevance of functional analysis to understand the holobiont ecology; 2) the structure of the bacterial communities associated with two genetic populations of *M. pyrifera* in localities with seasonally contrasting N and temperature concentrations; 3) variations between the epiphytic bacterial community structures of two genetic populations of *M. pyrifera*, cultivated in a common garden, and their relationship with the capacity of these populations to respond to the low N availability during the summer. The methodological approaches used included the study of epiphytic bacterial communities from natural genetic populations of *M. pyrifera*, and in common garden experiments under indoor and outdoor conditions, to address the different research aims. The study of bacterial communities associated with macroalgae from the holobiont perspective should consider the taxonomic and functional composition of these communities to improve the understanding of bacteria-macroalgae interactions.

The epiphytic bacterial community structures of the *M. pyrifera*-north populations showed seasonal differences compared to the bacterial communities associated with the southern

populations. Furthermore, although temperature significantly affected the bacterial community structures associated with both kelp populations, the N availability only showed a certain importance in the populations of *M. pyrifera*-north. This suggests that the genetic differences of both kelp populations and the synergistic effect between multiple environmental factors may explain the observed patterns.

The bacteria-macroalgae interaction can be seen reflected in the macroalgae-environment interaction, which was evidenced in the positive correlation between *GluSyn* gene expression in macroalgae with the presence of different nitrate-amonificating bacterial taxa. If we consider that these bacteria can increase the NH_4^+ availability when N is limiting, then macroalgae can optimize the assimilation of this nutrient by regulating the enzyme glutamate synthase, which would be associated with the favorable response of *M. pyrifera*-north to low N treatment during the summer. Therefore, the capacity and assimilation strategies of each genetic population of kelp is also shown as a relevant factor in this interaction.

The knowledge generated in this study represents a starting point for the development of new management and conservation strategies that consider the complexity of the microbiome and how it interacts with the host in order to optimize the growth and development of *M. pyrifera* both for cultivation and for the maintenance of the kelp forest along to the Chilean coast.

Keywords: *functional gene, holobiont, biological interactions, molecular markers, genetic populations, symbiosis.*