



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

ANÁLISIS GENÓMICO DE LA POSIBLE
TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE
GENES DE *VAUCHERIA LITOREA* AL
GENOMA NUCLEAR DE *ELYSIA
CHLOROTICA*

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

QUE PRESENTA:

GUSTAVO MORALES ZARAGOZA

TUTOR:

DR. PEDRO EDUARDO MIRAMONTES
VIDAL

Ciudad Universitaria, CD. MX.

2022





Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Hoja de Datos del Jurado

1. Datos del alumno

Morales
Zaragoza
Gustavo
55-4822-4860
Universidad Nacional Autónoma
de México
Facultad de Ciencias
Biología
313248076

2. Datos del Asesor

Dr.
Pedro Eduardo
Miramontes
Vidal

3. Datos del Sinodal 1

Dr.
Arturo Carlos II
Becerra
Bracho

4. Datos del Sinodal 2

Dra. Mariana
Benitez
Keinrad

5. Datos del Sinodal 3

Dra. Mónica
Ramírez
Vázquez

6. Datos del Sinodal 1

Dr. Hugo Iván
Cruz
Rosas

7. Datos de la tesis.

Análisis de la posible transferencia transferencia horizontal de genes de Vau-
cheria litorea al genoma nuclear de Elysia chlorotica
155
2022

Agradecimientos

Gracias por todos los momentos de risas, llanto, apoyo y crecimiento a la familia que elegí y me encontré en el camino (Isaac V., Marian A., Mariana F., Omar R., Lucero G. y Juan L.).

Gracias a mis hermanitos (Mimis, Angelito, Ase y Jou) por mostrarme cada día que puedo ser mejor persona.

Gracias a mi padre Gustavo por haberme enseñado que puedo llegar tan lejos como pueda apuntar.

Gracias a «El ciber» por las largas horas de compañía parasocial durante la escritura de esta tesis.

Y gracias a mi asesor, Dr. Pedro Miramontes, mis sinodales, Dra. Mónica Ramírez, Dr. Arturo Becerra, Dra. Marina Benítez y Dr. Iván Rosas por dedicar su tiempo a la lectura y corrección de este trabajo.

Dedicado a:

A mi abuelito José, me hubiera gustado el que vieras este libro en tu pequeña biblioteca.

A mi madre Estrella, por darme su apoyo incondicional en cada paso que doy.

Índice general

INTRODUCCIÓN	7
1. MARCO TEÓRICO	10
1.1. Planteamiento del problema	10
1.2. La fotosíntesis en animales	12
1.2.1. Fotosimbiosis	16
1.2.2. Cleptoplastia	20
1.2.3. <i>Elysia chlorotica</i> y <i>Vaucheria litorea</i>	24
1.3. Transferencia Horizontal de Genes	28
1.3.1. Mecanismos de THG	35
1.3.2. Identificación de Genes Transferidos Horizontalmente con BLAST	40
2. ANTECEDENTES METODOLÓGICOS	45
2.1. Transferencia horizontal en el sistema <i>Elysia-Vaucheria</i> (Antecedentes)	45
2.2. Hipótesis	52
2.3. Objetivos	53
2.3.1. Objetivo general	53

2.3.2. Objetivos específicos	53
2.4. Materiales y Método	53
2.4.1. Las bases de datos	53
2.4.2. Procedimiento	54
3. RESULTADOS Y CONCLUSIONES	57
3.1. Las búsquedas	57
3.2. Los genes	65
<i>chlB</i>	67
Proteínas ribosomales	69
<i>rpl2</i>	70
<i>rps19</i>	71
<i>rpl22</i>	72
<i>rpl23</i>	73
<i>rpl19</i>	75
RNAs de transferencia	77
<i>trnM (CAU)</i>	79
<i>trnR (CCG)</i>	80
<i>cfxQ</i>	81
<i>psbI</i>	83
<i>atpB</i>	84
3.3. Discusión	86
3.4. Conclusiones	90
Bibliografía	92
Apéndices	115

A. Genes con soporte bibliográfico previo	116
B. BLAST del gen <i>chlB</i>	121
C. BLAST del gen <i>rpl2</i>	124
D. BLAST del gen <i>rps19</i>	127
E. BLAST del gen <i>rpl22</i>	130
F. BLAST del gen <i>rpl23</i>	133
G. BLAST del gen <i>rpl19</i>	136
H. BLAST del gen <i>trnM</i>	141
I. BLAST del gen <i>trnR</i>	144
J. BLAST del gen <i>cfxQ</i>	147
K. BLAST del gen <i>psbI</i>	150
L. BLAST del gen <i>atpB</i>	153

INTRODUCCIÓN

Habitualmente, una de las características que distinguen a animales de plantas es la capacidad de realizar fotosíntesis por medio de organelos. Sin embargo, existen grupos de animales que desafían esta división al ser capaces de aprovechar esta ruta metabólica. Esto lo pueden conseguir por medio de dos mecanismos: la fotosimbiosis [59, 63, 80, 82] y la cleptoplastia [65, 70, 82, 109, 113, 135, 141].

Por un lado, la fotosimbiosis es la incorporación de organismos fotosintéticos en las partes más expuestas a la luz solar dentro de un animal hospedero. En este fenómeno, el organismo fotosintético pasa a ser el fotosimbionte, proveyendo al animal de azúcares y otras moléculas producto de la fijación del CO₂, lo que aporta en el desarrollo y supervivencia del mismo. Mientras tanto, el animal, que pasa a ser el hospedero, se vuelve un refugio para el fotosimbionte permitiendo su desarrollo y reproducción en un ambiente libre de depredadores y de las inclemencias de la intemperie. Debido a esta reciprocidad, a la fotosimbiosis se le considera como un mutualismo [37, 97, 99, 123, 167, 176, 177].

Por otra parte, la cleptoplastia es un fenómeno que mezcla características de depredación y de fotosimbiosis. Esto se debe a que, en este fenómeno, los animales se alimentan de algas y digieren el contenido celular de estas a excepción de los cloroplastos, los cuales se hospedan en las células intestinales. Como resultado de este proceso, los cloroplastos pasan a ser los simbioses que proveen de azúcares y otros productos de la fotosíntesis, aunque en estos casos los cloroplastos dejan de reproducirse [65, 70, 82, 109, 113, 135, 141]. No obstante, se ha llegado a identificar que estos cloroplastos pueden permanecer activos durante todo el tiempo de vida del hospedero sin necesidad de un recambio de organelos.

El término cleptoplastia deriva de la voz griega *kleptis* (κλεπτης), que significa «ladrón» y *plasto*, nombre genérico de los organelos fotosintéticos [225] y es un fenómeno que ocurre en distintos grupos de organismos, como lo son los dinoflagelados, ciliados y foraminíferos [32, 40, 111, 116, 135, 141, 176, 225]. Sin

embargo, entre los animales los únicos grupos que pueden realizar el «robo» de cloroplastos son una especie de Platyhelminthes [32] y las babosas marinas del Orden Sacoglossa.

Los sacoglossanos son un Orden de moluscos los cuales se caracterizan por tener un aparato oral en forma de sierra [106, 199, 208, 231]. Con esta boca tan particular realizan punciones en sus algas presa, que generalmente son algas sifonáceas, particularmente cenocitos, que son grandes células multinucleadas [80, 97, 199, 208, 231]. Una vez realizada la punción, estos moluscos comúnmente conocidos como babosas, comienzan a succionar el contenido celular de las algas, lo que permite que su alimento llegue casi intacto a su intestino y les ha valido el apodo de «babosas chupa sabia» (*sap-sucking sea slugs* en inglés) [28, 46, 58, 80, 97, 103, 106, 141, 177, 199, 208].

Entre este grupo de babosas marinas destaca una especie en particular por su capacidad de retener los cloroplastos (o cleptoplastos) hasta el final de su ciclo de vida. Esta especie es *Elysia chlorotica*, la cual tiene una semejanza morfológica con una hoja de color verde oscuro [54, 83, 127, 200]. Este parecido se da gracias a que presentan unas prolongaciones dorsales, llamadas parapodios, que asemejan el contorno de una hoja [80], un sistema digestivo visible que se ramifica, de forma que recuerda una nervadura [63, 80, 94, 97], y un color verde a causa de los cloroplastos retenidos [29, 77, 80, 127, 159, 177, 201].

No obstante, en este caso de cleptoplastia la babosa no es la única que llama la atención sino, que el alga alimento también tiene sus particularidades. El alga identificada como *Vaucheria litorea*, la cual pertenece a la Clase Xanthophyceae, se caracteriza por presentar cloroplastos secundarios derivados del linaje rojo, rodeados por cuatro membranas [35, 80, 84, 94, 100, 102, 111, 113]. En conjunto, estos dos organismos forman una de las interacciones más particulares, debido a que la retención de los cloroplastos permite que *E. chlorotica* sobreviva sin necesidad de alimentarse durante toda su vida adulta y dependiendo exclusivamente de la fotosíntesis [54, 65, 70, 83, 109, 167, 200].

Sin embargo, debido a que son necesarios factores codificados en el núcleo de plantas y algas para la actividad fotosintética [54, 63], surge la duda de cómo es que la fotosíntesis se mantiene activa en *E. chlorotica* en ausencia del núcleo algal [54, 115, 127, 131, 148, 174, 200]. Para explicar este fenómeno se han planteado distintas propuestas, como: cloroplastos con autonomía genética [29, 54, 200]; elementos algales (como DNA, RNA o proteínas) que prevalearan en el interior de la babosa por un largo periodo de tiempo [29, 54, 115, 200]; y la transferencia horizontal de genes (THG) de origen algal al núcleo del animal [54, 70, 115, 200].

En esta tesis se explorará la THG como posible explicación al fenómeno de la cleptoplastia en el sistema *Elysia-Vaucheria*. Esto se realiza, principalmente, porque los resultados que han explorado esta posibilidad no son concluyentes

e incluso se contraponen [53, 54, 57, 65, 70, 77, 83, 94, 97, 109, 114, 127]. Aunado a esto, hasta el 2019, las bases de datos públicas, para la exploración con métodos bioinformáticos, se limitaban al genoma del cloroplasto de *V. litorea* y de la mitocondria de *E. chlorotica*, publicadas por [127], unos cuantos transcritomas [35, 83, 94] y una base de datos de la secuenciación de baja cobertura del genoma nuclear de huevos [70] de *E. chlorotica*. Sin embargo, en el año ya mencionado Cai y cols. [28] publicaron la primer base de datos completa del genoma nuclear de *E. chlorotica*, abriendo una nueva posibilidad de exploración de la THG en este sistema.

Como hipótesis, se apoya la presencia de genes de origen algal en el genoma nuclear de *E. chlorotica*. Para poder comprobarlo, se utilizó la metodología bioinformática de búsquedas comparativas usando BLASTn, la base de datos del genoma plastidial de *V. litorea* generada por Rumpho y cols. [127] y la base de datos generada por Cai y cols. [28] del genoma nuclear de *E. chlorotica*. Una vez obtenido los resultados de estas búsquedas, se de terminaron la complejidad y posible actividad dentro del molusco, con base en descripciones en la literatura de los genes y sus respectivos productos.

Capítulo 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Planteamiento del problema

La fotosíntesis en animales es un fenómeno presente en numerosos Phyla del Reino, el cual le confiere al hospedero la capacidad de aprovechar la fijación del carbono [37, 99, 123, 176, 177] desde una mixotrofia [118, 176], hasta ser completamente autótrofo [28, 29, 35, 41, 77, 80, 83, 96, 109, 127, 167, 177]. Este fenómeno se puede presentar por dos mecanismos, la fotosimbiosis y la cleptoplastia.

La simbiosis con cloroplastos, o cleptoplastia, es el fenómeno en el cuál un depredador retiene los cloroplastos del alga de la que se alimenta [65, 70, 82, 109, 113, 135, 141]. Este mecanismo por el cual un animal es capaz de aprovechar la fotosíntesis, a diferencia de la fotosimbiosis, sólo se puede encontrar entre las babosas de mar del Orden Sacoglossa [59, 63, 80, 82].

Estas babosas de mar tienen como sinapomorfía un aparato oral de rádula uniseriada con el cual realizan punciones en las algas de las cuales se alimenta y posteriormente succionar el contenido celular de estas [58, 80, 97, 106, 141, 177, 208]. A consecuencia de esto, organelos como núcleo, cloroplastos, mitocondria, citoplasma, etc. llegan intactos al sistema digestivo de los moluscos [28, 58, 106, 141, 177, 199, 208]. Gracias a esto, en distintas especies de Sacoglossanos son capaces de retener intracelularmente a los plastos por medio de fagocitosis ([29, 35, 65, 77, 80, 86, 94, 114, 115, 127, 159, 167, 174, 177, 200, 201]).

Sin embargo, esta retención no tiene la misma duración entre las distintas especies de babosas. Debido a este gradiente de duración distintos investigadores han realizado clasificaciones al respecto. La clasificación aquí considerada es la realizada por Clark, Jensen y Stirts 1990 [220], dando un total de 5 nive-

les y tomando en consideración las clasificaciones taxonómicas de Jensen 1990 [220] y de Christa y cols. 2014 [58]. No retenedoras, retenedoras no funcionales, retenedoras de corto plazo (Hasta un mes), retenedoras de mediano plazo (Hasta tres meses) y retenedoras de largo plazo (Más de tres meses). Las tres especies que son capaces de retener plastos a largo plazo son *Plakobranchus ocellatus* [58, 111, 134], *P. ianthobapsus* [82, 134], y la especie a estudiar en esta tesis, *Elysia chlorotica* [58, 94, 97, 111, 134].

E. chlorotica es una especie que llama la atención ya que su morfología asemeja mucho a la de una hoja verde oscuro [54, 83, 127, 200], presentando parapodios que dibujan la silueta [80], un sistema digestivo ramificado que asemeja a la nervadura [63, 80, 94, 97] y una gran densidad de cloroplastos en este sistema digestivo [54, 83, 127, 200]. Sin embargo la capacidad que le asemeja más a una hoja es la retención fotosintética que dura más de nueve meses y le permite sobrevivir en ausencia de algas alimento prácticamente toda su historia de vida [28, 54, 63, 77, 80, 82, 97, 109, 114, 115, 127, 159, 167, 185].

Esta cleptoplastia de largo plazo la realiza *E. chlorotica* con los cloroplastos del alga *Vaucheria litorea* [28, 35, 38, 70, 86, 94, 127, 139, 174, 177, 200], los cuales son retenidos en contacto directo con el interior de las células del animal, estando rodeada de sólo dos de las cuatro membranas que le rodea en el alga [54, 115, 127, 131, 148, 174, 200], pero sin multiplicarse dentro del nuevo hospedero [54, 63, 77, 86, 127, 174]. Esta alga es indispensable para el molusco ya que esta es su hábitat [80, 94, 159, 167, 177], fuente de alimento [94, 115, 174, 177, 200] y un factor fundamental para desencadenar la metamorfosis de la babosa [29, 35, 80, 94, 96, 127], lo que vuelve a la relación una endosimbiosis obligada y persistente.

V. litorea es un alga heteroconta cenocítica, lo que la transforma en una gran célula multinucleada, con morfología filamentosa [80, 97]. Esta alga posee plastos secundarios de linaje rojo [35, 80, 84, 94, 100, 102, 111, 113], los cuales están envueltos de cuatro membranas plastidiales [80, 94, 97, 100, 115, 127, 148, 200]. Al igual que todos los cloroplastos, no codifican todas las proteínas necesarias para realizar fotosíntesis, de hecho, estos codifican sólo 139 proteínas, muchas menos de las necesarias para la fotosíntesis [54, 70, 86, 96, 113, 114, 167, 174]. Lo que levanta la dudas sobre la manera en que estos plastos se mantienen fotosintéticamente activos dentro de la babosa.

Para resolver esta incógnita se han planteado múltiples explicaciones siendo una de ellas, la Transferencia Horizontal de Genes [54, 70, 115, 200], que es el intercambio no sexual de material genético [22, 97], entre *Elysia chlorotica* y *Vaucheria litorea*. Esta hipótesis ha sido ampliamente discutida, habiendo tanto estudios que afirman que este fenómeno ocurre en el sistema de simbiosis [54, 65, 77, 83, 109, 114, 127, 139, 167, 201], como estudios que afirman lo contrario [53, 57, 70, 94, 97]. Aunque, curiosamente, ambas ideas se han permeado en investigaciones que no están especializadas en el tema [20, 29, 96, 113].

Como métodos de exploración de la THG en el sistema *Elysia-Vaucheria* se han utilizado métodos experimentales como PCR, *western blot*, secuenciación de RNA e hibridación fluorescente *in situ* [28] y métodos bioinformáticos como estudios de similitud [83, 177]. Sin embargo, la cantidad de bases de datos públicas, para la exploración con métodos bioinformáticos, producto de estas investigaciones son escasas, viéndose limitada al genoma del cloroplasto de *V. litorea* y de la mitocondria de *E. chlorotica*, publicadas por Rumpho y cols. en 2008 [127], unos cuantos transcriptomas [35, 83, 94] y una base de datos de la secuenciación de baja cobertura del genoma nuclear de huevos [70] de *E. chlorotica*. Sin embargo, Cai y cols. en 2019 [28] publicaron la primera base de datos de un borrador de ensamblado genómico nuclear de *Elysia chlorotica*, lo que permite la investigación independiente de este genoma, aunque aún falta una base de datos del genoma nuclear de *V. litorea*.

Con el trasfondo de resultados no concluyentes sobre la THG en el sistema *Elysia-Vaucheria* [53, 54, 57, 65, 70, 77, 83, 94, 97, 109, 114, 127, 139, 167, 201], teniendo como principal referencia a favor de la THG el estudio de Pierce y cols. en 2012 [83] y el de Bhattacharya y cols en 2013 [70] en contra, y con la reciente aportación de Cai y cols. en 2019 [28], se propone la exploración del genoma nuclear de *Elysia chlorotica* buscando la presencia de genes transferidos horizontalmente desde el genoma plastidial de *Vaucheria litorea* usando como consulta la base de datos publicada por Rumpho y cols. en 2008 [127] para así poder aportar a resolver la pregunta ¿Hay secuencias genéticas en el genoma nuclear de *E. chlorotica* coincidentes con las del cloroplastos de *V. litorea*, detectables por medio de búsquedas con BLAST? En congruencia con la pregunta, este estudio se basa en una metodología bioinformática extrínseca de comparación de secuencias usando como herramienta principal el programa BLAST, ya que ha sido usado previamente para explorar la THG en este sistema [70, 83, 94, 127], complementado con búsquedas bibliográficas para el análisis de los resultados obtenidos.

1.2. La fotosíntesis en animales

La fototrofia es el proceso por el cual organismos como plantas, algas y algunas bacterias transforman la energía proveniente de fotones en energía electro-química almacenada en moléculas orgánicas complejas y aprovechable por sus células [48, 213]. Existen dos tipos de fototrofia; la basada en rodopsina y la basada en clorofila, o simplemente fotosíntesis, pero esta tesis se centrará exclusivamente en la fotosíntesis. Los organismos fotosintéticos son capaces de fijar CO_2 o el anión bicarbonato (HCO_3^-), transformándolo en azúcares aprovechando la energía del sol y liberando oxígeno molecular (O_2) al ambiente en el proceso, como producto de deshecho, haciendo a esta una fotosíntesis oxigénica [48].

Con el surgimiento de la fotosíntesis oxigénica, ocurrió la oxidación de la atmósfera hace al menos 2.35 mil millones de años modificando el comportamiento de la tierra al generar la capa de ozono, siendo uno de los factores determinantes en el surgimiento de la vida compleja en la tierra, comenzando con los eucariontes. Aún no se sabe con certeza cuáles fueron los primeros organismos que presentaron la fotosíntesis oxigénica y, en consecuencia, causaron la gran oxidación de la atmósfera, habiendo un fuerte debate entre si fueron las cianobacterias o algún ancestro desconocido de estas mismas [48]. Esto es debido a que el registro fósil de cianobacterias conocido es de hace aproximadamente 1.9 mil millones de años, al menos 450 millones de años después [48]. Pero si algo tenemos más claro es que gracias a las cianobacterias, así como a las α -proteobacterias, se generaron dos de los organelos más importantes, los cloroplastos y las mitocondrias respectivamente, por medio de los eventos de endosimbiosis seriada que dieron origen a los eucariontes, dando los primeros pasos de la vida compleja sobre la tierra [47, 48, 50, 55, 97, 115, 127, 176, 186, 197, 200, 213].

La endosimbiosis que dio origen a los cloroplastos, se estima que ocurrió sólo en una ocasión hace entre 1.6 y 1.2 mil millones de años. El consenso actual nos dice que un organismo tipo eucarionte, heterótrofo obligado capaz de realizar endocitosis, incorporó en su interior a un procarionte fotosintético en una relación simbiótica. Esta relación generó que la bacteria fuera reduciendo su genoma por medio de un proceso llamado «Transferencia Horizontal Endosimbionte» (THE), el cual es el proceso de transferencia de genes no sexual de un endosimbionte a su hospedero y que tiene como consecuencia una reducción en el genoma del primero. Lo que modificó su biología, acoplando su metabolismo y regulación genética con la de su hospedero, hasta convertirse en la de un organelo como se entiende hoy en día [25, 33, 36, 40, 66, 105, 115, 116, 127, 128, 180]. Esta primera endosimbiosis de un organismo fotosintético, fue uno de los mayores eventos en la historia de la vida y dio origen al linaje de Archaeplastida, que es el grupo que contiene la mayor diversidad de organismos fotosintéticos en la actualidad, estando integrado por los tres grandes linajes de endosimbiosis primaria: Glaucophyta, Rhodophyta (Algas rojas) y Viridiplantae (Algas verdes y plantas) [33, 40, 97, 105, 115, 125, 127, 128, 147, 149].

A pesar de que la endosimbiosis de una cianobacteria (conocida como endosimbiosis primaria) ocurrió una sola vez, este no es el único evento en donde eucariontes heterótrofos incorporaron cloroplastos en su biología, por medio de endosimbiosis secundaria y terciaria [33, 47]. La endosimbiosis secundaria es el evento en donde un segundo eucarionte incorpora a un organismo unicelular, ya sea de Rhodophyta o Viridiplantae, de forma muy similar a la incorporación de una bacteria en la endosimbiosis primaria [40, 97, 115, 127, 147, 180, 191]. En consecuencia sus cloroplastos están rodeados de tres o cuatro membranas, a diferencia de Archaeplastida que poseen solo dos membranas rodeando a su organelo fotosintético [33, 97, 176, 180]. Incluso algunas

especies que presentan endosimbiosis secundaria (chlorarachniophytas y cryptophytas) poseen un organelo extra llamado nucleomorfo. Se hipotetiza que este organelo es un núcleo residual del eucarionte primario, lo que llevó a una mayor diversificación de algas y a un quimerismo genético en estos organismos [33, 97, 115, 180]. Estas algas con endosimbiosis secundarias agregan al menos dos tercios de la diversidad de algas conocidas [97, 115, 147], presentando dos grupos derivados de Viridiplantae: Euglenophyta y Chlorarachniophyta, y al menos cuatro grupos derivados de Rhodophyta: Heterokontophyta, Haptophyta, Cryptophyta y Dinophyta [40, 115, 147, 191] (Figura 1.1).

Pero estos mecanismos no son los únicos con los cuales un organismo puede aprovechar la fotosíntesis. Hablando de eucariontes, el pensamiento general con el que somos educados nos dice que los animales no fotosintetizan. Posteriormente, en un nivel de educación un poco más avanzado, se nos enseña que los cloroplastos son una de las principales diferencias entre células animales y vegetales, lo cual es cierto al decir que los animales no poseen cloroplastos heredables. Sin embargo, los animales sí que pueden aprovechar la fotosíntesis de forma directa y lo hacen por medio de dos mecanismos: La fotosimbiosis y la cleptoplastia [37, 47, 50, 59, 130].

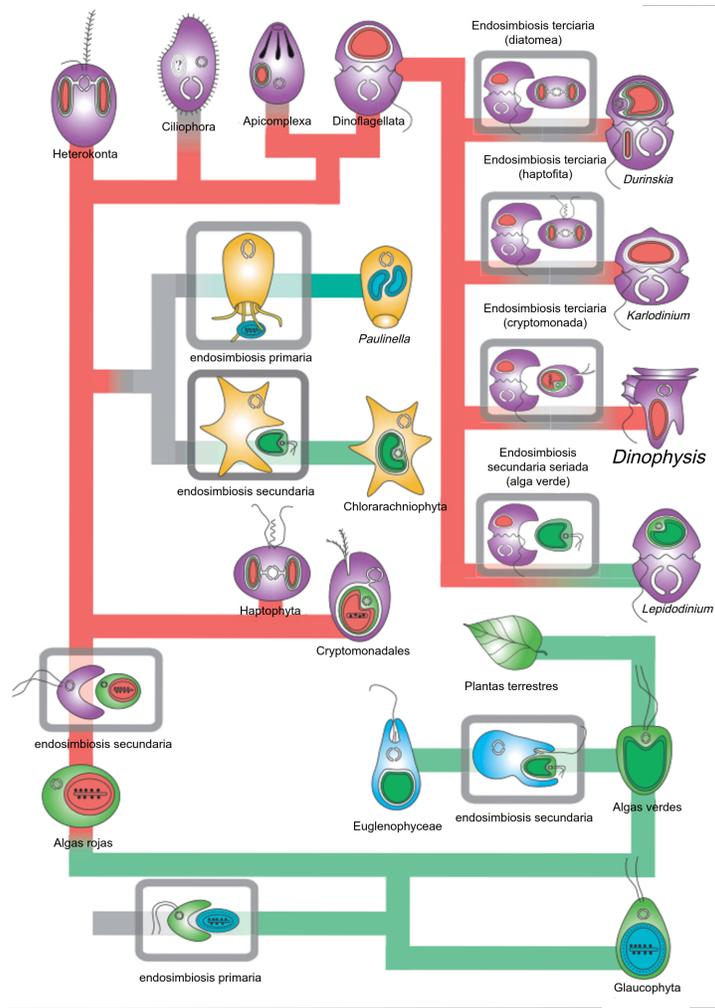


Figura 1.1: **Evolución de los plastos en la historia de los eucariontes.** Se describe el proceso evolutivo de los plastos desde la endosimbiosis primaria hasta distintos ejemplos de endosimbiosis terciaria. En verde se describe el linaje Archaeplastida, hasta el surgimiento de Rhodophyta, y las endosimbiosis posteriores del linaje verde. En rojo se describen las múltiples endosimbiosis posteriores del linaje rojo. En gris se describen pérdidas de plastos, con su posterior readquisición del linaje correspondiente. Modificado de Keeling 2010[105].

1.2.1. Fotosimbiosis

Una simbiosis es una coexistencia biológicamente relevante entre dos o más entidades genéticas que puede ser persistente o intermitente [37, 50, 96, 176, 197]. Este es un fenómeno altamente distribuido en la naturaleza al grado de que todo ser multicelular está conformado, no sólo por su inmenso número de células propias, sino que, parte de su estructura, supervivencia y capacidades dependen profundamente de sus interacciones con organismos tanto macroscópicos como microscópicos. Tal es la relevancia de las simbiosis en la evolución biológica que este fenómeno ha detonado cambios a niveles macroevolutivos, como lo es la aparición de las mitocondrias y los cloroplastos [50, 115, 127, 176, 200].

Estas interacciones son clasificables en distintas modalidades con base en la supervivencia de los simbioses, la ubicación topológica de los mismos, la dependencia de la relación y la persistencia de la asociación [50, 96, 176]. En cuanto a la supervivencia de los simbioses, las modalidades pueden ser tres: Mutualista, en la que la supervivencia de ambos actores se ve favorecida por la interacción; Comensalista, en donde la supervivencia de uno de los simbioses es favorecida mientras que el otro simbiote no es afectado ni positiva ni negativamente; Parasitismo, que es cuando la supervivencia de uno de los simbioses se ve mermada, mientras que el otro aprovecha los recursos del organismo afectado [96, 176]. Sin embargo, esta clasificación no es estática ya que las simbiosis son fenómenos sumamente complejos, los cuales varían y se mueven en un espectro continuo en donde un extremo es el mutualismo y el otro es el parasitismo [50, 96, 176]. Tal es el caso de la fotosimbiosis entre el gasteropodo del Orden Littorinimorpha, *Strombus gigas* con *Symbiodinium*. Esta relación inicia como un comensalismo, en el que el alga da un soporte nutricional a su hospedero en el estado larvario, pero una vez que el caracol alcanza el estadio adulto, la concha impide el paso de la luz y la fotosíntesis, y en consecuencia las algas comienzan a alimentarse del caracol, pasando a una simbiosis parasitaria [37].

En el caso de las modalidades de simbiosis basadas en la relación topográfica entre los simbioses, es relevante destacar que, al existir diferencias de tamaño considerables entre los simbioses, al organismo más grande se le llama hospedero y al (o los) más pequeño se le llama simbiote [50]. Esta clasificación de las simbiosis nos da dos posibilidades; la exosimbiosis y la endosimbiosis [50, 91]. Por una parte, las exosimbiosis son aquellas en donde el simbiote coloniza superficies expuestas al ambiente, como lo son la epidermis de plantas, la piel de los mamíferos, exoesqueletos de artrópodos o los intestinos animales [50, 176]. Mientras que una endosimbiosis ocurre dentro de los tejidos internos del hospedero, o incluso dentro de las células del mismo, y tiende a ser una relación más estrecha entre los simbioses [50] debido a que al mantener una simbiosis con un organismo entero en su interior, el hospedero obtiene,

no sólo, nuevas capacidades metabólicas por parte del simbiote, sino que, también adquiere todo el sistema regulatorio de las mismas [176]. Una consecuencia posible de la endosimbiosis es que, en algunos casos, los simbiotes son transmitidas de forma vertical por medio de semillas o huevos, logrando permanecer en el interior de hospedero por generaciones [50].

Basándonos en la dependencia de la relación, podemos observar a las simbiosis obligadas y las facultativas. El caso de las simbiosis obligadas es simple, si alguno de los dos simbiotes está ausente, el otro perece. Mientras que en el caso de las simbiosis facultativas, los simbiotes son capaces de vivir de forma libre en ausencia de sus simbiote, aunque la supervivencia de los organismos se puede ver mermada [176].

La clasificación con base en la persistencia de la relación, se presenta en dos posibles tipos, persistentes e intermitentes. En el caso de las persistentes, los simbiotes suelen permanecer en contacto durante todo el ciclo de vida de ambos (siendo principalmente endosimbiotes) o al menos tienen contacto constante. En el caso de las simbiosis intermitentes, los contactos tienen menor frecuencia, pero aún así resultan relevantes. Como en el caso de la polinización por insectos, aves o mamíferos [176].

Dentro de la gran diversidad de simbiosis que existen, una de las más fascinantes es la fotosimbiosis en animales. Esta es una interacción, principalmente, de modalidad mutualista, en donde el simbiote aporta al hospedero carbohidratos y otras biomoléculas producidas de forma autónoma durante la fotosíntesis [37, 99, 123, 176, 177]. Mientras que el animal, que se vuelve el hospedero, funge como un ambiente en donde el fotosimbiote se desarrolla y reproduce, por lo que el simbiote forzosamente vive dentro del animal, ya sea como endosimbiote o exosimbiote [37, 97, 99, 123, 167, 176].

Aunque el mutualismo es la modalidad predominante de la fotosimbiosis, esta no es la única en la que se presenta esta simbiosis. También existen sistemas de simbiotes en los que la relación pasa de mutualismo a un aparente comensalismo, como es el caso de la salamandra moteada *Ambystoma maculatum* y la chlorophyta *Oophila amblystomatis*, en donde el alga tiene un rol activo en el desarrollo del embrión de la salamandra, pero una vez que el animal sale del huevo, *O. amblystomatis* se enquistó y pasa de realizar fotosíntesis a realizar fermentación [23, 37, 38]. O el caso de *Strombus gigas* y *Symbiodinium*, ya mencionado.

Este tipo de simbiosis presentan todo un espectro en cuanto al aporte nutricional del simbiote al hospedero que puede ser un aporte facultativo, parcial o total, dependiendo de factores como la etapa de desarrollo del hospedero y de las condiciones ambientales. Este espectro se refleja en la diversidad de modalidades con base a la dependencia y la persistencia de la simbiosis.

Por un lado están las relaciones facultativas e intermitentes sin efectos en el desarrollo, con un aporte facultativo, como es el caso de la esponja marina *Neopetrosia subtriangularis* y su comunidad de cianobacterias unicelulares. Esta esponja es capaz de intercalar su nutrición de fototrofia a heterotrofia dependiendo de las condiciones de luz a las que esté expuesta, manteniendo tasas de crecimiento con poca variación entre modos de nutrición [118, 176]. Mientras que también podemos encontrar simbiosis facultativas e intermitentes con efectos en el desarrollo, como la medusa invertida *Cassiopea xamachana* y *Symbiodinium sp.*. Esta medusa puede sobrevivir en ausencia de los simbiosites pero si no se establece la simbiosis en una etapa temprana en la historia de vida, el hospedero se desarrollará de forma deficiente, a menos que se logre una reinfección [37, 97, 176, 177].

A la vez están las fotosimbiosis persistentes y obligadas en las que, si bien la supervivencia del hospedero depende de la presencia del simbiote, el aporte nutricional también presenta variaciones. En almejas gigantes *Hippopus hippopus* y *Tridacna gigas* el aporte energético de *Symbiodinium microadriaticum* es total en estado larvario, pero conforme el hospedero alcanza la etapa adulta la contribución del simbiote se vuelve parcial al dejar de ser suficiente y es complementada con alimentación por filtrado [42, 118]. En el caso de la relación entre *Symbiodinium* y los corales formadores de arrecifes, la aportación, igualmente, es parcial pero esta puede llegar a cubrir las necesidades energéticas del hospedero hasta en un 95 % [176]. Pero también hay simbiosis con una dependencia total, no sólo energética, sino, nutricional. Este es el caso de la chlorophyta *Tetraselmis convolutae* y el xenacoelomorfo *Symsagittifera roscoffensis* en donde, una vez que el hospedero llega a la adultez y la simbiosis se estabiliza, el hospedero deja de alimentarse y su nutrición depende en su totalidad del aporte del simbiote [176].

Como se puede observar con los ejemplos anteriores, la fotosimbiosis está ampliamente distribuida entre los taxa animales, aunque aparentemente limitada a ambientes acuáticos, estando presente entre los phyla Porifera, Cnidaria, Xenacoelomorpha, Platyhelminthes, Mollusca y Chordata [37, 38, 47, 50, 51, 94, 97, 118, 130, 176] (Figura 1.2). En contraste, la diversidad de simbiosites no es tan amplia, correspondiendo a especies puntuales de sólo a cinco grupos, las chlorophytas, dinoflagelados, diatomeas, bacterias fotosintéticas y cianobacterias [37, 130, 176]. Aunque los dos simbiosites más comunes las chlorophytas del genero *Chlorella* y dinoflagelados del genero *Symbiodinium* [37, 130, 176].

Con respecto a la adquisición del simbiote, este aspecto de la fotosimbiosis se puede categorizar en dos mecanismos, siendo heredados por los progenitores (verticalmente) o recolectando al simbiote del ambiente por medio de la ingesta (horizontalmente) [37, 176], aunque la adquisición de simbiosites se da de forma horizontal en la mayor parte de los sistemas [97].

La adquisición horizontal, generalmente, ocurre por medio de la ingesta

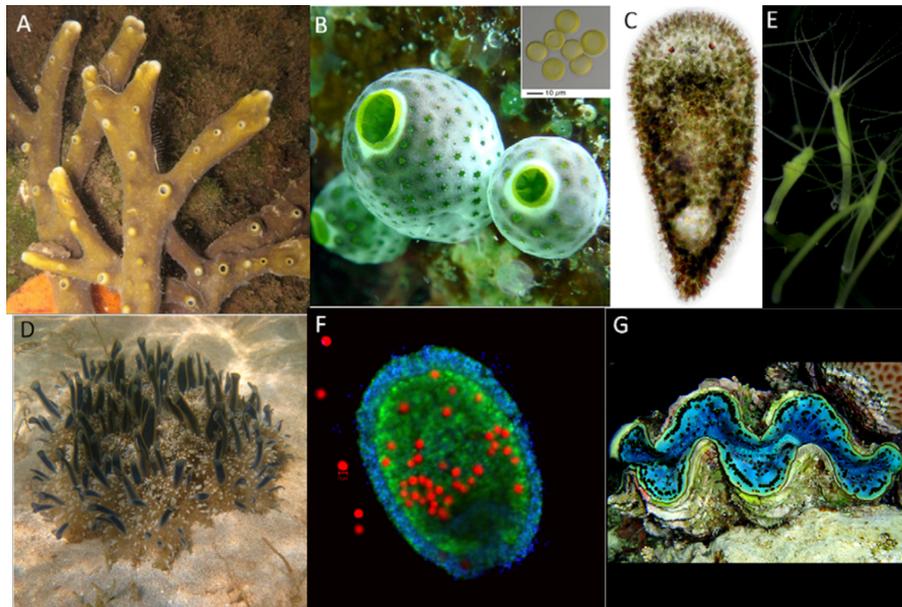


Figura 1.2: Ejemplos de animales que se presentan fototrofia. (A) La esponja *Neopetrosia subtriangularis*; (B) La ascidia *Didemnum molle*; (C) El xenacoelomorfo *Symsagittifera* sp.; (D) La medusa invertida *Cassiopea xamachana*; (E) *Hydra* verde; (F) Larva del coral *Fungia*; y (G) Almeja gigante del genero *Tridacna*. Modificado de Rumpho y cols. 2011[97]

en un estado larvario o juvenil, ya sea alimentándose del alga, como el cenogastrópodo *Strombus gigas*, que establece simbiosis con *Symbiodinium* al alimentarse del alga en estado larvario [37, 176], o incluso ingiriendo otros hospederos, como los nudibrancios que se alimentan de corales o anémonas que hospedan a *Symbiodinium*, pero preservan al simbiote en su interior [37, 130, 150, 176]. Aunque hay casos en los cuales no se conoce de forma directa el como se adquiere el simbiote, siendo este el caso de la simbiosis entre esponjas y cianobacterias, pero análisis moleculares del RNA ribosomal 16S muestran pocos cambios entre bacterias recolectadas de distintas especies de esponjas de distintos ambientes, lo que sugiere que el establecimiento se realiza de forma horizontal, posiblemente por colonización [119].

Por otro lado, la adquisición vertical se puede encontrar entre poríferos, corales, acoelomorfos y ascidias [37] y se da tanto por mecanismos sexuales como asexuales. Organismos como como *Hydra viridis*, que son capaces de reproducirse por gemación, transmiten a su descendencia parte de los simbiosites de forma asexual durante la formación de las gemas [176]. En lo relevante a la reproducción sexual, el simbiote se puede encontrar cubriendo a los huevos, como es el caso de *Symsagittifera roscoffensis* que los cubre con una mucosidad

que contiene, dentro de muchas otras cosas, células de la clorophyta *Tetraselmis convolutae* las cuales son ingeridas por las larvas al eclosionar estableciendo la simbiosis de este modo [176]. O incluso se pueden encontrar dentro de los huevos del hospedero, como la salamandra moteada *A. maculatum* que igualmente cubre a sus huevos de una sustancia gelatinosa de color verde que contiene una alta densidad de chlorophytas *O. amblystomatis* pero en este caso, las algas invaden los tejidos al rededor del canal alimentario de los embriones mientras estos se desarrollan [37, 94, 176].

1.2.2. Cleptoplastia

Históricamente, la «cleptoplastia» ha recibido los nombres de «Simbiosis con cloroplastos», «Retención de cloroplastos» y «Recolección (*farming*) de cloroplastos» son algunos de los nombres que [141, 220]. La cleptoplastia se define como la recepción y retención de cloroplastos provenientes del alimentarse de una alga [65, 70, 82, 109, 113, 135, 141], presentando características tanto de depredación, como de fotosimbiosis [37]. Como consecuencia, todos los casos de cleptoplastia son relaciones que tienen un periodo de tiempo limitado, al no heredar los cloroplastos a la siguiente generación, siendo degradados en el organismo que los ingirió, en las relaciones más efímeras y muriendo con el hospedero, en el caso más longevo [40, 113].

Aunque en la definición no se establece de forma estricta el aprovechamiento de productos de la fotosíntesis (fotosintatos) por parte del hospedero, e incluso la cleptoplastia es prescindible en algunas especies, este aprovechamiento permite al hospedero aumentar la velocidad a la que se desarrolla o hasta desarrollarse en su totalidad [116]. Debido a esto, la dependencia y persistencia del «robo» de cloroplastos se presenta en distintas modalidades, variando tanto en la duración como en el aprovechamiento de fotosintatos. Siendo el tipo de relación más superflua la que dura unos cuantos días, sin aprovechamiento de los fotosintatos y restaurando constantemente los plastos por medio de la ingesta. Y la más vital en la que la relación afecta el desarrollo del hospedero, se establece de por vida, se cubren todas las necesidades del animal y se elimina la necesidad de la heterotrofia [111, 135, 141, 177].

A pesar de las similitudes con la fotosimbiosis, debido a que la relación es exclusivamente con los organelos y no con un organismo, hay discusión sobre si la cleptoplastia puede ser considerada como una relación simbiótica o no [177]. Pero, retomando la definición de simbiosis «organismos de distintas especies que mantienen una relación a largo plazo» de Bary (1978) (citado en Melo Clavijo y cols. 2018 [37]), expandiéndola con la definición de endosimbiosis de Trench (1975): «La coexistencia de dos genomas con un origen evolutivo divergente en un mismo ambiente citoplasmático» y resaltando que una simbiosis, en lo general, «no depende de que ambas partes sean benefi-

ciadas» según Douglas (1994) (citado en Rumpho y cols. 2008 [177]) se puede afirmar que la asociación intracelular entre un cloroplasto algal y organismos heterótrofos es una relación simbiótica [177].

Si bien la fotosimbiosis es el mecanismo de aprovechamiento de la fotosíntesis con mayor distribución en el reino animal, la cleptoplastia no se presenta en tantos grupos, estando limitado a tres phyla: Rotifera [141, 232], Platyhelminthes [32] y Mollusca [32, 47, 111, 141, 220]. Sin embargo, la mayor diversidad de organismos capaces de realizar cleptoplastia se encuentra entre protistas, que junto a la mixotrofia, son los mecanismos por los que los protistas heterótrofos son capaces de realizar fotosíntesis. Entre los protistas, el robo de plastos está presente entre dionoflagelados [32, 111, 116, 135, 141, 176], ciliados [32, 40, 111, 116, 141, 176] y foraminíferos [32, 40, 111, 116, 135, 141, 176], donde presentan particularidades, entre las cuales destaca el robo de plastos y la cariocleptia.

En cuanto a la diversidad de los plastos en la cleptoplastia, esta resalta debido a que la mayoría de los plastos provienen de linaje rojo, particularmente de las Cryptophytes, que poseen cloroplastos secundarios o complejos, mientras que aquellos derivados del linaje verde sólo representan un 11 % de las especies cleptoplásticas [116]. Un ejemplo claro de esto son los dinoflagelados capaces de realizar cleptoplastia. En este grupo el 76 % de las especies incorporan plastos de cryptophytes manteniendo el nucleomorfo, el cual parece dar estabilidad a los cleptoplastos, y las cuatro membranas que los envuelven [116].

Con respecto a la historia del estudio de la cleptoplastia, esta se remonta a 1876 [59, 63, 80, 82], aunque el término se acuñó hasta hasta 1986, mezclando las palabras Kleptis (κλεπτης), que significa «ladrón», y plasto [225]. Sin embargo, a pesar de presentar más de un siglo de estudios, esta área aún tiene mucho campo por explorar. Esto se puede observar con el controversial caso en Rotifera [103, 111, 141, 171, 232], un caso muy reciente en Platyhelminthes [32] y los múltiples temas relacionados a los mecanismos que le subyacen y que aún se estudian en el Orden Sacoglossa, el grupo más estudiado [23, 47, 82-84, 127].

El Orden Sacoglossa, perteneciente al phylum Mollusca, es un grupo monofilético bien diferenciado de otros clados de opisthobranchia [199, 208]. La sinapomorfía que identifica al grupo es su aparato oral, el cual consiste en una rádula uniseriada [106, 199, 208, 231], con la cual realizan punciones en sus presas, para posteriormente succionar el contenido de las mismas [58, 80, 97, 106, 141, 177, 208], lo que les ha valido el mencionado apodo «babosas chupa sabia» [46, 80, 103]. Este modo de alimentación, hace que la mayoría de las especies se alimenten de algas sifonáceas [199, 208, 231], lo que le da al Orden un característico color verde presente en, al menos, un 82 % de las especies del grupo [177]. Aunque también existen unas pocas especies que se alimentan de pastos marinos, diatomeas o incluso huevos de otros opistobranchios [106, 208,

231] (Figura 1.3).

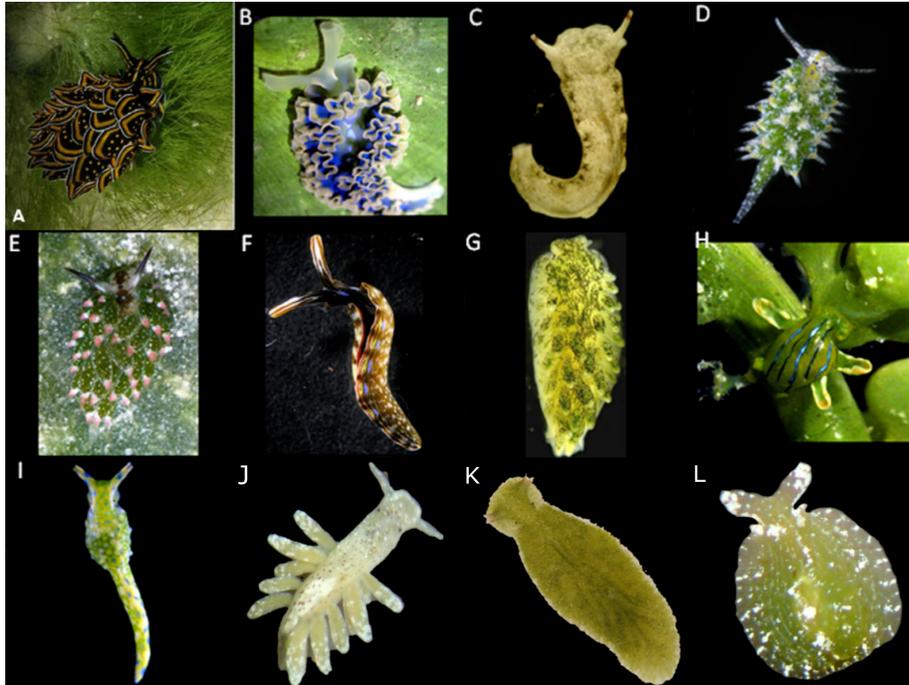


Figura 1.3: Ejemplos de organismos del Orden Sacoglossa. (A) *Cyerce nigricans* (Modificado de Händler y cols. 2009[111]) ; (B) *Elysia crispata*; (C) *Plakobranchus ocellatus*; (D) *Costasiella ocellifera*; (E) *Thuridilla gracilis*; (F) *Costasiella kurishimae*; (G) *Alderia modesta* (H) *Lobiger viridis*; (I) *Oxynoe antillarum* (B-I Modificados de Rumpho y cols. 2011[97]) ; (J) *Ercolania fuscata*; (K) *Bosellia mimetica*; y (L) *Elysia marcus* (J-L Modificados de Laetz y Wägele 2017[43]).

A causa de que la succión que realizan, el contenido celular de sus presas llega sin mayor perturbación a su sistema digestivo, en donde es degradado [58, 70, 82, 94, 106, 177, 199, 208]. A excepción de las especies que digieren selectivamente el núcleo, citoplasma, organelos, e incluso las membranas exteriores de algunos cloroplastos, y retienen fagocíticamente a los organelos fotosintéticos en las células del lumen intestinal; solo una capa celular debajo de su epidermis [28, 58, 106, 141, 177, 199, 208], dando inicio a la cleptoplastia.

Sin embargo, a pesar de que la rádula uniseriada, la alimentación por succión y el color verde sean características ubicuas entre los sacoglossos, la cleptoplastia no presenta la misma distribución en el Orden [200]. La cleptoplastia, con un símil a la fotosimbiosis, es un gradiente que va desde la digestión inmediata de los cloroplastos, con la retención sólo de los pigmentos, hasta la retención permanente de los plastos durante toda la historia de vida

del molusco [54, 65, 70, 83, 109, 167, 200].

Debido a este gradiente, algunos investigadores han realizado distintas categorizaciones de la cleptoplastia, yendo desde tres niveles de retención [58], hasta 8 niveles [134]. Pero la clasificación, que a continuación se describe, presenta cinco niveles, al tener en cuenta la presentada por Pierce y cols. en 2012 [82] e incluyendo el primer nivel de Clark y cols. en 1990 [220]. Esto se hace dando ejemplos basados en las clasificaciones taxonómicas de Clark y cols. en 1990 [220] y de Christa y cols. en 2014 [58].

0) No retenedoras. En este nivel los organismos que digieren antes o justo después de la fagocitosis, por lo que no presentan pigmentos en el tracto digestivo. Ejemplos de este nivel son los Sacoglossanos con concha del Suborden Oxynoacea [82, 111, 217], como *Oxynoe antillarum*, que muestra una coloración verde pero no presenta retención alguna [58], el genero *Ascobulla* y las especies excavadoras del genero *Volvatella* [220].

1) Retenedoras no fotosintéticas. Aquí se encuentran las babosas que son capaces de mantener cloroplastos de forma intracelular en un periodo de 2 a 24 horas de su lumen intestinal, pero que no presentan actividad fotosintética, aunque la exposición a la luz retrasa la degradación de los plastos por pocas horas [220]. En este nivel, también se encuentran babosas del grupo Oxynoacea, como *Volvatellas* epifaunales y miembros de las familias Lobigeridae, Oxynoidae, y Juliidae. Aunque también encontramos especies del Suborden Placobranchacea como *Ercolana coerulea*, perteneciente a Limapontioidea (las babosas con ceras) y *Elysia catulus*, perteneciente a Plakobranchoidea (Las babosas con parapodios) [134, 220].

2) Retención fotosintética de corto plazo. Los plastos presentan actividad fotosintética medible, pero esta decae rápidamente cuando se somete a los moluscos a inanición, llegando a permanecer desde un día hasta un mes. Esta longevidad sugiere la presencia de un fagosoma no digestivo modificado pero el plasto consume sus recursos y se degrada sin ser capaz de mantenerse activo, al no tener ningún soporte de la célula hospedera. La cleptoplastia fotosintética sólo está presente en las babosas miembros del Suborden Plakobranchoidea, siendo capaces de retener exclusivamente a los cloroplastos del alga de la que se alimentan [82, 97, 111]. Algunos plakobranchoideos que presentan esta modalidad son *Alderia modesta* (menos de un día), *Caliphylla mediterranea* (hasta una semana) y *Elysia tomentosa* (menos de un mes) [134].

3) Retención fotosintética de mediano plazo. Esta simbiosis tiene una duración de hasta tres meses, sugiriendo que, por lo menos, ha sucedido una integración parcial del plasto dentro de la biología celular del hospedero, al igual que en la retención fotosintética de largo plazo. Las especies que presentan esta modalidad pertenecen tanto a Placobranchacea como a Limapontioidea, *Elysia crispata* [58, 82, 111, 134, 220], *E. timida* [57, 82, 111, 134], *E. viridis*

[82, 134], *E. clarki* [82] *Costasiella ocellifera* [58, 220].

4) Retención fotosintética de largo plazo. Finalmente, esta categoría es de las más estudiadas y controversiales ya que los mecanismos que permiten que la asociación permanezca hasta un año, aún no son claros y existe mucho debate al respecto [94, 97]. Las especies que se encuentran en esta categoría son *Plakobranchus ocellatus* [58, 111, 134], *P. ianthobapsus* [82, 134], y la especie que más destaca, *Elysia chlorotica*, al presentar el mayor tiempo de cleptoplastia funcional (arriba de 9 meses) [58, 94, 97, 111, 134].

1.2.3. *Elysia chlorotica* y *Vaucheria litorea*

Elysia chlorotica es un sacoglossano perteneciente a la superfamilia Plakobranchoidea, las babosas con parapodios [56, 58, 67, 68, 103, 111, 169] y una de las tres especies de sacoglossanos que realiza cleptoplastia fotosintética de largo plazo [58, 94, 97, 111, 134]. Este molusco habita en ciénagas salobres de las áreas templadas del noroeste del Atlántico [100, 115, 177], más específicamente en la costa este de Estados Unidos [28, 177], y llama mucho la atención debido a que su morfología asemeja a la de una hoja de color verde oscuro [54, 83, 127, 200]. Esto es debido a múltiples características, como la alta densidad de cloroplastos presentes en su sistema digestivo [54, 83, 127, 200], los parapodios que dibujan el contorno de la hoja [80] y su sistema digestivo altamente ramificado que asemeja una nervadura, lo que, al igual que en una hoja, permite una buena relación de área-volumen, facilitando la captura de luz al realizar fotosíntesis [63, 80, 94, 97] (Figura 1.4).

Pero la característica que le asemeja más a una hoja y lo que le vale el apodo de «Babosas marinas cargadas por el sol» (*solar-powered sea slugs*, en inglés) [177] es su capacidad de mantener activa la fotosíntesis por medio de la retención de los cloroplastos, los cuales son incorporados por fagocitosis y retenidos en las células epiteliales que recubren su sistema digestivo [54, 63, 77, 80, 82, 109, 114, 115, 127, 159, 167] y en contacto directo con el citoplasma del hospedero [80, 94, 174, 200].

Dentro del molusco, los plastos permanecen fotosintéticamente activos entre 8 a 10 meses en ausencia del núcleo algal [28, 54, 63, 77, 80, 82, 97, 109, 114, 115, 127, 159, 167, 185], con un récord de retención de 14 meses [28, 94, 97, 102, 142], lo que le permite sobrevivir en ausencia de cualquier suministro de alimento externo de alimento algal [28, 29, 35, 77, 80, 82, 109, 127, 167, 177], por medio de gotas lipídicas que almacena como reserva energética [35, 63] y del carbono fijado en forma de azúcares [35], que es aprovechado en la creación de compuestos defensivos y del copioso moco que les protege [177].

Estos cloroplastos los obtiene al alimentarse de las algas del genero *Vaucheria*, *V. litorea* y *V. compacta*, con las cuales tiene una relación específica y obligada

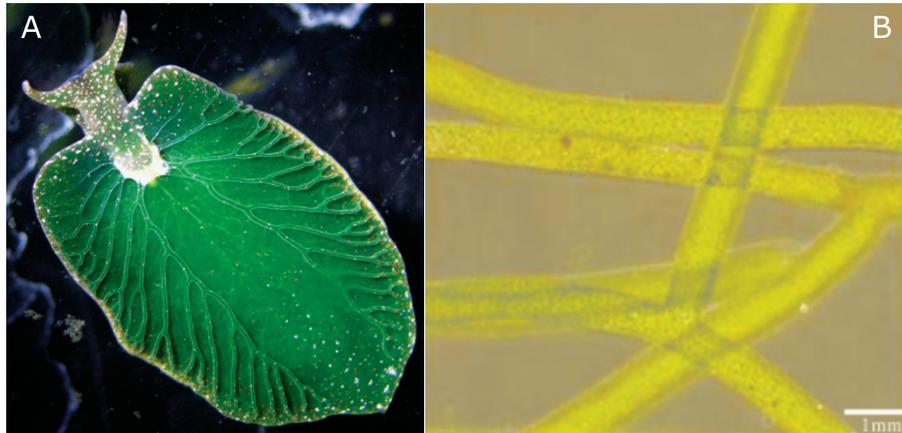


Figura 1.4: Componentes del sistema *Elysia-Vaucheria*. (A) *Elysia chlorotica* (Modificado de Cai y cols. 2019[28]) ; (B) *Vaucheria litorea* (Modificado de Rumpho y cols. 2006[148]).

[28, 29, 35, 38, 70, 86, 97, 127, 139, 174, 177, 200], aunque en el presente trabajo se hará referencia principalmente a *Vaucheria litorea* ya que es la especie más estudiada de las dos. Esta relación inicia desde el primer momento de existencia de los moluscos ya que estas algas no sólo son su fuente de alimento [94, 115, 174, 177, 200], sino, que también son su hábitat [115, 177] y el espacio en donde depositan sus huevos [80, 94, 159, 167, 177] en los meses de primavera y verano [80, 159, 177]. Estos huevos carecen de cloroplastos, ya que no son heredados de forma vertical [54, 77, 80, 114, 127, 174, 177, 200, 201] y les tomará de 7 a 8 días en eclosionar [177]. Una vez que la larva veliger eclosiona, esta se adhiere a las algas [96, 167] y comienza a alimentarse de microalgas presentes en el ambiente sin mayor distinción [65, 80, 94, 177]. Pasados de 7 a 46 días, la larva comienza a alimentarse de *Vaucheria*, lo que permite la metamorfosis que ocurre en la columna de agua [35, 77, 94, 96, 167]. Con la metamorfosis iniciada, la babosa juvenil comienza la retención de los plastos alimentándose durante seis días más del alga, que es el tiempo necesario para que la retención se vuelva permanente [80]. Pasado este tiempo, la cleptoplastia se vuelve permanente y es restablecida en esta nueva generación [29, 65, 80, 101, 115, 174, 200] y el molusco continúa su metamorfosis, desarrollando las características que le asemejan a una hoja como lo son los rinóforos, los parapodios y su sistema digestivo ramificado [80]. Ya con la cleptoplastia permanente, los cloroplastos incorporados pueden mantener el desarrollo y supervivencia de la babosa por el resto de su vida [35, 80, 94, 96]. Pero, si el molusco no se alimenta de *Vaucheria*, la babosa no podrá completar su metamorfosis ni desarrollarse en adulto [29, 35, 80, 94, 96, 127] (Figura 1.5).

Finalmente, entre la primavera tardía y verano, a los 9 o 10 meses de edad

[80, 148, 159, 177], los adultos ponen huevos y, de forma sincrónica, la población adulta completa muere [96, 148, 159, 177]. Durante esta mortandad, todas las babosas adultas presentan una forma exógena del retrovirus endógeno presente en su genoma [46, 80, 96, 148, 159], el cual regula las poblaciones de sacoglossanos de forma cíclica [46, 159, 177, 185]. Aunque se ha propuesto que estos virus pueden estar involucrados en la cleptoplastia, siendo el vehículo de la posible transferencia horizontal de genes, definida como la transferencia no sexual de genes entre dos entidades biológicas [46, 54, 96] (Figura 1.5).



Figura 1.5: **Ciclo de vida de *E. chlorotica***. Modificado de Rumpho y cols. 2011 [97]. 4 días después de la ovoposición, larvas veliger eclosionan y viven durante aproximadamente 21 días de forma planctónica. Después de este tiempo, y una vez listas para la metamorfosis, las larvas veliger entra en contacto directo con *V. litorea*. Una vez que la larva pasa la metamorfosis a estadio juvenil, se alimenta de forma inmediata del alga y lo continúa realizando durante los siguientes 7 días. Posterior a este periodo de tiempo, la cleptoplastia se vuelve permanente y la alimentación subsecuente ayuda a que la babosa termine su desarrollo, así como a la incorporación de más plastos dentro de sus tejidos. Pasados 9-10 meses, el adulto ya fotosintético se reproduce y ovoposita sobre filamentos de *V. litorea* y toda la generación de moluscos muere de forma sincrónica

Algo a resaltar de la especificidad alimenticia de la babosa es que, a diferencia de la mayoría de los sacoglossanos, que se alimentan de plastos de algas verdes (chlorophyta) cenocíticas de la clase Ulvophyceae [113], *E. chlorotica* se alimenta del alga heteroconta *Vaucheria*, que posee plastos secundarios de li-

naje rojo [35, 80, 84, 94, 100, 102, 111, 113]. Estas algas son cenocitos, lo que las transforman en una gran célula multinucleada, con morfología filamentosa [80, 97] y contiene cloroplastos envueltos en cuatro membranas plastidiales, como muestra de su condición secundaria [80, 94, 97, 100, 115, 127, 148, 200] (Figura 1.4). Al igual que *E. chlorotica*, *Vaucheria litorea* habita en ciénagas del noroeste del atlántico, con una distribución dinámica por parches [80, 215] y presentando periodos de calcificación, lo que dificulta la alimentación de *E. chlorotica* [111] y, en consecuencia, que los animales tengan eventos migratorios de gran escala entre las ciénagas, durante inundaciones de marea [80]. Estas migraciones se dan, además de la escasez de algas, por época reproductiva, búsqueda de nuevos hábitats o en periodos de ovoposición, durante las cuales las babosas utilizan los fotosintatos provistos por los cleptoplastos para mantener sus procesos metabólicos [111].

Pero con este fenómeno tan fascinante y poco común surgen múltiples interrogantes. Por ejemplo, observaciones ultraestructurales indican que las dos membranas exteriores del plasto no son retenidas en el citoplasma de *E. chlorotica* [54, 115, 127, 131, 148, 174, 200], lo que modifica el flujo de proteínas [100] y no hay evidencia de un núcleo vestigial o de alguna estructura tipo nucleomorfo dentro del molusco [86, 115, 127, 148, 174, 200], lo que debería limitar o hasta impedir la fotosíntesis. Aunado a que los cloroplastos de *V. litorea* no se dividen en la babosa [54, 63, 77, 86, 127, 174], a que estos codifican sólo 139 proteínas, muchas menos de las necesarias para la fotosíntesis [54, 70, 86, 96, 113, 114, 167, 174], junto con la constante demanda de proteínas, tanto nucleares como plastidiales, a renovar en la fotosíntesis [70, 113, 167, 201] y la compleja interacción entre el núcleo y el plasto [54, 70, 109, 167, 201] se levantan las interrogantes sobre cómo es que se da el establecimiento inicial y la estabilización de los plastos [63] y cómo es que se mantiene la actividad fotosintética dentro del molusco [54].

Como respuesta a estas interrogantes se han planteado múltiples hipótesis, como lo son, una autonomía genética por parte de los cloroplasto que permiten la producción de forma autónoma todos los recursos metabólicos para realizar fotosíntesis [29, 54, 200], lo cual no es posible; la existencia de productos algales crípticos (p.ej., DNA, RNA o proteínas funcionales) que persistan por mucho tiempo y pueden ser usados por los plastos [29, 54, 115, 200]; que la babosa sea capaz de contribuir de forma parcial al redirigir algunos de estos recursos metabólicos [29, 115] y la transferencia horizontal de genes (THG) esenciales para la fotosíntesis desde el genoma del alga al genoma nuclear del molusco [54, 70, 115, 200]. Siendo esta última la propuesta a explorar en esta tesis y, al mismo tiempo, la más polémica, al haber tanto estudios que afirman que este fenómeno ocurre en el sistema de simbiosis [54, 65, 77, 83, 109, 114, 127, 139, 167, 201], como estudios que afirman lo contrario [53, 57, 70, 94, 97], aunque ambas ideas se han permeado en investigaciones que no están especializadas en el tema [20, 29, 96, 113].

1.3. Transferencia Horizontal de Genes

En el estudio de la Transferencia Horizontal de Genes (THG), la epidemiología ha tenido una gran importancia al haber sido el campo en donde se dieron los primeros reportes de su existencia [64, 81, 132]. Esto se remonta a 1928 con el experimento de Griffith [238]. Este exhaustivo reporte lo realizó durante el estudio de distintos casos de neumonía ocasionados por «neumococos» de tipos I a IV, en el distrito de Smethwick en Inglaterra desde 1920 a 1927. En su experimento, Griffith, exponía a sueros inmunológicos bacterias virulentas S (por la textura Suave de las colonias en placas de Petri con medio sólido), las cuales resultaban en bacterias atenuadas R no virulentas (por la textura Rugosa de las colonias). Durante sus experimentos observó que las bacterias R podían llegar a retornar a la forma S al ser inoculadas dentro de ratones de manera seriada, aunque esto ocurría de forma inconsistente. En un inicio, esto lo atribuyó a que el «antígeno» que causaba la regresión podía estar presente en las bacterias atenuadas pero en cantidades tan pequeñas que no pudiese detonar el fenómeno. Para probar esta hipótesis, Griffith inoculó ratones con bacterias R de los tipos I a IV junto con bacterias muertas de los distintos tipos expuestas a altas temperaturas, en distintas combinaciones.

Como resultado, encontró que al inyectar a los ratones con sólo bacterias S, ocurrió lo esperado, los ratones morían de sepsis a causa de la neumonía, y, al realizar cultivos de bacterias retomadas de los ratones muertos, crecían bacterias de la variedad S. Al realizar el mismo procedimiento pero sólo con bacterias R, los ratones no presentaron la enfermedad y al realizar cultivos resultaban estériles o con colonias R. En un tercer caso, al inyectar el medio con bacterias S muertas por exposición a vapor, los ratones tampoco presentaban la enfermedad y los cultivos resultaban estériles. Sin embargo, al inyectar en conjunto bacterias R con bacterias S muertas, los ratones murieron a causa de neumonía y los cultivos resultantes presentaron bacterias de la variedad S.

Aunado a esto, encontró que las bacterias R perdían todo rastro de las características que les diferencian de un tipo (I, II, III o IV) a otro, por lo que la variedad R es un mismo tipo de bacterias, sin importar el tipo del cual hayan sido atenuadas. Lo que lo llevó a concluir que había una especificidad entre el tipo de bacteria S transformada y a lo que él llamó «sustancia S». Por ejemplo, al inocular un ratón con bacterias R, atenuadas del tipo II, junto con bacterias muertas del tipo III, las bacterias S resultantes eran del tipo III. A esta sustancia S, Griffith la definió como «... una estructura proteica específica del neumococo virulento que permite la producción de un carbohidrato soluble específico...» que «... parece ser necesaria como materia prima para que la variedad R construya la estructura proteica de la forma S...» la cual «... puede ser modificada por el calor de tal manera que la variedad R no es capaz de utilizarla para reconstruir su estructura interna...» [238]. Por lo que, aún sin que existiera la confirmación de que el DNA es la molécula del material genético, se considera al experimen-

to de Griffith como la primera descripción de la THG por transformación.

16 años después de la primera descripción de la THG y con el afán de descubrir cuál era la verdadera naturaleza química de la «sustancia S» o «principio transformante», Avery, MacLeod y McCarty, en 1944 [237], basándose en el experimento de Griffith y en otros trabajos sobre la transformación, comprobaron que el principio transformante pertenece a los ácidos nucleicos, particularmente un ácido desoxirribonucleico[81, 132, 237].

Para esto Avery, MacLeod y McCarty purificaron una sustancia que «... en solución tiene una apariencia usualmente viscosa, opalescente y algo turbia.» y que «En una concentración crítica, que varía de un 0.8 a 1 volumen de alcohol, la sustancia activa se separa en forma de hebras fibrosas que se enredan en la varilla agitadora» de un cultivo de neumococos del tipo III. Para analizar esta sustancia utilizaron pruebas químicas cualitativas, análisis químicos básicos, análisis enzimáticos, análisis serológicos y estudios fisicoquímicos los cuales dieron como resultado que el principio transformante es un ácido desoxirribonucleico.

Aunado a lo anterior y debido a que el factor transformante y los polisacáridos característicos de los distintos tipos de neumococos difieren en su naturaleza química, los autores determinaron que ambas sustancias son necesarias para la formación del tipo específico de neumococo. Ante la evidencia presentada por ellos, y en estudios anteriores, concluyen que los ácidos desoxirribonucleicos tienen distintas capacidades como; la de estimular cambios morfológicos persistentes en el tiempo; determinan actividades bioquímicas en la célula; y que los ácidos desoxirribonucleicos son heredables, ya que los cambios antes descritos permanecen en generaciones posteriores sin la necesidad de agregar más sustancia [237]. Con esto, describieron varias características que hoy están bien estudiadas sobre el DNA, por lo que este estudio es la confirmación de que el ácido desoxirribonucleico es el portador del material genético, y que la sustancia S transferida en el experimento de Griffith es lo que hoy conocemos como DNA.

Con respecto a la conjugación, la primera descripción de este mecanismo se realizó por Lederberg y Tatum en 1946 [81, 132, 236]. Para su experimento, utilizaron dos cepas de mutantes triples de *Escherichia coli*, una presentaba deficiencias en treonina (T-), leucina (L-) y tiamina (B₁-) y la otra en biotina (B-), fenilalanina (ϕ -) y cisteína (C-). Con ellas realizaron mezclas en medio líquido y, una vez que terminaban su curva de crecimiento, eran cultivadas en medios selectivos para las distintas combinaciones de deficiencias nutricionales. Como resultado encontraron una gran variedad de cepas nuevas, que incluyen cepas silvestres, o prototrofas, sin restricciones nutricionales; mutantes simples B₁- y ϕ -; y mutantes dobles B-/L-, B-/T- y B-/B₁-. De forma paralela, realizaron experimentos similares con las triples mutantes pero agregando que una cepa era resistente al fago T1 y la otra susceptible a este. De forma similar, encontraron

bacterias prototrofas tanto resistentes como susceptibles al fago. Para tratar de explicar esta recombinación, realizaron filtrados de los medios de cultivo para determinar si existía algún factor transformante, similar a los experimentos con neumococos. Sin embargo, no consiguieron que se generaran los cambios en las mutantes, lo que les llevó a sugerir que el contacto célula-célula es necesario. Por lo que propusieron que un mecanismo sexual de fusión celular era el que le subyace al fenómeno.

Más adelante, un año después, Tatum y Lederberg [235] enriquecieron su primer reporte con una publicación extendida y mucho más detallada. En este segundo experimento utilizaron la cepa K-12 y, junto con las mismas mutaciones del experimento anterior, añadieron deficiencias nutricionales a metionina (M-), arginina (A-), histidina (H-), ácido 4 - aminobenzoico (Pb-) y prolina (P-) en mutantes cuádruples. En cuanto a sus resultados, y de forma similar a su experimento anterior, al momento en que mezclaron cepas B-/M-/P+/T+ y B+/M+/P-/T- obtuvieron prototrofos a los que designaron como B+/M+/P+/T+. Igualmente, al agregar la resistencia al fago T₁ obtuvieron prototrofos susceptibles (B+/M+/P+/T+/V₁^S) y prototrofos resistentes (B+/M+/P+/T+/V₁^R), ante lo que sospecharon que las cepas prototrofas no podrían haber surgido de forma espontánea, sino que existe un mecanismo que les crea.

Para tratar de explicarlo propusieron dos posibles mecanismos; una recombinación genética y factores transformantes. En cuanto al segundo mecanismo plantearon que estos factores deben ser similares a los del experimento de Griffith, se producen en las células con el estado + y viajan por medio de difusión hacia las células con estado -. Para probar esta hipótesis, cultivaron células B-/M-/P+/T+/V₁^R con filtrados de la cepa B+/M+/P-/T-/V₁^S, para obtener el factor transformante, y como control usaron cultivos mezclados de ambas cepas. Como resultado obtuvieron que ninguna célula protótrofa fue encontrada en los cultivos con filtrados, mientras que en las mezclas de cultivos encontraron a las cepas protótrofas, por lo que optaron por la propuesta del mecanismo de recombinación.

Con el propósito de explorar más la hipótesis de la recombinación genética, realizaron un cultivo mezcla de la cepa B/r con mutaciones A-/M-/P+/T+ y de la cepa K-12 con mutaciones A+/M+/P-/T-, de donde no lograron obtener protótrofos y sugirieron que podrían existir requerimientos genéticos que impidan la recombinación entre mutantes de distintas cepas. Ante lo cual, y buscando seguir cómo se propagan los genes, expandieron la cantidad de genes a recombinar. Para esto, mezclaron la mutante B-/φ-/C-/T+/L+/B₁+ con B+/φ+/C+/T-/L-/B₁- y también a B-/φ-/C-/P+/T+ con B+/φ+/C+/P-/T-, aunque no especifican si son descendientes de la misma cepa. En ambas mezclas encontraron protótrofos en una proporción alta. Sin embargo, encontraron mutantes bastante particulares, como B-/φ+/C+/T-/L+/B₁+, B-/φ+/C+/T-/L+/B₁- y B-/φ+/C+/T+/L+/B₁- en la primera mezcla y B-/φ+/C+/P-/T-

para la segunda. Aunado a esto, encontraron numerosas mutantes que sólo presentaron una deficiencia nutricional pero con variedad en la resistencia o susceptibilidad al fago. Con la evidencia recolectada en este experimento, sugirieron que las formas + eran transferidas de manera independiente por un mecanismo sexual con contacto célula a célula que permiten la segregación y recombinación en una célula nueva, con una distribución probabilística de las características bacteriales, de forma similar a los procesos Mendelianos.

Posteriormente, Freeman en 1951 [234] realizó un estudio sobre la adquisición de virulencia en la bacteria de la difteria *Corynebacterium diphtheriae* (antiguamente conocido como el bacilo de Klebs-Löffler) al exponerla a fagos. En su experimento, expuso a bacterias de *C. diphtheriae* a filtrados de dos fagos distintos (A y B) y realizó cultivos tanto en medio sólido como líquido. Al analizarlos, resultó que las bacterias expuestas al fago A eran lisadas mucho menos que las expuestas al fago B. Con el propósito de determinar si las bacterias infectadas por fagos adquieren virulencia realizó distintos experimentos, de donde el más destacado fue el de inoculados en cuyos. Estos inoculados se dividieron en cuatro combinaciones; bacterias no virulentas con solución salina, como control negativo; bacterias no virulentas con un filtrado que contenían el fago A; bacterias no virulentas con filtrado de fago B; y bacterias virulentas con filtrado de fago B y antitoxina de la toxina de la difteria.

Como resultado, encontró que todos los cuyos inoculados sobrevivieron con excepción de los que fueron inoculados con *C. diphtheriae* y el fago B, los cuales presentaron síntomas típicos de la intoxicación por difteria. Con esto observó que, a diferencia de las bacterias expuestas al fago A, aquellas expuestas al fago B, y no fueron lisadas, presentaban características de la variedad virulenta, y con la mezcla con antitoxina de la difteria, observó que la enfermedad podía ser detenida con el mismo medicamento. Ante esta evidencia, propuso que el fenómeno que estaba presenciando era una transferencia de virulencia desde el bacteriófago hacia *C. diphtheriae* [234], por lo que a este estudio se le considera la primera descripción de la THG por transducción.

Finalmente, 57 años después de la primera descripción de la THG, y con una gran cantidad de evidencia de este mismo fenómeno, Syvanen en 1985 [227] planteó una teoría evolutiva centrada en la «Transferencia de Genes entre especies» (La cual también es llamada como «Transferencia Horizontal de genes» y «Transferencia Lateral de Genes» en el mismo artículo) [22, 227]. En su publicación plantea que la THG no sólo permite que los organismos puedan adquirir capacidades puntuales como la virulencia o la resistencia a antibióticos, sino, que puede detonar cambios morfológicos en eucariontes complejos.

Para que estos cambios puedan ocurrir propone dos momentos muy relacionados al desarrollo de los organismos: las etapas embrionarias y la neotenia. En el caso de las etapas embrionarias, plantea que la similitud de los embriones es lo que facilita el intercambio de genes entre las especies, los cuales serán di-

seminados en el organismo durante el desarrollo de este, con una probabilidad de que el cambio llegue a las células germinales. Por otro lado, plantea que en la neotenia, si bien no es generada a partir de la THG, la expresión de los genes en momentos del desarrollo «alentado» permite que los cambios morfológicos de distintas especies converjan [227]. Con esta publicación Syvanen se convirtió en uno de los primeros autores que plantea que la THG puede tener una gran importancia en la evolución biológica.

En la actualidad, la Transferencia Horizontal de Genes (THG), que también recibe el nombre de Traslado Lateral de genes (TLG) [64, 95, 107], se define como el intercambio no sexual de material genético entre entidades genéticas diferentes [107] por mecanismos distintos a los del flujo de progenitores a la progenie, o de transferencia vertical de genes (TVG) [22, 45, 64, 107]. Esta es una importante fuente de innovaciones biológicas [22, 25, 50, 54, 64, 97, 176] al ser desde un flujo no sólo entre especies cercanas, sino, que llega a ser un intercambio entre dominios del árbol de la vida [25]. Este fenómeno tiene la capacidad de ocasionar desde la adquisición de genes individuales, hasta la incorporación de nuevas rutas metabólicas y generar cambios ante modificaciones ambientales [22, 72, 97], lo que resulta en una evolución reticulada [25].

Si bien los primeros estudios de la THG se dieron en procariontes [97, 234-238] e históricamente se ha pensado como un mecanismo importante entre las bacterias, pero una curiosidad entre los eucariontes [22, 64, 72, 132], la evidencia que ha surgido en las últimas décadas, gracias al incremento en el acceso a tecnologías de secuenciación [97] y al análisis comparativo de secuencias [81], se ha demostrado la presencia de la THG en todos los linajes de la vida, incluyendo a eucariontes complejos como los animales y plantas [22, 64, 72].

Los casos de THG en eucariontes mejor estudiados son los relacionados a la transferencia de DNA mitocondrial desde plantas sin clorofila o epifitas hacia las mitocondrias de sus hospederas, el intercambio de transposones entre dos especies distintas de animales o de plantas, y la presencia de genes de plantas en nematodos que les parasitan [72, 127]. Debido a que estos intercambios ocurren entre especies que interactúan constantemente, la THG se ha planteado como un fenómeno relacionado con las distintas modalidades de simbiosis [72, 97]. Sin embargo, los mecanismos que propician el flujo de material genético pueden variar debido a las barreras físicas que se presentan en cada caso [22, 54, 72, 97].

Ante a la gran cantidad de evidencia reportada a la fecha, en 2010 Martínez-Ezquerro [107]) propuso una clasificación de la THG, dependiendo de las entidades genéticas participantes en el flujo genético y una clasificación de los eventos de THG basada en la naturaleza del material genético adquirido. Su clasificación de la THG se divide en cuatro categorías: THG interespecie, entre individuos de especies distintas; THG intraespecie, entre individuos de la misma especie por mecanismos distintos de la transferencia vertical de genes;

la THG intercelular o intercambio de material genético entre las células de un mismo organismo; y finalmente, la THG intracelular, que ocurre dentro de una misma célula, ya sea por endosimbiontes intracelulares u organelos, hacia el genoma hospedero (Figura 1.6). Siendo este último, el flujo de genes más relevante para esta tesis.

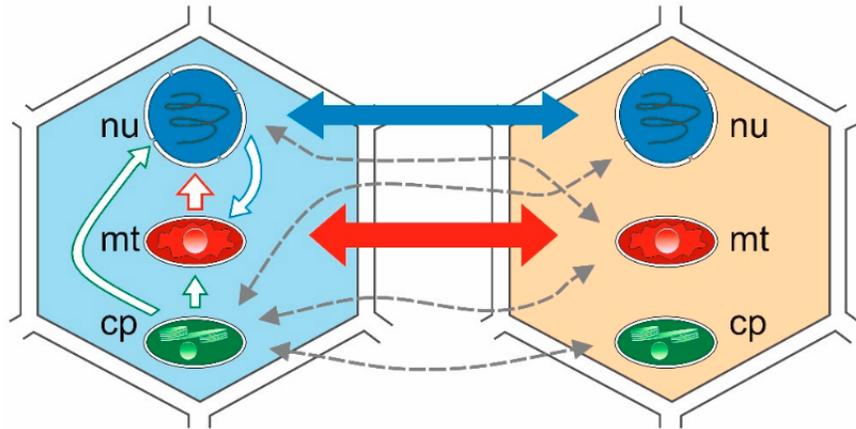


Figura 1.6: **Flujos genéticos intra e intercelulares.** Modificado de [22]). Las flechas con color sólido representan los flujos intracelulares, mientras que las que presentan color blanco simbolizan los flujos intercelulares. Las flechas continuas representan flujos que tienen un soporte bibliográfico previo, y las punteadas, aquellos flujos putativos. Verde: flujos provenientes del cloroplasto (cp); Azul: flujos provenientes del núcleo (nu); Rojo: Flujos provenientes de la mitocondria (mt)

Mientras que la clasificación de los eventos de THG basada en la naturaleza del material genético adquirido la definió en tres categorías: adquisición de genomas; adquisición de genes, nuevos o readquiridos, provenientes otros genes (parálogos), de otras especies (xenólogos) o reemplazados de genes existentes pero de otro linaje (ortólogos); y la adquisición de secuencias no codificantes, como genes incompletos o dañados, elementos móviles, etc.

La THG intracelular o Transferencia Intracelular de Genes (TIG) puede ocurrir de forma unidireccional o bidireccional entre las distintas entidades genéticas que habitan la célula eucarionte, como lo son las mitocondrias, los plastos y el núcleo [22], aunque esta tesis se centra en los flujos relacionados con los plastos.

Iniciando con el flujo desde los plastos a las mitocondrias, hoy se sabe que este flujo de material genético es un fenómeno bastante relevante, en especial entre las angiospermas, comprendiendo de entre 1.1 % y el 6.3 % del DNA mi-

tocondrial. Curiosamente, el genoma de la mitocondria tiende a adoptar secuencias plastidiales que no tienen efecto en su actividad. Por otro lado, de la transferencia de mitocondria a plasto no se sabe mucho. Sobre esta, sólo se ha propuesto que el gen mitocondrial *rps16* fue transferido en una etapa temprana en la evolución de las angiospermas, al estar presente dentro del organelo fotosintético en la mayoría de estas plantas, a excepción de *Medicago truncatula* y *Populus alba*, las cuales codifican este gen en sus mitocondrias. Sin embargo, en plantas más basales como *Arabidopsis thaliana* este gen está codificado en ambos genomas [22].

De manera similar, el flujo plasto-núcleo parece ser un flujo asimétrico, con una mayor transferencia de genes provenientes del plasto hacia el interior del núcleo, pero sin presencia de genes nucleares dentro de los plastos. Se plantea que la mayoría de los genes plastidiales fueron transferidos desde el endosimbionte original hacia el núcleo en una etapa temprana de la evolución vegetal por medio de la Transferencia Horizontal Endosimbionte (THE). Sin embargo, existe evidencia de que la transferencia de genes desde el plasto hacia el núcleo sigue ocurriendo. Como son los casos de los genes *tufA* y *rpl22*. El primero, fue transferido desde el plasto hacia el núcleo en el linaje algal, mientras que el segundo está codificado típicamente en el cloroplasto de plantas y algas, pero en los chícharos, este gen se encuentra en el genoma nuclear, lo que sugiere una posible THG [22].

Finalmente, con respecto al flujo hacia el plasto, se piensa que estos organelos, a diferencia de las mitocondrias, son altamente resistentes a recibir genes por medio de eventos de THG [22]. Esto se piensa ya que la estructura, organización y contenido genético de este organelo está bien conservado entre las distintas especies vegetales [22] con variaciones, aunque considerables, bien identificadas como las que presentan los plastos de linaje rojo [100, 200].

Como ya se ha mencionado, el evento de THG más reconocido entre los eucariontes es la Transferencia Horizontal Endosimbionte (THE) [81, 177], que es el proceso de pérdida [72], transferencia e integración de genes en dirección al núcleo del hospedero [22, 23, 72] que ocurrió durante la endosimbiosis seriada de cianobacterias y α -proteobacterias que dieron origen a los plastos y a las mitocondrias, respectivamente [22, 23, 25, 40, 66, 72, 81, 115, 127, 177]. Sin embargo, este flujo sigue ocurriendo en la evolución de las células nucleadas, siendo un ejemplo muy claro el intercambio entre las mitocondrias de algunas plantas con flor y el flujo de genes del plasto al núcleo [22]. La THE es sumamente relevante en la evolución de la vida eucarionte, al ser un mecanismo en el que convergen la simbiosis y la THG como mecanismos evolutivos, y al haber dado origen a los organelos responsables del metabolismo de energía [23].

Como consecuencias de la THE, los genomas de los organelos se vieron muy reducidos, al transferir al núcleo más del 90 % de los conjuntos genéticos

necesarios para mantener sus actividades metabólicas, como la síntesis de proteínas y sus respectivas rutas metabólicas [23, 115, 127, 200]. Debido a esto, se estableció una coordinación entre el hospedero y el simbiote, con un mayor control por parte del núcleo, que confiere estabilidad, heredabilidad y, en las plantas terrestres, la capacidad de diferenciar los plastos en distintos tipos de organelos [23, 40, 115, 141, 200], coordinación que es perturbada en ausencia del núcleo del hospedero [200].

1.3.1. Mecanismos de THG

Como ya se explicó, entre los procariontes la THG ha demostrado ser un fenómeno bastante común [97] y de gran importancia biológica [64, 95, 97] que les otorga la capacidad de intercambiar capacidades metabólicas y de respuesta al ambiente, en especial en organismos patógenos, ya que por este mecanismo es que fluyen factores de virulencia y de resistencia a antibióticos [22, 64, 97], aunque la transferencia de resistencia y virulencia también ha sido observado entre organismos eucariontes como los Oomycetos [64]. Este fenómeno ocurre gracias a la fluidez del genoma [72] y a la capacidad que tienen las bacterias de tomar DNA de su ambiente o de sus vecinos e incorporarlo dentro de su genoma [81, 95].

Los tres principales mecanismos de THG fueron descritos por primera vez en procariontes durante el siglo pasado [234-236, 238], siendo estos la transformación, transducción y conjugación [22, 23, 64, 81, 95, 132], los cuales son mediados por vectores genéticos como plásmidos, virus y elementos genéticos móviles [23, 39, 81, 95, 132], aunque en esta ocasión sólo se mencionarán a los plásmidos y los virus.

La transformación involucra la recolección de DNA desnudo del ambiente [95, 107] (Figura 1.7) y es posible gracias a la capacidad ampliamente conservada de adquirir DNA del medio que rodea a las bacterias [81], aunque se ha identificado un mecanismo de transformación en eucariontes, con un funcionamiento muy similar a la transformación bacteriana [107]. Este mecanismo fue el primero en ser relacionado directamente con la THG. En el año 1928, Frederick Griffith estudiaba la posibilidad de desarrollar una vacuna contra la bacteria *Streptococcus pneumoniae*, sabiendo que existen dos formas de la bacteria, una causante de la enfermedad (virulenta) y una inocua (no virulenta). En su estudio encontró que al agregar extractos de bacterias virulentas muertas a cultivos de bacterias inocuas, las segundas se volvían virulentas, y que, una vez transformadas, podían transmitir el fenotipo virulento a la progenie. Este fenómeno recibió el nombre de transformación y a lo que causaba la conversión se denominó factor transformador [81].

La conjugación es la transferencia de DNA por medio de plásmidos, los



Figura 1.7: **Esquema que ejemplifica la Transformación.** (Modificado de Popa y Dagan 2011 [95]). El material genético de una célula (rojo) es liberado al ambiente por causa de lisis. Estos segmentos de DNA son recolectados por una segunda célula e incorporados en su genoma (verde).

cuales pasan por una estructura proteica con forma de cilindro denominada pili. El pili media la unión célula a célula al acoplarse a la membrana de la célula receptora y formar un túnel por del cual se transfiere el material genético a través de un poro [81, 95, 107] (Figura 1.8). Este mecanismo se encuentra en bacterias como *Escherichia coli* y otras células gram-negativas ([81]) pero la célula receptora no tiene que ser forzosamente un procarionte, habiendo registro de conjugación desde la bacteria *Agrobacterium tumefaciens* hacia las plantas que parasita [107]. Este mecanismo se ve afectado por distintos factores como el *quorum sensing* (sistema de comunicación intracelular que le permite a las bacterias monitorear condiciones ambientales antes de expresar un fenotipo); la presencia de antibióticos, como la tetraciclina la cual se ha reportado como un agente inductor; y factores abióticos como la temperatura, pH, disponibilidad de nutrientes, cationes, etc [81].

La transducción es la adquisición de DNA por medio de infección de virus [81, 95, 107] (Figura 1.9). Al ser virus los vehículos de la THG, el ciclo lítico es parte del proceso. En este, el vector (virus o bacteriófago) se acopla a la membrana del hospedero, posteriormente el virus inyecta material genético y lo incorpora al genoma del hospedero. Una vez que el genoma es incorporado, la replicación es iniciada casi de forma instantánea. El paso de la replicación es el más relevante para la THG ya que, al separarse el material genético del virus, genes funcionales pueden quedar unidos al genoma del hospedero en forma de segmentos de información genética adicional. Finalmente, después del ensamblaje de las nuevas partículas virales, los viriones rompen la membrana celular de hospedero y pasan a infectar a otras células iniciando el ciclo de nuevo. Sin embargo, en caso de que la lisis no ocurra, por distintos motivos, el material genético del virus queda incorporado dentro del genoma del ahora hospedero y con ello los genes que pudieran venir en el genoma del virus, estableciendo la THG [81, 107].

Los vectores que median la THG son las formas que toma el material genético en el proceso de transferencia. Uno de estos son los plásmidos, los cuales

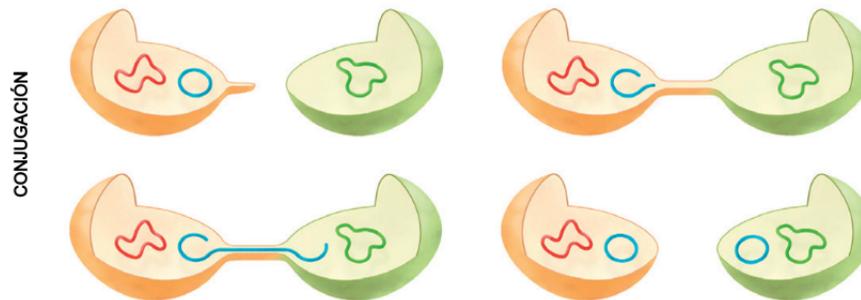


Figura 1.8: Esquema que ejemplifica la Conjugación. Modificado de Popa y Dagan 2011 [95]). El pili se extiende hasta hacer contacto entre ambas células. Con el contacto establecido, el plásmido (azul) comienza a replicarse y la copia pasa desde la célula donante (naranja) a la receptora (verde) por medio del túnel formado. Una vez que el plásmido es incorporado en la célula receptora el pili se desensambla.

son una colección estable de DNA extracromosomal de doble cadena, circulares o lineales, organizada en módulos, que se replican independientemente del cromosoma bacteriano [39, 81]. Estos generalmente no contienen información genética implicada en funciones celulares esenciales pero tienen una gran importancia como vehículos en la THG [39, 81]. Estos comúnmente contienen un conjunto de genes que les permiten realizar funciones de auto replicación, y un conjunto de genes que pueden ser acumulables y se pueden clasificar de acuerdo a cinco funciones básicas: fertilidad, resistencia, “Col-plasmids” (genes que codifican para colicinas y proteínas capaces de matar a otras bacterias), metabolitos con capacidad de degradar sustancias químicas, transformar bacterias convirtiéndolas en patógenas [39, 81] y resistencia a antibióticos [39].

Los vectores de THG virales más estudiados son los comúnmente conocidos como “fagos” [81]. Estos virus infectan bacterias, y están formados por proteínas que conforman la cápside y la cola, así como material genético que le permite realizar funciones de replicación, recombinación y regulación [81]. Su material genético puede ser DNA o RNA de cadena doble o sencilla, con una longitud de 5 a 500 kilobases (kb), la cual puede adoptar una estructura circular o lineal [81]. Como vectores de THG, estos son producidos en el interior de una célula donante, como parte del ciclo lítico en la transducción [95, 107] y han estado involucrados en la transferencia de genes relacionados a la fotosíntesis y en genes del metabolismo del fósforo en cianofagos [97]. En el caso de los eucariotes, los virus que se creen que están relacionados con la transducción son los retrovirus que van de una especie a otras, como el caso entre salmones y truchas [107].

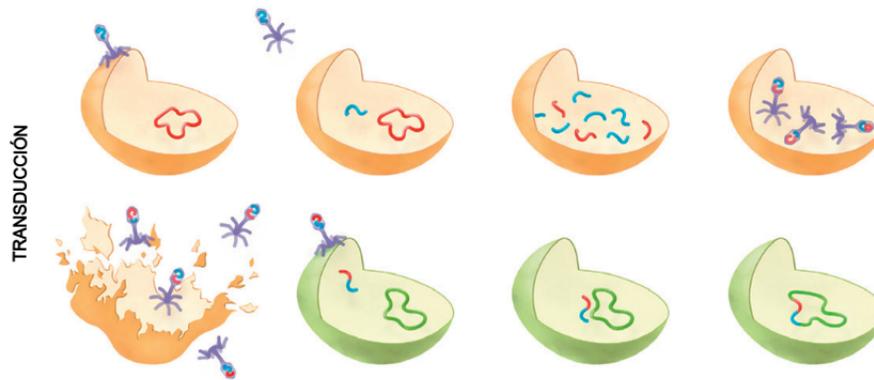


Figura 1.9: **Esquema que ejemplifica la Transducción.** Modificado Popa y Dagan 2011 [95]). Virus (morado) infectan a una célula (naranja) inyectando su material genético (azul). En el momento del ensamblaje de los nuevos viriones el material genético de la célula (rojo) se mezcla con el del virión y termina dentro de las nuevas partículas virales. Una vez liberados al ambiente, los viriones infectan a una nueva célula (verde) y el material genético mezclado (rojo y azul) se incorpora en el genoma de la nueva célula de forma latente.

Si bien los mecanismos de transformación, transducción y conjugación, el flujo genético intracelular, y la THE ayudan a entender la THG en los genomas que vemos hoy en día, aún queda una barrera presente en los eucariontes multicelulares con reproducción sexual que aún no queda claro cómo es que es cruzada; el paso de los genes novedosos a las células germinales [64, 72]. Debido a esto, Huang en el 2013 [72] propuso el modelo de «el eslabón débil» («*weak link model*» en inglés) (Figura 1.10), el cual puede aplicar tanto a eucariontes unicelulares como multicelulares.

En este modelo se plantea que, para que los genes externos sean adquiridos y heredados de forma estable en el organismo recipiente, primero debe de entrar a las células recipiente, posteriormente debe de ser integrado en el genoma y finalmente ser transferido a la descendencia [64, 72]. Para esto, los genes externos deben entrar al organismo en etapas de la historia de vida en donde el paso a las células germinales esté débilmente protegido en ambientes naturales, etapas que serán los «eslabones débiles». Este proceso puede ser facilitado si el organismo donador y el recipiente mantienen un contacto físico íntimo por medio de simbiosis [72, 97].

Estas etapas pueden ser; cualquier etapa de desarrollo en los eucariontes unicelulares; la mitosis en organismos multicelulares con reproducción asexual; y las etapas cigótica y embrionaria en organismos multicelulares con reproducción sexual. En el caso de eucariontes unicelulares, la transmisión de genes externos integrados hacia su descendencia puede completarse simple-

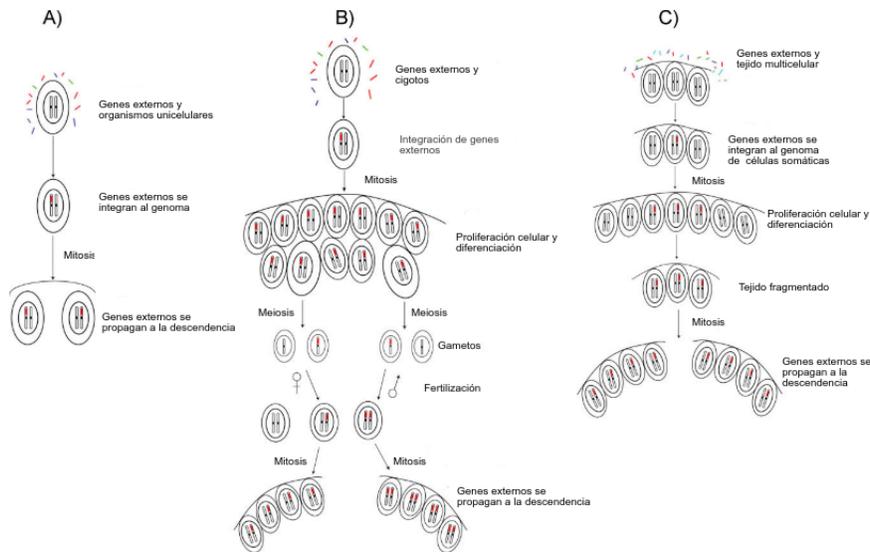


Figura 1.10: Esquema que representa el modelo del «Eslabón débil». Modificado de Huang y cols. 2013 [72]. (A)Eslabón débil (ED) de eucariontes unicelulares. (B) ED en la reproducción sexual de eucariontes multicelulares y (C) ED en la reproducción asexual de eucariontes multicelulares.

mente por medio de mitosis por lo que, como ya se mencionó, cualquier punto en el ciclo de vida de un eucarionte unicelular se puede considerar un eslabón débil [72].

En el caso de los eucariontes multicelulares, iniciando con los que poseen reproducción asexual, este proceso permite que los genes externos sean transmitidos directamente a su descendencia por propagación mitótica de las células que portan a estos genes. Mientras que, en el caso de los eucariontes que poseen reproducción sexual, si alguno de estos es expuesto e incorpora DNA externo durante etapas cigótica o embrionaria, la proliferación y diferenciación celulares propagaran estos genes a los tejidos diferenciados, incluyendo a las células germinales y, por ende, a la siguiente generación, aunque en estos organismos, la transferencia se puede dar también por flujo de genes intracelular [72], lo que vuelve a este modelo, uno que puede aportar en la explicación de THG en la cleptoplastia entre *E. chlorotica* y *V. litorea*.

Ante este modelo, su autor hace distintas predicciones. Primero, en cuanto a la frecuencia de la THG en eucariontes unicelulares, al tener puntos de entrada en todo su ciclo de vida, hay una amplia cantidad de oportunidades en las que genes externos pueden ser integrados y transmitidos a su progenie, lo que explicaría la alta presencia de THG en estos eucariontes. Segundo, la inciden-

cia de genes externos en eucariontes multicelulares con etapas de desarrollo unicelulares completamente expuestas debería ser alta. Tercero, la THG en eucariontes multicelulares asexuales debe ser frecuente. La ausencia de células germinales específicas significa que cualquier célula que contenga genes externos podría propagarlos a la descendencia. La frecuencia de la THG debería de ser incluso ser mayor si hay bacterias endosimbiontes en las estructuras asexuales como esporas o hifas. Cuarto y último, la existencia de muchos genes adquiridos antiguamente en eucariontes multicelulares. Debido a que los eucariontes multicelulares son derivados de ancestros unicelulares, se esperaría que muchos genes externos adquiridos por los ancestros permanezcan en los genomas de los descendientes multicelulares [72].

1.3.2. Identificación de Genes Transferidos Horizontalmente con BLAST

Las transferencias horizontales pueden ser detectadas por sus consecuencias, al observar las huellas moleculares que dejan en genomas, como la presencia de genes similares en organismos distantemente relacionados, en lugar de observarlas en el momento en el que están ocurriendo, lo que limita su detección [107, 132]. Su detección se realiza por dos métodos principales; los métodos físicos (o moleculares) y los métodos bioinformáticos [107] o computacionales [69, 132].

Dentro de los métodos físicos se encuentran dos técnicas, que se complementan con PCR, las cuales son la hibridación sustractiva (*subtractive hybridization*) y la hibridación genómica comparativa (microarreglos de DNA), de las cuales destaca la segunda. En la hibridación genómica comparativa, se busca que secuencias sintetizadas de un gen blanco, candidato a THG, se unan a la muestra de DNA de la especie a estudiar. En caso de que ocurra la unión, esta se analiza por distintos medios y en caso de que el análisis sea positivo se considera que el gen pudo haber sido transferido horizontalmente. Las técnicas que usan esta metodología son la hibridación por Southern blot y la hibridación *in situ* fluorescente (FISH) las cuales son útiles para localizar con precisión los genes o fragmentos de DNA presentes en tejidos y células [107].

Gracias al auge de la secuenciación y a la gran cantidad de bases de datos que han surgido en las últimas décadas, los métodos computacionales se consideran los principales en la detección de THG [64, 69, 81], los cuales tienen un mayor acceso debido a los recursos y software disponibles en internet [64]. Estos métodos se pueden dividir en dos tipos: intrínsecos [45] o composicionales [69, 107, 132]); y extrínsecos [45] o filogenéticos [107, 132].

Las metodologías intrínsecas o composicionales se basan en el estudio de las características de las secuencias como el contenido de G-C (en el genoma

completo o en la tercera posición de cada codón) o la distribución del uso de codones [45, 69, 107, 132]. Si algún gen o secuencia difiere considerablemente con respecto al resto de los genes del genoma que les contiene, estas secuencias son candidatas a THG [45, 107, 132]. Gracias a que estas metodologías estudian un sólo genoma, no necesitan la comparación con otras secuencias, como los métodos extrínsecos [132]. Sin embargo, debido a que las secuencias tienden a homogeneizarse al evolucionar con los genomas que le contienen, estas características se pueden perder y volviendo poco efectivas a estas metodologías al analizar genomas antiguos, en un proceso llamado amelioración [45, 69, 107], aunque hay investigadores que opinan lo contrario [132].

Por otro lado, las aproximaciones extrínsecas se basan en la comparación de la secuencia del gen a evaluar con secuencias de las posibles especies donadoras. Debido a que estas aproximaciones no dependen de características variables (como el contenido de C-G), estos métodos son bastante adecuados para la identificación de THG entre especies distantes (tanto como reinos), aunque depende de la secuenciación y la creación bibliotecas amplias y adecuadas de los genomas de interés y genomas para comparar [45, 107]. Una de estas aproximaciones es la evaluación de la distribución filogenética de un gen [45, 64, 69, 107, 132]. Esto se hace al realizar la filogenia una secuencia en particular y, si la filogenia resultante difiere de la filogenia de la especie que la contiene, se considera como candidata a THG [45, 64, 107, 132].

Otra aproximación extrínseca es la comparación entre secuencias de especies de interés usando magnitudes de similitud, como el porcentaje de identidad o valores-E [22, 45, 60, 69, 107, 132, 158]. En este método, si la secuencia de interés de una determinada especie (especie receptora) presenta una alta similitud (como un valor-E bajo o un puntaje en bit alto) con secuencias correspondientes a especies con un parentesco lejano (especie donadora), esta secuencia es candidata a THG [45, 69, 107]. En esta aproximación, BLAST es la herramienta más utilizada y el estándar de oro para los análisis de similitud entre dos secuencias [22, 45, 60, 69, 107, 132, 158], por lo que esta herramienta es la principal para esta tesis.

El *Basic Local Alignment Search Tool* o BLAST es un conjunto de programas que buscan similitudes estadísticamente significativas entre bases de datos, ya sea de nucleótidos o aminoácidos, que van desde una secuencia de un gen o proteína hasta toda la base de datos del GenBank [158, 219]. Lo que logra gracias al espacio de búsqueda que utiliza BLAST dentro de su algoritmo, el algoritmo mismo y los parámetros que se utilizan para su ejecución y que son modificables por el usuario para minimizar tiempos de búsqueda o maximizar la sensibilidad de búsqueda [60, 158]. Estos programas se basan en un algoritmo de búsqueda local desarrollado por Altschul y cols. en 1990 [219] y desde entonces ha sido mejorada manteniéndose vigente hasta nuestros días [45, 60, 124, 158, 190, 203, 207].

El algoritmo de Altschul y cols. [219] es un algoritmo heurístico de búsquedas locales que permite realizar búsquedas en espacios amplios, sin necesidad de buscar exhaustivamente, y se basa en la premisa de que los alineamientos entre secuencias pueden implicar una relación ya sea funcional, estructural o evolutiva entre ambas secuencias [60, 158, 219]. Este algoritmo se puede dividir en tres grandes fases: siembra, extensión y evaluación [60, 158].

El proceso de siembra inicia con el establecimiento del espacio de búsqueda, que puede representarse como un gráfico en donde en el eje X se encuentra la o las secuencias de la base de datos mientras que en el eje Y se encuentra la secuencia consulta. En este gráfico, cada punto representa el emparejamiento de dos letras, una de cada secuencia [158].

Una vez que BLAST genera el espacio de búsqueda, usando el parámetro llamado «tamaño de palabra», que no es más que un número predefinido de letras con un orden ya determinado, localiza todas las palabras que coinciden en ambas secuencias las cuales se les interpreta como palabras aciertos (o *word hits* en inglés) [158, 219]. Una vez identificadas las *word hits*, BLAST define regiones alrededor de estas (llamadas vecindarios o *neighborhoods*) en las que se emplearán los recursos de búsqueda. Estos vecindarios son las «semillas» que se usarán en el siguiente paso del algoritmo, y de ahí el nombre de la fase [60, 158].

Una vez que se termina la fase de sembrado, los alineamientos son generados extendiendo las semillas en ambas direcciones y otorgando un puntaje al alineamiento basado en un «esquema de puntuación» y un «esquema de penalizaciones» [60, 158, 219]. El esquema de puntuación incrementa el puntaje de un alineamiento con el número de letras coincidentes (aciertos o *hits*) y disminuyendo con las diferencias (*mismatches*). Mientras que el esquema de penalización solo disminuye el puntaje con las penalizaciones al iniciar o expandir un hueco (*gap*) [158, 219]. Estas extensiones son detenidas con base en el puntaje de los alineamientos y en un valor umbral que indica el corte de la extensión [158]. Si el puntaje de un alineamiento cae debajo del valor umbral, la extensión es detenida y el alineamiento es recortado hasta la letra en dónde se obtuvo el último puntaje máximo [158].

Finalmente, una vez que la fase de extensión de las semillas termina, los alineamientos resultantes son evaluados con el fin de determinar si los alineamientos son estadísticamente significativos (llamados "*Hits*" en inglés) [60, 158]. La evaluación se realiza con base en un umbral estadístico llamado «puntaje umbral», en caso de alineamientos continuos, o un «alineamiento umbral», en caso de alineamientos discontinuos (como en los que hay intrones de por medio) [158]. Con el puntaje umbral se separan los alineamientos continuos que los superaron de aquellos que no, lo que permite descartar de forma efectiva alineamientos aleatorios [158, 219].

En el caso de los alineamientos discontinuos, los «subalineamientos» que los componen se les llama «Pares de alta puntuación» (“*High Score Pairs*” en inglés o “HSP” por sus siglas) [124, 158]. Y el umbral que les evalúa (el alineamiento umbral) se basa en puntajes, lo que permite una independencia del tamaño de la base de datos [158]. Aunque si el umbral es demasiado alto, este puede omitir alineamientos significativos [158, 219].

Para definir grupos consistentes de HSP, se compraran las coordenadas en el espacio de búsqueda de todos los HSP para determinar si se superponen entre ellos, permitiendo pequeños sobrelapamientos entre estos por si la extensión se llega a prolongar [158]. Al ser un cálculo cuadrático, este paso puede ser computacionalmente costoso si se tienen muchos HSP, las secuencias son largas o el alineamiento umbral es bajo [158].

Una vez que los HSP son organizados en grupos consistentes, estos son evaluados con un valor llamado «Umbral final» que es calculado con base en el espacio de búsqueda entero y en el valor-E umbral definido en los parámetros de búsqueda [158, 219]. Estos alineamientos o grupos de alineamientos que superen el requisito de tener un valor-E más significativo serán reportados por BLAST [60, 158].

Si bien BLAST es un sofisticado algoritmo que permite encontrar alineamientos en espacios de búsqueda amplios, el encontrarlos o no, no es algo que la herramienta haga por sí sola, para realizar las búsquedas se deben de modificar ciertos parámetros que permiten la maximización de la sensibilidad a los alineamientos a costa de la velocidad de búsqueda [158]. Estos parámetros modificables son, el tamaño de palabra, el esquema de puntuación, el esquema de penalización y el valor-E umbral [158].

Al modificar estos parámetros, una búsqueda con secuencias extensa (Como la longitud de un genoma de un organelo, un cromosoma circular de bacteria o hasta un genoma nuclear), tanto en la consulta como en la base de datos, puede presentar un coste computacional elevado debido a la gran cantidad de alineamientos que pueden encontrarse [158]. Sin embargo, esto se puede solventar gracias a que el NCBI cuenta con el [NCBI-BLAST online](#), el cual es capaz de realizar búsquedas en espacios de búsqueda extensos. Lo que lo vuelve una herramienta adecuada para esta tesis.

Sin embargo, la detección de THG basada en BLAST tiene sus limitantes ya que el puntaje en bits está basado en similitud de secuencias, por lo que provee un estimado tosco de la historia filogenética entre los organismos. Incluso, coincidencias inesperadas pueden ser causadas por motivos distintos a la THG, como la ausencia de información genética en organismos relacionados, eventos de pérdida de genes, similitud estocástica, así como errores de las bases de datos, por lo que es importante el complementar estos estudios con análisis filogenéticos [69], los cuales, afortunadamente, BLAST es capaz de

hacer en el [NCBI-BLAST online](#) actual, gracias a que el programa realiza los análisis usando toda la información de secuencias disponible en el GenBank [69] en sus búsquedas por defecto.

Capítulo 2

ANTECEDENTES METODOLÓGICOS

2.1. Transferencia horizontal en el sistema *Elysia-Vaucheria* (Antecedentes)

La primera especie de sacoglossanos en ser estudiada fue *Elysia viridis*, la cual recibe tal nombre por su color verde que asemeja a los campos eliseos de la mitología griega [82]. Al estudiar a esta babosa, De Negri y De Negri en 1878 notaron que el pigmento que le daba el color verde era igual a la clorofila, lo que les llevó a pensar que habían células algales en el interior de *E. viridis* [82]. Mientras que unos años más tarde, Brand en 1883 reportó que los pequeños cuerpos verdes se establecen en el interior del sistema digestivo en el manto de la babosa [83]. Gracias a estos estudios, la idea de que los cuerpos verdes eran zooxantellas, o incluso cianobacterias, persistió [83]. Sin embargo, en 1965 Kawaguti y Yamasu, usando microscopía electrónica de transmisión, determinaron que los cuerpos verdes en realidad eran cloroplastos intracelulares en el intestino de *Elysia atroviridis* [80, 82, 94, 97, 141, 220]. Aunque el término «cleptoplastia» fue acuñado en 1986 por Waugh, por la similitud con la retención de cnidocitos por nudibranchios cleptocnidos [225].

El estudio de la cleptoplastia ha continuado hasta la actualidad, volviéndose un campo amplio que involucra a distintas especies [26, 100, 161] y abarca temas tan diversos como la filogenia [58, 79, 199], su relación metabólica [63], la especificidad alga-molusco [38, 47] y los mecanismos que subyacen a la cleptoplastia, en particular la Transferencia Horizontal de Genes. La THG en los sacoglossanos ha sido estudiado en múltiples especies [74], principalmente con

resultados negativos [26, 100]. Pero, si hay una especie que ha sido polémica al respecto es *Elysia chlorotica*. Sobre esta especie existen estudios que afirman que la THG ocurre en el sistema de simbiosis [54, 65, 77, 83, 109, 112, 114, 115, 127, 139, 167] y también estudios que afirman lo contrario [70, 86, 174]. Aunque, curiosamente, ambas ideas se han permeado en investigaciones que no están especializadas en el tema [29, 96, 113].

Los primeros estudios en los que se sugieren a la THG como una posible explicación de la cleptoplastia funcional de largo plazo entre *Elysia chlorotica* y *V. litorea* ocurrieron en 1996. A mediados de este año, Pierce, Biron y Rumpho [201] reportaron por primera vez que los plastos sintetizan proteínas dentro del molusco. Dentro de estas proteínas se encuentran la subunidad grande de la RuBisCO y la proteína D1 del fotosistema II, que son relevantes para la fotosíntesis. Aunado a esto, exploraron la inhibición de la síntesis de proteínas con el inhibidor de ribosomas citoplasmáticos, cicloheximida y el inhibidor de ribosomas cloranfenicol. Como resultado, reportaron que ambas moléculas inhiben la síntesis de proteínas plastidiales, por lo que sugieren que algunas proteínas asociadas al cloroplasto son sintetizadas en el citoplasma del animal y subsecuentemente translocadas dentro del cloroplasto. Por lo que sugirieron que el hospedero juega un rol en el flujo de proteínas plastidiales. Como conclusión, propusieron tres explicaciones ante este flujo y síntesis de proteínas relacionadas a la fotosíntesis, las cuales son; el genoma de la babosa codifica proteínas homologas a las que permiten el flujo de proteínas al interior del plasto; que los plastos liberen mRNA al citoplasma del hospedero, donde es traducido y redirigido al plasto; y que el genoma del plasto codifica genes correspondientes a proteínas estructurales del plasto, los cuales fueron transferidos horizontalmente en una etapa temprana en la evolución de la retención de largo plazo.

Posteriormente, a finales del año, Mujica y cols.[200] caracterizaron la cleptoplastia de *E. chlorotica*, bajo condiciones de inanición, durante un periodo mayor a 8 meses en los cuales sólo fue provista de luz y CO₂. Durante este periodo, observaron por microscopía electrónica la estructura fina de los cleptoplastos, la cual permaneció intacta aún después del periodo de inanición. También realizaron un análisis de Southern blot del DNA total del molusco. Este análisis indicó que los genes algales *rbcL*, *rbcS*, *psaB*, *psbA*, y *rRNA 16S* están presentes en el animal. Al mismo tiempo, reportaron por primera vez, que *rbcS* está presente en el plasto de *V. litorea*, a diferencia de Viridiplantae, en donde está codificado en el núcleo. Posteriormente mostraron que los niveles de transcritos correspondientes a *psbA* permanecieron constantes en el periodo de inanición durante 2 a 3 meses y posteriormente fueron gradualmente degradados en los siguientes 5 meses, correspondientes con la senescencia del animal. A su vez, detectaron la transcripción activa de *psbA* al inhibir la síntesis de RNA con 6-metilpurina. En contraste a *psbA*, los niveles de transcritos de rRNA 16S permanecieron constantes durante el periodo de inanición y los niveles de las proteínas del fotosistema II, D1 y CP43, fueron altos a los 2 y

4 meses de inanición y permanecieron constantes aun nivel menor después de 6 meses. En contraste, los niveles de proteína D2, fueron altos a los 2 y 6 meses, pero disminuyeron bastante por el resto del periodo de inanición. Finalmente, ante la transcripción y traducción de genes algales, sugirieron que la cleptoplastia en este sistema es mantenido por dos posibles mecanismos; por la participación del núcleo y citoplasma de la babosa gracias a la THG de genes esenciales para la fotosíntesis o debido a que estos genes sean totalmente contenidos en el genoma plastidial.

Con el descubrimiento de la síntesis de proteínas algales, codificadas tanto en el núcleo como en el plasto, Green y cols. [174] exploraron más ampliamente el fenómeno de la cleptoplastia entre *E. chlorotica* y *V. litorea*. Primero, demostraron que los cleptoplastos mantienen la hidrólisis, la liberación de oxígeno por medio de la fotosíntesis y la actividad de transporte de electrones por medio de los fotosistemas I y II durante 9 meses en la ausencia de cualquier suministro de alimento algal. Debido a que esta actividad requiere la síntesis *de novo* de proteínas codificadas en el cloroplasto en niveles funcionales, exploraron tanto la síntesis y codificación dentro del animal. Como resultado, encontraron que los niveles de al menos una de las proteínas algales putativas codificadas en el núcleo, un homólogo del complejo captador de luz, fueron mantenidos durante el periodo de 9 meses de cultivo. Aunado a esto, reportaron, por primera vez, la longitud del genoma plastidial de *V. litorea* que es de 119.1 kb, muy cercano a la base de datos que tenemos en la actualidad. Finalmente, en su análisis de Southern blot y PCR no detectaron un sólo gen algal codificado en el núcleo dentro del molusco. Por lo que concluyen que el mantenimiento de la actividad fotosintética en los cleptoplastos es regulado solamente por los genomas del cloroplasto y del animal, sin presencia de THG.

Posteriormente, con el antecedente del descubrimiento de múltiples proteínas relacionadas a la fotosíntesis sintetizadas dentro de *E. chlorotica*, Hanten y Pierce en 2001 [167] estudiaron el sitio de síntesis de proteínas de la familia de polipéptidos del complejo de captación de luz I (LHCI), los cuales son codificados en el núcleo del alga. Para esto, utilizaron dos bloqueadores ribosomales, ciclohexamida, que es un bloqueador citoplasmático, y cloranfenicol, un inhibidor de ribosomas plastidiales, para posteriormente identificar la presencia o ausencia de esas proteínas por medio de inmunoblot. Lo que reportan es que la síntesis es bloqueada por la ciclohexamida y continúa en presencia del cloranfenicol, lo que indica que la síntesis de estos polipéptidos se realiza en el citoplasma de la babosa y no en el cleptoplasto. Con estos resultados, concluyeron que el gen que codifica a LHCI reside dentro del DNA nuclear del molusco. Agregando la sugerencia de que la THG tuvo lugar por medio del virus endógeno presente en *E. chlorotica*.

Teniendo conocimiento de que las proteínas plastidiales codificadas en el núcleo del alga FCP, LHCI y LHC2 son sintetizadas, mientras el plasto reside en el citoplasma de *E. chlorotica* por nueve meses, Pierce y cols. en 2007 [139],

usando PCR identificaron las secuencias correspondientes a los genes *fcp*, *Lhcv1* y *Lhvc2* en el DNA genómico y el mRNA de babosas adultas y en larvas veliger sin eclosionar. Por lo que concluyen que, los genes algales codificados en el núcleo se encuentran en la célula animal, son transcritos y transmitidos a la descendencia. Asegurando que esta fue la primera demostración de genes funcionales y heredables entre organismos multicelulares.

Posteriormente, en el 2008 se publicó uno de los artículos más citados cuando se habla de la THG en el sistema *Elysia-Vaucheria*. En este estudio, Rumpho y cols. [127] evaluaron la posibilidad de la THG en el sistema, primero, secuenciando el genoma completo del cloroplasto, base de datos que publicaron y es uno de los materiales usados en esta tesis. De esta secuenciación, confirmaron que el plasto carece de todos los genes necesarios para la actividad fotosintética, descartando de una vez por todas que el cloroplasto codifica todos los genes necesarios para la fotosíntesis. Posteriormente, amplificaron exitosamente por medio de PCR, el gen *psbO* en el alga, en un adulto en inanición y en huevos aposimbióticos de la babosa. Gracias al resultado anterior, secuenciaron el cDNA de la babosa adulta y del alga, los cuales fueron comparados en BLAST, encontrando que estas eran idénticas. De estos análisis, llegaron a la conclusión de que el gen *psbO* fue transferido horizontalmente al genoma del molusco y heredado de forma vertical en su línea germinal.

Con el descubrimiento de genes transferidos horizontalmente usando PCR como herramienta principal, los investigadores o demoraron en aplicar esta herramienta para explorar la THG entre *E. chlorotica* y *V. litorea*. Uno de estos estudios fue el de Pierce, Curtis y Schwartz en 2009 [112], en donde exploraron la síntesis de la clorofila a (Chla). En su estudio reportan el descubrimiento de la síntesis de Chla por los cloroplastos presentes en la babosa de mar por al menos seis meses de inanición. Continuando con la línea de la síntesis, usando análisis transcriptómico y PCR de DNA genómico, reportaron la expresión de los genes nucleares *uroD*, *ChlD*, *ChlH* y *ChlG* que corresponden a enzimas que participan en la síntesis de Chla. Con esto aumentaron la lista de genes nucleares transferidos horizontalmente en el sistema *Elysia-Vaucheria*, pero más importante concluyen que es la primera demostración de una ruta metabólica funcional transferida a un depredador por medio de la THG por parte de su presa.

Continuando con la línea de investigación de THG con PCR, Rumpho y cols. en el mismo año [114] exploraron aún más la posibilidad de otros genes algales estén presentes en el genoma de *E. chlorotica*. Esto lo realizaron al clonar y caracterizar el gen nuclear *PRK*, de 1,633-bp, que codifica a la enzima fosforibuloquinasa, de 405 aminoácidos, en *V. litorea*, una enzima esencial para el ciclo de Calvin. Posterior a la caracterización, usando anticuerpos específicos a *PRK*, detectaron la síntesis *de novo* en *E. chlorotica* puesta en inanición durante 3 meses. Ya con esta información, lograron amplificar y aislar, de forma parcial, el gen *prk* tanto de adultos del molusco, como de huevos aposimbióticos, por

medio de PCR. Después, compararon las secuencias de *prk* de *V. litorea* y de *E. chlorotica*, las cuales resultaron ser sumamente similares. Por lo que sugieren que PRK es regulada diferencialmente en *V. litorea* y en *E. chlorotica*, y que al menos una porción del gen nuclear está presente en las babosas de mar que han sido puestas en inanición por varios meses.

Posteriormente, Soule en 2009 [115] estudió la regulación de la proteína fosforibuloquinasa (PRK), con base en la evidencia previa de la THG del gen algal *prk*. En su estudio reportó que PRK, en la babosa, no es regulada ante factores redox y en presencia de luz es regulada de forma negativa. A diferencia de la PRK en el alga, que presenta regulación redox ante distintos agentes oxidantes y reductores y que es regulada de manera positiva ante la exposición de la luz. Por otro lado, al estudiar la regulación de la expresión de genes plastidiales (*psaA*, *rbcL*, *psbA*) en fotoperiodos de 12:12 de luz/oscuridad, reportó que la expresión en ambos organismos es regulada de forma positiva, aunque en menor escala. Por lo que sugieren que los factores nucleares responsables de la regulación redox de proteínas codificadas en el núcleo de *V. litorea*, como PRK, probablemente no estén presentes en el molusco. Esto puede ser a causa de la ausencia de proteínas homólogas codificadas en el genoma de la babosa y/o a la ausencia de la transferencia horizontal de genes algales. Por otra parte, los factores reguladores de la expresión genética del cloroplasto parecen estar presentes y funcionales en *E. chlorotica* ya sea por una redirección de factores homólogos o al haber sido transferidos exitosamente del alga. Poniendo en duda la relevancia de la THG para la actividad fotosintética en *E. chlorotica*.

Continuando con la línea de investigación de Pierce y cols.[139], Schwartz, Curtis y Pierce en 2010 [109] secuenciaron parcialmente y anotaron el transcriptoma de *V. litorea*, usando la tecnología del pirosecuenciador 454 Life Science's, con el propósito de proveer una base de datos de secuencias nativas de *V. litorea* para facilitar la búsqueda de genes transferidos horizontalmente adicionales en el sistema *Elysia-Vaucheria*. Ya con la base de datos, generaron primers para explorar por medio de PCR el transcriptoma de la babosa. En este análisis preliminar reportaron seis genes codificados en el núcleo del alga en el DNA complementario de un adulto y el DNA genómico de larvas veliger de *E. chlorotica*. Estos genes codifican enzimas de la ruta metabólica de la síntesis de clorofila (*chlD*, *chlH* y *chlG*), genes adicionales del complejo captador de luz (*Lhcv3* y *Lhcv4*), una enzima metabólica (*uroD*) y el gen del ciclo de Calvin-Benson *prk*, siendo congruente con múltiples estudios anteriores. Con esta evidencia, concluyeron que los genes han sido integrados en la línea germinal de la babosa, siendo heredados de forma vertical, y que estos genes son transcritos activamente por la maquinaria celular de la babosa. Aunado a esto, con base en el previo descubrimiento de la síntesis de clorofila a en *E. chlorotica* en inanición, reportado por Pierce y cols. en 2009 [112], y la presencia de los genes que codifican enzimas de la ruta metabólica de la síntesis de esa misma molécula, concluyeron que esta ruta metabólica ya se encuentra presente y funcional en el interior de las células del molusco.

Pelletreau y cols. en 2011 [94], generaron datos de transcriptoma parciales de *E. chlorotica* con el propósito de investigar el grado de THG en el sistema *Elysia-Vaucheria* debido al gran trasfondo que ha tenido esta área de investigación. Usando pirosecuenciación, generaron 148Mb de cDNA de adultos en inanición pero fotosintéticos activos (n=5). Este transcriptoma parcial fue analizado usando BLASTx para generar anotaciones de genes putativos y establecer las orígenes taxonómicos de las secuencias. Como se esperaba, al menos el 95 % de las proteínas predichas coincidieron con Metazoa. Esta aproximación identificó secuencias de posible origen externo derivado de distintos procariontes, eucariontes y virus, así como distintos transcritos derivados de plastos principalmente de *V. litorea*, indicando la actividad del plasto. Sin embargo, ninguno de estos ESTs, tiene relación directa con la fotosíntesis. Adicionalmente, realizaron búsquedas en BLASTn de genes específicos previamente propuestos a THG (*lhcv1, lhcv2, lhcv3, lhcv4, fcp, psbO, prk, uroD, chlD, chlH, y chlG*). Sin embargo, no identificaron homólogos. Con estos resultados, sugieren que es necesaria más secuenciación exhaustiva para hacer frente a esta cuestión, aunque considerando hipótesis alternativas a la THG para explicar la función de los plastos en los sacoglossanos.

Posteriormente, Pierce y cols. en 2012 [83] publicaron un análisis del transcriptoma de la babosa de mar *Elysia chlorotica*, por medio de secuenciación y análisis en BLAST, usando especímenes adultos del molusco recolectados del campo, puestos en inanición durante más de dos meses y filamentos del alga reproducidos vegetativamente. De este análisis reportaron la presencia de 101 secuencias genéticas codificadas en el cloroplasto y 111 secuencias codificadas en el núcleo de *V. litorea*, en el transcriptoma de *E. chlorotica*, siendo el estudio que reporta más genes transferidos horizontalmente hasta la fecha de escribir esta tesis (Apéndice A, Tablas A.1-A.5). De esta información concluyeron que los cloroplastos simbiotes que residen dentro de las células del molusco se mantienen activos por una interacción entre las bioquímicas del organelo y del hospedero y que, a su vez, son dirigidas por la presencia de genes algales transferidos al genoma de la babosa.

Con el antecedente de los estudios previos utilizando PCR y la discrepancia con estudios transcriptómicos de gran escala, Davis en 2012 [77] realizó su tesis con el fin de desarrollar una herramienta molecular directa para entender los componentes genéticos involucrados en el sistema *Elysia-Vaucheria*. Para esto elaboró la optimización de un procedimiento de hibridación *in situ* fluorescente (FISH) tanto en *V. litorea* como en *E. chlorotica*. En el desarrollo de esta herramienta usó el gen de la β -actina para la babosa y el gen plastidial de la subunidad grande de RuBisCO (*rbcL*). Estos genes fueron hibridados de forma exitosa en una larva veliger de *E. chlorotica* y en filamentos intactos de *V. litorea*, respectivamente. Y de la misma manera, consiguió hibridar ambos genes en el tejido seccionado del adulto de *E. chlorotica*, confirmando la presencia de genes plastidiales en las larvas aposimbióticas.

Tres años después de haber realizado su tesis, Soule y Rumpho en 2012 [86] realizaron un análisis similar. En este, también analizaron la regulación ante tratamientos de luz y oscuridad de los genes algales codificados en el núcleo, *psbO* y *prk*, y los codificados en el plasto *psaA* y *rbcL* tanto en *E. chlorotica* como en *V. litorea*. De forma similar al estudio del 2009, reportaron que los niveles transcripcionales de *prk* y *psbO* no reflejan la actividad regulatoria bajo los dos tratamientos en el animal a diferencia de los análisis en el alga, además de tener niveles transcripcionales muy bajos en el molusco. Por lo que concluyen que, tanto los genes algales codificados tanto en el molusco como en el plasto están siendo activamente transcritos, aún después de varios meses de inanición. Sin embargo, sugieren que los genes algales codificados en el núcleo se encuentran en la babosa en forma de material extracromosomal en niveles muy bajos y no están incorporados dentro del genoma nuclear de *E. chlorotica*.

Durante el 2013, Bhattacharya y cols. [70] realizaron un estudio exhaustivo con el propósito de poner a prueba la hipótesis de la THG, y en contraposición directa al estudio de Pierce y cols. del 2012[83], debido a la evidencia conflictiva presente a la fecha. El primero de sus experimentos fue el secuenciar el genoma de óvulos de *E. chlorotica* y del núcleo de *V. litorea*. Posteriormente, realizaron analizaron con ayuda de BLAST el genoma de las células germinales del molusco y no lograron probar la presencia de genes algales derivados de la THG. En su segundo experimento, realizaron un análisis por PCR del DNA genómico y DNA complementario de distintos individuos de *E. chlorotica*, de donde obtuvieron resultados diversos, con genes algales presentes o ausentes dependiendo del individuo. Por lo que concluyeron que los genes nucleares del alga, o fragmentos genéticos, están presentes en especímenes adultos pero los ácidos nucleicos podrían derivar de y/o residir en DNA extracromosomal que se encuentra en el interior del animal debido al contacto con el alga. Sugiriendo que, si bien es posible la THG, este no es el principal mecanismo detrás de la cleptoplastia funcional entre *E. chlorotica* y *V. litorea*.

Un año después, Schwartz, Curtis y Pierce en 2014 [65], con la evidencia de la THG obtenida por medio de experimentos farmacológicos, PCR, qRT-PCR y secuenciación transcriptómica pero la falta de evidencia en análisis de secuenciación genómica parcial de larvas, decidieron optar por una herramienta distinta. En este estudio, usaron hibridación *in situ* fluorescente (FISH) para localizar el gen algal codificado en el núcleo, *prk*, que ha sido reportado por PCR en adultos y larvas y en RNA de adultos por RT-PCR y secuenciación transcriptómica. Como resultado reportan la hibridación exitosa de *prk* en un cromosoma en metafase de larva, confirmando de forma visual la transferencia de genes entre babosa y alga.

Posteriormente, Schwartz en 2015 [54], partiendo de la premisa de que los genes involucrados en la captación de luz están presentes en el núcleo de *E. chlorotica*, exploró la posibilidad de que la clorofila a (Chla) es sintetizada por el molusco, gracias a la transferencia de genes relacionados a su biosíntesis. Pa-

ra esto, por medio de PCR, primero identificó y secuenció tres fragmentos de genes algales codificados en el núcleo que corresponden a enzimas de la ruta metabólica de síntesis de clorofila (*chlD*, *chlH* y *chlG*) y una enzima de la ruta de la síntesis de porfirina (*uroD*). Posteriormente, demostró que estos genes son funcionales por medio de incubación de babosas con ácido 5-aminolevulínico (¹⁴C-5-ALA) como marcador radiactivo, un precursor de la biosíntesis de la clorofila, lo que resultó en la producción de clorofila marcada con ¹⁴C en animales expuestos a seis meses de inanición. Por lo que sugiere que los genes algales han sido incorporados exitosamente en el genoma de la babosa, al ser capaces de transcribir y traducir proteínas algales biológicamente funcionales y dirigirlas al plasto, así como transmitir estos genes de forma vertical a su progenie.

Finalmente, Cai y cols. en 2019 [28] presentaron un borrador de un ensamblado genómico de *E.chlorotica*, con el propósito de promover la investigación de la evolución, la genética de los sacoglossanos y, particularmente, las firmas genéticas relevantes para la actividad plastidial de largo plazo en el animal. Este ensamblado fue generado usando una estrategia de ensamblaje híbrido de lecturas cortas de Illumina con lecturas largas de PacBio. El ensamblado del genoma consiste de 9,989 *scaffolds* (porciones de genoma reconstruidos con base en secuenciación de escopeta (*shotgun sequencing*)[28]), con una longitud total de 557 Mb y un *scaffold* N50 de 442 kb. Su evaluación en BUSCO indicó que el 93.3% de los genes de metazoos esperados están completamente presentes en el presente ensamblado genómico. Finalmente, reportan que el ensamblado de *E. chlorotica* presenta 176Mb (32.6%) de secuencias repetitivas y un total de 4,980 genes que codifican proteínas, sin embargo, no reportan nada relacionado con la THG del alga hacia el animal. Siendo esta la primera publicación de acceso abierto del genoma de *E.chlorotica* y uno de los principales materiales de esta tesis.

2.2. Hipótesis

Dentro de la base de datos del genoma nuclear de *E. chlorotica*, presentada por Cai y cols. en 2019 [28], hay secuencias genéticas coincidentes con la base de datos del genoma del cloroplasto de *Vaucheria litorea*, presentada por [127], detectables por medio de búsquedas en BLAST.

2.3. Objetivos

2.3.1. Objetivo general

- Comprobar la presencia de genes coincidentes entre la base de datos del genoma del cloroplasto de *Vaucheria litorea*, presentada por Rumpho y cols. en 2008 [127], y la base de datos del genoma nuclear de *E. chlorotica*, presentada por Cai y cols. en 2019 [28].

2.3.2. Objetivos específicos

- Comparar, por medio de búsquedas usando el programa BLASTn, las bases de datos del cloroplasto de *V. litorea*, presentada por Rumpho y cols. en 2008 [127], y la del genoma nuclear de *E. chlorotica*, presentada por Cai y cols. en 2019 [28], usando como consultas secuencias de genes específicos, con reportes previos de posible THG en la literatura, y el genoma plastidial completo.
- Determinar la completitud y la posible actividad de los genes identificados, con base en descripciones en la literatura de estos genes y sus respectivos productos.

2.4. Materiales y Método

2.4.1. Las bases de datos

La base de datos a usar es el [genoma anotado del cloroplasto del alga heteroconta *Vaucheria litorea* depositada por Rumpho y cols. en 2008 \[127\] en el GenBank con el número de acceso EU912438](#). Según lo reportado por Rumpho y cols. [127] el genoma del plasto de *V. litorea* tiene una longitud de 115,341 pb, presentando contenido total de G-C de 28 %, lo que es bajo comparado con la mayoría de los plastos, incluyendo a otros heterocontos [127]. Este plasto posee un arreglo compacto, con una longitud de región intergenómica promedio de 74bp y un 11.1 % de DNA no codificante [127]. En este se codifican 169 genes, incluyendo 139 genes que codifican proteínas, 27 genes de tRNA, y 3 genes de rRNA [177].

En cuanto a su estructura, es la típica de un cloroplasto [22, 89, 177], al ser una sola molécula circular de DNA con dos copias de repeticiones invertidas pequeñas (ambas de 4,935bp), que separan a dos regiones de copia única, una grande (de 62,002bp) y una pequeña (de 43,469bp) [127]. Sin embargo, al ser

cloroplastos derivados del linaje rojo presenta algunas diferencias con respecto a los plastos de Viridiplantae [73, 89, 100, 127]. El plasto contiene una mayor cantidad de genes, entre los que codifica están las dos subunidades de Ru-BisCO (*rbcS* y *rbcL*) [100, 127], los genes correspondientes a la biosíntesis de clorofila independiente de la luz *chlB*, *chlL*, y *chlN*, ambas regiones repetitivas codifican los operones *rrs-trnI-trnA-rrl-rrf* [127]. Incluso, a diferencia de otros genomas plastidiales heterocontos, el plasto de *V. litorea* sólo posee un intrón en el gen *trnL (UUA)*, un intrón antiguo que también está presente entre las cianobacterias [127].

Sin embargo, como se esperaba, el genoma del plasto de *V. litorea* está en un estado reducido, comparado a la cianobacteria ancestral, por lo que el organelo es dependiente del genoma nuclear del alga para que le provea la mayoría de las proteínas esenciales para los procesos fotosintéticos y mecanismos reguladores [115, 127].

Por otra parte la secuencia usada como base de datos es la depositada en el GenBank, bajo el número de adhesión [RQTK00000000](#) por Cai y cols. [28] correspondiente a un borrador de ensamblado genómico nuclear de *Elysia chlorotica*. El grupo de Cai y cols. [28] reporta que la base de datos tiene una longitud total de 557,480,303 pb, presenta 80.45% de las bases nitrogenadas libres de errores, contiene la gran mayoría de las secuencias de *E. chlorotica* en la dirección apropiada, contiene 927(94.7%) de los genes esperados, de los cuales 913 (93.3%) se identificaron como completos y 14 (1.5%) se identificaron como fragmentados. Sólo se consideraron que 51 (5.3%) de los genes no están en el genoma reportado según su análisis en BUSCO [28].

2.4.2. Procedimiento

El método a utilizado fue el de las búsquedas comparativas del algoritmo BLAST, usando como base de datos el genoma nuclear de *Elysia chlorotica* y como consulta, se exploró la base de datos correspondiente al genoma completo del cloroplasto de *Vaucheria litorea*. Como primera aproximación se usaron 99 genes de origen plastidial reportados en estudios previos sobre THG en sistemas de Sacoglossanos y en otros organismos fotosintéticos (Apéndice A, Tablas A.1-A.5).

Las 99 búsquedas ocurrieron en la página del NCBI que permite realizar búsquedas en [BLAST usando el genoma nuclear de *E. chlorotica* como base de datos](#). En las búsquedas se usó el programa BLASTn ya que la posibilidad de modificar los parámetros permite una mayor sensibilidad que con otros programas [158]. Este se usó con un esquema de puntuación de +1 para coincidencias y -3 para diferencias (+1/-3) para buscar secuencias cortas con un alto porcentaje de identidad [158]. Fuera de esta modificación, los parámetros fueron

usados con sus valores predeterminados. Para considerar como significativos a los alineamientos se tomaron en cuenta tres valores: un valor-E (E) menor a 10^{-10} [34, 45, 70, 83, 94, 140], un porcentaje de identidad (PI) mayor al 50 % [34, 45, 127] y una cobertura (Cob) mayor al 90 % [34, 93].

Como una segunda aproximación se comparó el [genoma completo del cloroplasto](#), como consulta, contra el genoma nuclear de la babosa, en la página que permite realizar [BLAST usando el genoma nuclear de *E. chlorotica* como base de datos](#). Esto se hizo con la finalidad de verificar los resultados obtenidos y para explorar la posibilidad de la presencia de genes no reportados previamente en la bibliografía.

Posteriormente, buscando identificar los genes presentes en los alineamientos no reportados en la bibliografía, se modificó la región desplegada en la página del [GenBank del genoma completo de *Vaucheria litorea*](#) con la región correspondiente a cada alineamiento y buscando en las anotaciones los genes presentes en cada secuencia. En esta búsqueda se rescataron los genes significativos encontrados en la primera aproximación y, en adición, 18 genes sin un soporte bibliográfico previo. Con estos 18 genes nuevos, se realizaron las búsquedas correspondientes a cada gen individual de la misma manera que en la primera aproximación, con los mismos parámetros de búsqueda y valores umbrales que en la primera aproximación con el propósito de rectificar los nuevos resultados.

A continuación, se mapearon los genes significativos en el genoma del molusco, usando las secuencias del genoma del plasto correspondientes a los genes significativos como consultas y la página para realizar BLAST con el genoma nuclear de *E. chlorotica* como base de datos. Esto se realizó usando el programa Megablast con sus valores por defecto, buscando un alto porcentaje de identidad. Finalmente, utilizando las secuencias recuperadas en los alineamientos de cada gen individual y el software MEGA, para facilitar la visualización, se analizaron tanto las secuencias de nucleótidos como las secuencias de aminoácidos (a.a.) resultantes para poder otorgar una interpretación biológica a los alineamientos encontrados, analizando su completitud y las mutaciones que estos pudiesen tener (Figura 2.1).

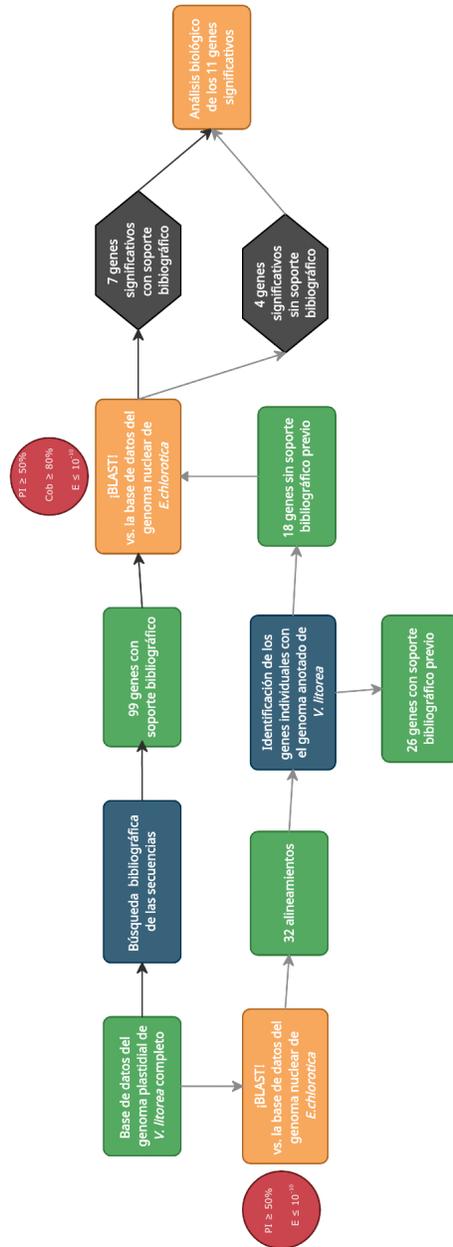


Figura 2.1: Diagrama de flujo del procedimiento realizado. Flechas negras: Primera aproximación. Flechas grises: Segunda aproximación. Rectángulos verde: Bases de datos aún por procesar. Rectángulo naranja: Actividades principales. Círculos rojos: valores significativos para cada parámetro dependiendo de la aproximación en BLAST. Valores Rectángulo azul: Actividades secundarias. Hexágonos negros: Resultados finales de cada aproximación.

Capítulo 3

RESULTADOS Y CONCLUSIONES

3.1. Las búsquedas

Como resultado de los BLAST correspondientes a los 99 genes con soporte bibliográfico previo analizados, 41 genes obtuvieron un porcentaje de identidad mayor al 50%, pero con valores-E mayores a 10^{-10} y con coberturas menores a al 80%, 16 genes obtuvieron un valor-E menor a 10^{-10} , un porcentaje de identidad mayor al 50% pero una cobertura menor al 80% (Tablas 3.2 y 3.3) y sólo 7 presentan valores significativos en los tres parámetros (Tabla 3.1). De los 41 genes, sólo se reporta un gen ya que fue encontrado como parte de un alineamiento con valor-E significativo y un porcentaje de identidad alto en la segunda aproximación (Tabla 3.3). Finalmente, 35 genes no arrojaron ninguna similitud significativa basado en los parámetros de BLAST.

Posteriormente, al realizar la búsqueda comparativa entre el genoma completo del cloroplasto de *Vaucheria litorea* contra el genoma del núcleo de *Elysia chlorotica* (segunda aproximación) se obtuvieron alineamientos significativos con 32 *scaffolds* del genoma nuclear (Cuadros 3.4-3.8). Entre estos *scaffolds* se identificaron 44 genes, de los cuales 26 coincidieron con genes con soporte bibliográfico y 18 sin reportes previos.

Como resultado de los 18 BLAST, correspondientes a los genes sin soporte bibliográfico, se encontraron 4 genes que presentaron valores significativos en los tres parámetros (Cuadro 3.1), 9 presentaron un valor-E y un PI significativos, pero con una cobertura inferior al umbral de 80% (3.3) y 5 presentaron valores significativos sólo en el PI, sin embargo estos genes no son reportados

debido a que tienen valores-E muy altos y no pertenecen a *scaffolds* que presenten un valor-E significativo.

Gen	Cobertura de la consulta (%)	Valor-E	Porcentaje de identidad (%)
<i>chlB</i>	92	0	96
<i>cfxQ</i>	100	0	99
<i>rpl2</i>	100	0	100
<i>rpl19</i>	98	6^{-143}	92
<i>rpl22</i>	100	0	100
<i>rps19</i>	100	2^{-163}	100
<i>atpB</i>	90	0	95
	6	3^{-40}	100
<i>psbI</i> **	100	4^{-55}	98
<i>trnM (CAU)**</i>	100	1^{-38}	99
<i>trnR (CCG)**</i>	100	1^{-31}	99
<i>rpl23**</i>	100	3^{-73}	87

Cuadro 3.1: Genes considerados significativos que presentaron valores significativos en los tres parámetros (Cob, E, PI). ** Genes sin soporte bibliográfico previo

Gen	Cobertura de la consulta (%)	Valor-E	Porcentaje de identidad (%)
<i>atpA</i>	19	8 ⁻¹⁶	84
		3 ⁻⁰⁹	85
		0.044	82
<i>petJ</i>	15	3 ⁻¹⁸	98
<i>dnaK</i>	3	4 ⁻²¹	98
	6	4 ⁻¹⁵	89
		0.014	90
<i>tufA</i>	23	2 ⁻²²	87
		1 ⁻⁰⁴	85
		0.002	82
<i>psaB</i>	2	1 ⁻²⁷	100
<i>ccsA</i>	15	6 ⁻⁶⁸	98
<i>clpC</i>	3	7 ⁻³⁶	100
	2	1 ⁻²⁵	100
<i>ftsH</i>	8	2 ⁻¹⁷	83
<i>secY</i>	6	1 ⁻²⁰	91
<i>rpoB</i>	46	0.0	94
<i>rpoC1</i>	12	3 ⁻¹¹⁴	98
	3	5 ⁻³⁰	100
<i>rrs_2</i>	53	8 ⁻⁵⁶	86
		3 ⁻³⁴	90
		9 ⁻²²	89
		3 ⁻¹⁸	95
		8 ⁻¹⁶	93
		3 ⁻¹⁵	90
		2 ⁻¹³	85
	3	5 ⁻²⁰	100
	4	8 ⁻¹⁶	93
<i>ycf42</i>	26	3 ⁻⁸⁴	100
<i>rps3</i>	62	0.0	99
<i>rpl4</i>	25	3 ⁻⁷²	95
<i>rpl5</i>	10	8 ⁻²³	100
<i>atpE</i> **	73	1 ⁻¹⁶⁸	100
<i>ycf44</i> **	36	0.0	98
<i>psaJ</i> **	31	2 ⁻¹⁴	100
<i>trnL (UAA)</i> **	21	7 ⁻²⁵	97

Cuadro 3.2: Genes que presentaron valores significativos en dos de los parámetros establecidos (E, PI). **Genes sin soporte bibliográfico previo

Gen	Cobertura de la consulta (%)	Valor-E	Porcentaje de identidad (%)
<i>rrs_1</i> **	37	8 ⁻³⁵	90
		3 ⁻¹⁶	93
	12	3 ⁻¹⁶	93
<i>rrl_1</i> **	32	1 ⁻⁵⁰	86
		3 ⁻³⁵	96
		7 ⁻²⁴	93
		2 ⁻²¹	85
		1 ⁻⁰⁹	94
		1 ⁻⁰⁹	81
		9 ⁻⁰⁸	90
		0.001	82
		0.005	90
<i>rrl_2</i> **	32	1 ⁻⁵⁰	86
		3 ⁻³⁵	96
		7 ⁻²⁴	93
		2 ⁻²¹	85
		1 ⁻⁰⁹	94
		1 ⁻⁰⁹	81
		9 ⁻⁰⁸	90
		0.001	82
		0.005	90
<i>trnI (GAU)</i> **	56	3 ⁻¹¹	98
<i>trnFM (CAU)</i> **	74	3 ⁻¹¹	91
<i>psaF</i> ****	6	0.016	91

Cuadro 3.3: Genes que presentaron valores significativos en dos de los parámetros establecidos (E, PI) (Continuación). **Genes sin soporte bibliográfico previo. ****Gen que presentó un valor significativo en el PI, presente en un alineamiento de la segunda aproximación con valor-E significativo

Coincidencia con V. litorea	Hebras	Secuencia de <i>E. chlorotica</i>	Rango	E	PI (%)	Genes
56354-58777	+/-	RQTK01003255.1	1-2425 (completa)	0.0	98	<i>rps3, rpl22, rps19, rpl2, rpl23, rpl4</i>
80908-82337	+/+	RQTK01003420.1	1-1436	0.0	98	<i>ccsA, cfxQ, psbI, trnR (CCG)</i>
82365-82843	+/+		1492-1970	0.0	92	<i>trnM (CAU), rpl19</i>
7418-8897	+/+	RQTK01004186.1	1-1480	0.0	96	<i>chlB</i>
20865-22464	+/-	RQTK01001031.1	4-1603	0.0	94	<i>rpoC1, rpoB</i>
2856-4264	+/-	RQTK01003942.1	1-1407	0.0	97	<i>atpB, atpE</i>
87676-88235	+/+	RQTK01008813.1	1-569 (completa)	0.0	97	<i>ycf44/ccs1, petJ</i>
19248-19476	+/-	RQTK01001326.1	53257-53486	2^{-11}	98	<i>rpoC1</i>
69164-69322	+/-	RQTK01000684.1	99733-99891	6^{-82}	100	<i>ycf42</i>
114100-114359	+/+	RQTK01001610.1	47989-48248	7^{-54}	86	<i>ĪRB'', rrs_2</i>
62985-63244	+/-			7^{-54}	86	<i>ĪRA''</i>
110835-111078	+/+		44648-44891	4^{-49}	86	<i>ĪRB'', rrl_2</i>
66266-66509	+/-			4^{-49}	86	<i>ĪRA'', rrl_1</i>
111470-111563	+/+		45276-45369	1^{-33}	96	<i>ĪRB'', rrl_2</i>
65781-65874	+/-		45276-45370	1^{-33}	96	<i>ĪRA'', rrl_1</i>
114833-114956	+/+	RQTK01001610.1	48746-48869	2^{-32}	90	<i>ĪRB'', rrs_2</i>

Cuadro 3.4: Secuencias significativas arrojadas por la segunda aproximación. +/+ : Comparación de ambas hebras en sentido 5'-3'. +/- : Comparación con la hebra sujeto en contra sentido 3'-5' (Ver Apéndices).

Coincidencia con V. litorea	Hebra	Secuencia de <i>E. chlorotica</i>	Rango	E	PI (%)	Genes
62388-62511	+/-	RQTK01001610.1	48746-48869	2 ⁻³²	90	IRA", rrs_1
112899-112984	+/+		46749-46835	3 ⁻²²	93	IRB", rrl_2
64360-64445	+/-		46749-46836	3 ⁻²²	93	IRA", rrl_1
112295-112433	+/-		46141-46279	7 ⁻²⁰	85	IRB", rrl_2
114628-114726	+/+		48519-48617	7 ⁻²⁰	89	IRB", rrs_2
64911-65049	+/-		46141-46279	7 ⁻²⁰	85	IRA", rrl_1
62618-62716	+/-		48519-48617	7 ⁻²⁰	89	IRA", rrs_1
63599-63660	+/-		47567-47628	7 ⁻¹⁷	95	IRA"
113684-113745	+/+		47567-47628	7 ⁻¹⁷	95	IRB", rrs_2
115101-115161	+/+		49035-49095	6 ⁻¹⁴	93	IRB", rrs_2
62183-62243	+/-			6 ⁻¹⁴	93	IRA", rrs_1
113981-114052	+/+		47864-47935	3 ⁻¹³	90	IRB", rrs_2
63292-63363	+/-			3 ⁻¹³	90	IRA"
113810-113922	+/+		47693-47804	2 ⁻¹¹	85	IRB", rrs_2
63422-63534	+/-			2 ⁻¹¹	85	IRA"
111171-111217	+/+		44984-45030	6 ⁻⁰⁸	94	IRB", rrl_2
112583-112736	+/+		46433-46587	6 ⁻⁰⁸	81	IRB", rrl_2
113584-113625	+/+		47420-47462	6 ⁻⁰⁸	98	IRB", trnI (GAU)
66127-66173	+/-		44984-45030	6 ⁻⁰⁸	94	IRA", rrl_1

Cuadro 3.5: Secuencias significativas arrojadas por la segunda aproximación (Continuación). +/+ : Comparación de ambas hebras en sentido 5'-3'. +/- : Comparación con la hebra sujeto en contra sentido 3'-5' (Ver Apéndices).

Coincidencia con V. litorrea	Hebras	Secuencia de <i>E. chlorotica</i>	Rango	E	PI (%)	Genes
64608-64761	+/-	RQTK01001610.1	46433-46587	6 ⁻⁰⁸	81	<i>IRA''</i> , <i>rri1</i>
63719-63760	+/-		47420-47462	6 ⁻⁰⁸	98	<i>IRA''</i> , <i>trnI</i> (GAU)
110682-110733	+/+		44496-44547	4 ⁻⁰⁶	90	<i>IRB''</i> , <i>rri2</i>
66611-66662	+/-			4 ⁻⁰⁶	90	<i>IRA''</i> , <i>rri1</i>
31186-31228	+/-		23515-23557	1 ⁻⁰⁵	93	<i>trnF</i> (GAA)
93821-93855	+/-		33217-33251	1 ⁻⁰⁵	97	<i>trnG</i> (GCC)
72931-72962	+/-		23433-23464	9 ⁻⁰⁴	97	<i>trnP</i> (UGG)
3704-3795	+/+	RQTK01000269.1	131339-131430	6 ⁻⁴²	92	<i>atpB</i>
84004-84082	+/-	RQTK01000222.1	36172-36250	3 ⁻³⁴	100	<i>clpC</i>
25800-25877	+/-	RQTK01000073.1	743828-743905	1 ⁻³³	100	<i>psaF</i> , <i>psaJ</i>
109724-109788	+/-	RQTK01000243.1	435853-435917	7 ⁻²⁶	100	<i>psaB</i>
85596-85657	+/-	RQTK01000434.1	289577-289638	5 ⁻²⁴	100	<i>clpC</i>
67498-67564	+/+	RQTK01000372.1	352485-352551	3 ⁻²²	97	<i>trnL</i> (UAA)
46279-46413	+/+	RQTK01001904.1	25643-25777	2 ⁻²⁰	97	<i>tufA</i>
46561-46622	+/+		25922-25983	0.014	85	<i>tufA</i>
54023-54078	+/-	RQTK01001108.1	15157-15212	2 ⁻²⁰	100	<i>rpl5</i>
60626-60683	+/+	RQTK01001365.1	86828-86885	3 ⁻¹⁹	98	<i>dnaK</i>
50911-50991	+/-	RQTK01000027.1	236028-236108	1 ⁻¹⁸	91	<i>secY</i>

Cuadro 3.6: Secuencias significativas arrojadas por la segunda aproximación (Continuación). +/+ : Comparación de ambas hebras en sentido 5'-3'. +/- : Comparación con la hebra sujeto en contra sentido 3'-5' (Ver Apéndices).

Coincidencia con V. litorea	Hebras	Secuencia de <i>E. chlorotica</i>	Rango	E	PI (%)	Genes
63595-63646	+/+	RQTK01000282.1	455281-455332	4^{-18}	100	<i>IRA''</i>
113698-113749	+/-	RQTK01000282.1	455281-455333	4^{-18}	100	<i>IRB''</i> , <i>rrs_2</i>
41150-41305	+/+	RQTK01001790.1	37663-37818	1^{-15}	83	<i>ftsH</i>
115101-115161	+/+	RQTK01002387.1	127-187	6^{-14}	93	<i>IRB''</i> , <i>rrs_2</i>
62183-62243	+/-			6^{-14}	93	<i>IRA''</i> , <i>rrs_1</i>
9859-9983	+/+	RQTK01001995.1	15570-15694	6^{-14}	84	<i>atpA</i>
9733-9818	+/+		15411-15496	2^{-07}	85	<i>atpA</i>
60567-60642	+/-	RQTK01002056.1	12613-12688	3^{-13}	89	<i>dnaK</i>
97505-97572	+/+	RQTK01002097.1	12027-12094	2^{-08}	88	<i>trnfM</i> (CAU)
71516-71571	+/+	RQTK01001497.1	78715-78770	2^{-08}	91	<i>ycf24</i>
72507-72557	+/+		79731-79781	1^{-05}	90	<i>ycf16</i>
71308-71349	+/+		78507-78548	6^{-05}	93	<i>ycf24</i>
72688-72772	+/+		79912-79996	6^{-05}	86	<i>ycf16</i>
71405-71452	+/+		78604-78651	9^{-04}	90	<i>ycf24</i>
71602-71672	+/+		78801-78871	0.004	85	<i>ycf24</i>
19487-19522	+/-	RQTK01000514.1	70080-70115	2^{-08}	100	<i>rpoC1</i>
25025-25064	+/-	RQTK01001810.1	9192-9231	4^{-06}	95	<i>trnT</i> (UGU)

Cuadro 3.7: Secuencias significativas arrojadas por la segunda aproximación (Continuación). +/+ : Comparación de ambas hebras en sentido 5'-3'. +/- : Comparación con la hebra sujeto en contra sentido 3'-5' (Ver Apéndices).

Coincidencia con <i>V. litorea</i>	Hebras	Secuencia de <i>E. chlorotica</i>	Rango	E	PI (%)	Genes
93821-93855	+/+	RQTK01001650.1	35966-36000	1 ⁻⁰⁵	97	<i>trnG</i> (GCC)
60587-60630	+/+	RQTK01000283.1	509255-509298	9 ⁻⁰⁴	91	<i>dnaK</i>
46315-46374	+/-	RQTK01000191.1	579590-579649	9 ⁻⁰⁴	87	<i>tufA</i>
47403-47489	+/-	RQTK01001803.1	23104-23190	0.004	83	<i>rps12</i>

Cuadro 3.8: Secuencias significativas arrojadas por la segunda aproximación (Continuación). +/+ : Comparación de ambas hebras en sentido 5'-3'. +/- : Comparación con la hebra sujeto en contra sentido 3'-5' (Ver Apéndices).

Gen	Rango en <i>V. litorea</i>	Longitud (pb)	Rango en <i>E. chlorotica</i>	Longitud (pb)
<i>chlB</i>	7,478-9,005*	1,527	61-1,480	1,420
<i>cfxQ</i>	81,120-82,019	900	219-1,118	900
<i>rpl2</i>	57,456-58,283*	828	496-1,323	828
<i>rpl19</i>	82,461-82,835*	375	1,594-1,962	369
<i>rpl22</i>	56,774-57,121*	348	1,658-2,005	348
<i>rpl23</i>	58,312-58,614	303	164-467	304
<i>rps19</i>	57,131-57,421*	291	1,358-1,646	291
<i>atpB</i>	2,520-3,941	1,422	324-1,614	1,291
<i>psbI</i>	82,090-82,206	117	1,189-1,305	117
<i>trnM</i> (CAU)	82,367-82,451	85	1,494-1,578	85
<i>trnR</i> (CCG)	82,251-82,323	73	1,350-1,422	73

Cuadro 3.9: Mapeo de genes completos con secuencias significativas. *Genes presentes en la hebra complementaria.

3.2. Los genes

Recopilando los genes recuperados entre las dos aproximaciones, se analizaron un total de 117 genes individuales. De estos, 35 genes no mostraron coincidencia alguna. Aparte, 46 genes presentaron un porcentaje de identidad

alto, pero también un valor-E superior a 10^{-10} y una cobertura baja, por lo que los alineamientos pudieron haberse dado por mera probabilidad y no forzadamente por un intercambio de genes [158]. Por otro lado, un total de 36 genes presentaron un valor-E menor al umbral establecido, lo que indica que es muy probable que sean homólogos [158] y, en consecuencia, producto de una posible THG entre *Vaucheria litorea* y *Elysia chlorotica*. Sin embargo, de estos 36 genes, 25 presentan un valor-E y un porcentaje de identidad significativos, sin embargo, su cobertura es menor a un 80%. Dejando a sólo 11 genes que podrían ser funcionales dentro de *E. chlorotica* (Figura 3.1).

Número de genes por categoría de resultados

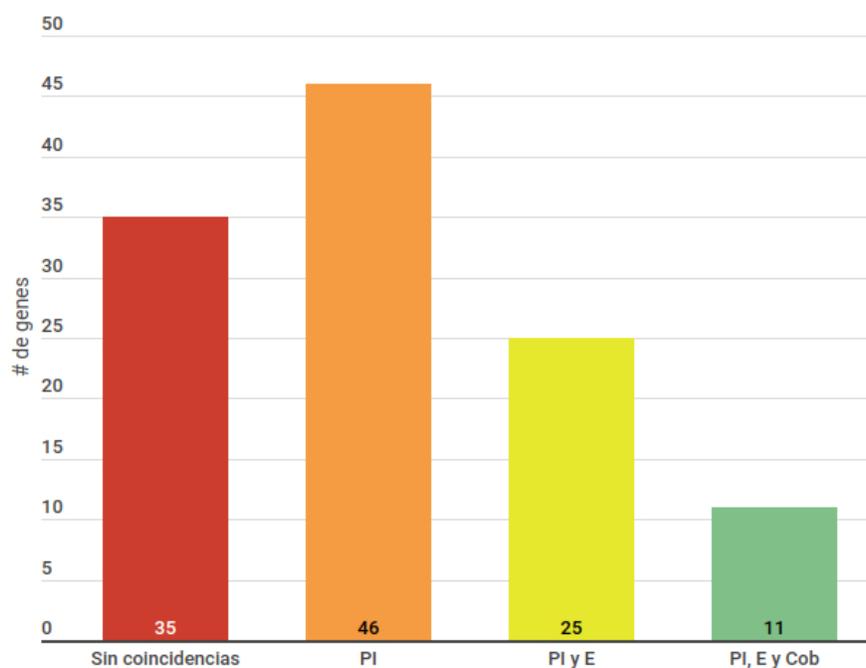


Figura 3.1: Número de genes por categoría de resultados. Verde: Genes que presentaron porcentaje de identidad (PI), cobertura (Cob) y valor-E (E) significativos. Amarillo: Genes con PI y E significativos. Naranja: Genes que solo presentaron un PI significativo. Rojo: Genes que no presentaron coincidencias.

Dentro de los 11 genes mencionados, se encontraron; un gen relacionado a la síntesis de clorofila en la oscuridad [83, 120, 141, 144, 146, 148, 188, 210,

211]; 5 genes que codifican proteínas ribosomales [73, 78, 88, 100, 172, 179, 181, 205]; dos RNAs de transferencia [30, 230]; y tres relacionados con la fotosíntesis [141], de los cuales, uno que codifica un componente del fotosistema II (PSII) [85, 133, 138, 194, 196, 202], el gen de la activasa de la RuBisCO en el linaje rojo [92, 122, 162, 175, 192, 214] y un componente de la ATP sintasa [71, 75, 83].

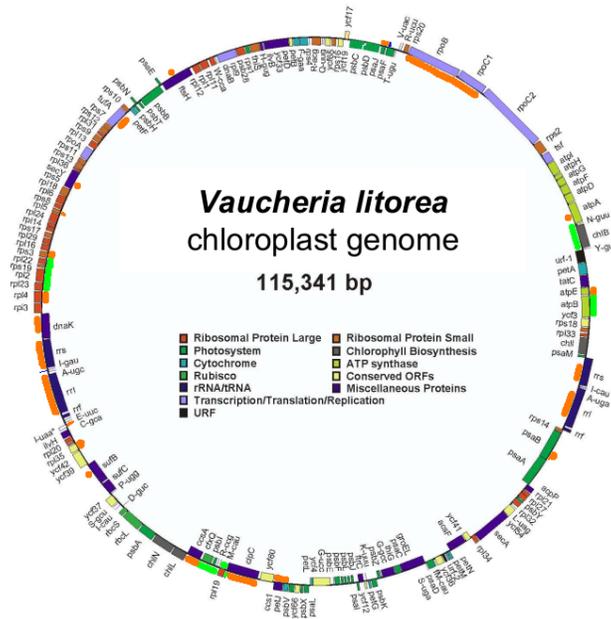


Figura 3.2: Mapa genético del cloroplasto de *V. litorea*. Se resaltan las secuencias significativas (Con un valor-E menor a 10^{-10}) coincidentes con el genoma de *E. chlorotica* (Adaptado de Rumpho y cols. 2008 [127]). Verde: Fragmentos correspondientes a alineamientos significativos; Naranja: Fragmentos correspondientes a alineamientos que presentaron E y PI significativos; Azul; Fragmentos correspondientes a alineamientos que sólo presentaron PI significativo.

chlB

chlB es un gen que codifica la subunidad B de la enzima Protoclorofílida Oxido-Reductasa (POR) [210, 211]. Esta enzima está relacionada con la síntesis de clorofila en la oscuridad [83, 120, 141, 144, 146, 148, 188, 210, 211], al encargarse del penúltimo paso de la síntesis [108], reduciendo la protoclorofílida a clorofílida [120, 188, 198, 210]. Este es un paso regulador de la síntesis de clorofila [120, 211] debido a que la acumulación de protoclorofílida ocasiona la producción de especies reactivas del oxígeno y, en consecuencia, daño letal al

organismo [198].

El gen *chlB*, junto con los genes de las otras dos subunidades de la POR, *chlL* y *chlN* [120, 188, 210, 211], son genes que se encuentran en la mayor parte de los cloroplastos, incluyendo a las algas rojas y a las cianobacterias [108, 144, 188, 198, 210], siendo la única excepción los cloroplastos de las angiospermas [87, 108, 188, 198, 211]. En el caso de las angiospermas, la reducción de la protoclorofílida es realizada por la enzima Protoclorofílida Oxido-Reductasa Dependiente de la Luz (PORDL), por lo que son incapaces de producir clorofila en la oscuridad [87, 108, 198, 210].

Las principales diferencias entre estas dos enzimas son 1) la dependencia de la luz [188], 2) la PORDL es una enzima constituida por un sólo polipéptido [108, 198], contrastando con las tres subunidades de la POR [120, 188, 210, 211], y 3) la enzima dependiente de la luz está codificada en el núcleo de los eucariotes [188, 198], a diferencia de la POR que es codificada en los plastos [188]. Sin embargo, la POR y la PORDL coexisten en los genomas de todos los organismos fotosintéticos [108, 120, 188, 198], lo que sugiere que las angiospermas perdieron la POR en algún momento de su evolución [198].

Con respecto a la THG, se ha reportado su expresión en el sistema *E. chlorotica-V. litorea* [83]. Dentro del genoma del cloroplasto, *chlB* está ubicado desde la base 7,478 a la base 9,004, teniendo una longitud de 1,527bp (Apéndice A.2) y su marco de lectura se da en contra sentido (3'-5') [1]. De forma congruente con otros genomas plastidiales [198, 210], *chlB* se encuentra separado del operón *chlLN* (Figura 3.2), y, al traducir la secuencia de este gen se obtiene una proteína de 508 a.a.

Por otro lado, en *E. chlorotica* la secuencia coincidente con el gen *chlB* de *V. litorea* pertenece al *scaffold* RQTK01004186.1 (Apéndice 3.4) que presenta un valor-E significativo (0.0) y un porcentaje de identidad (PI) del 96%, también significativo. Como resultado del BLAST del gen individual contra el genoma de la babosa, el alineamiento resultante tiene una longitud de 1,480pb y presenta valores significativos en los tres parámetros; un valor-E de 0.0, PI de 96% y una cobertura de consulta (CC) de 92% (Tabla 3.1, apéndices B.2, B.3 y B.5).

Sin embargo, al analizar detenidamente el alineamiento, la secuencia en el genoma nuclear tiene 55 sustituciones en la secuencia de nucleótidos y, aunado a esto, no presenta 107pb que abarcan el inicio del gen (Apéndice B.3). Por otro lado, en el genoma de *E. chlorotica* los nucleótidos faltantes no se observan debido a que el alineamiento, en contrasentido, inicia con el final del *scaffold* RQTK01004186, y al explorar el *scaffold* RQTK01004187 no se encuentran similitudes (datos no mostrados). Entre estos nucleótidos perdidos se encuentra el codón de inicio del RNA mensajero, por lo que, en caso de haber sido transferido desde el plasto de *V. litorea*, no se podría considerar como un gen activo, sino, como un pseudogen putativo silenciado [117].

Proteínas ribosomales

Los ribosomas son los complejos proteicos encargados de la producción de proteínas por medio de la traducción en todos los seres vivos [88, 179]. Estos complejos están compuestos por proteínas ribosomales (PR) y RNA ribosomal (rRNA) [88, 179]. Estos dos grupos de moléculas conforman las dos subunidades de los ribosomas; una grande, 50S en el linaje procarionte (lo que incluye a cloroplastos y mitocondrias) y 60S en eucariontes [88, 179], encargado de la formación del enlace peptídico [172]; y una pequeña, 30S en el linaje procarionte y 40S en eucariontes, encargado de la decodificación de la información del mRNA [88, 179].

En el caso de las mitocondrias y los plastos, tanto las PR como los rRNA se encuentran codificados en genes repartidos entre el genoma de los organelos y el genoma nuclear del hospedero, cuyos productos son reimportados post-transcripcionalmente al interior del organelo, variando en cuanto a los genes presentes en ambos genomas [179, 216], aunque los plastos de las algas rojas típicamente contienen los genes de la mayoría de las proteínas ribosomales (de 45 a 47 genes) [89].

Particularmente, los genes que codifican las PR de los cloroplastos varían en ubicación de forma plasto-específica [223], teniendo una amplia diversidad en sus contenidos. Un ejemplo de esto es el caso del conjunto de genes que recibe los nombres de *s10* [195, 205, 223], *L23* [204], *ctL23* [187] o *L2* [195], dependiendo de los genes que contenga y la especie en la que esté presente. Este conjunto es relevante para esta tesis, ya que típicamente codifica los genes *rpl23-rpl2-rps19-rpl22*, en ese orden, que es conservado incluso en procariontes, aunque el número de genes puede variar [89, 138, 143, 181, 187, 195, 204-206, 223]. Esta variedad se da debido a que estos genes han sido transferidos o sustituidos a lo largo de la historia evolutiva de la relación del plasto con su hospedero [89, 138, 195, 204-206, 223].

En el plasto de *V. litorea* se encuentran codificadas 45 proteínas ribosomales, 27 correspondientes a la subunidad grande y 18 a la subunidad pequeña [6], las cuales están acomodadas en distintos conjuntos que varían en cantidad de genes (Figura 3.2). Entre estos genes destacan *rpl23*, *rpl2*, *rps19*, *rpl22*, los cuales se encuentran muy próximos entre sí, y *rpl19*, al haber sido encontrados en las búsquedas de BLAST contra el genoma de *E. chlorotica*. En cuanto a los cuatro primeros, estos se encuentran en un conjunto genético muy amplio, que presenta 17 genes de PR de forma continua (Figura 3.2), en un acomodo que recuerda al operón *s10* de distintos organismos [89, 138, 143, 181, 187, 195, 204-206, 223]. Aunado a esto, al ser genes de un cloroplasto secundario de linaje rojo, los cinco son ortólogos a los genes de *E. coli* [88, 181], los cuales fueron utilizados como referencia para el análisis de las secuencias encontradas.

rpl2

rpl2 es considerado como universal, ya que este gen, o sus homólogos, se encuentra presente en los genomas de todos los dominios de la vida [73, 78, 88, 100, 172, 179, 181, 205], típicamente, como parte del operón *s10*. Si bien se encuentra en todos los seres vivos y tiene una secuencia bastante conservada [73, 88, 172], en el caso de los cloroplastos de las plantas, este gen se ve interrumpido por un intrón [179, 206], el cual no se encuentra en ningún otro genoma del linaje fotosintético [89, 138, 143, 181, 187, 195, 204-206, 223].

Su producto es la proteína ribosomal L2 [83, 143, 179], la cual es una parte esencial de la subunidad grande del ribosoma [184, 233]. En el linaje procarionota, esta proteína se encuentra muy cerca del centro peptidil transferasa [88, 172, 184] y cumple roles altamente importantes en el complejo proteico como: 1) promover el plegamiento del rRNA 23S, que es el encargado de la actividad peptidil transferasa [78, 184, 205]; 2) ser una de las promotoras del ensamblaje de la subunidad grande [78, 172]; 3) conformar el puente de unión más esencial entre las dos subunidades, junto con S20 [78, 88, 172]; 4) participar en la unión de los tRNA en los sitios P y A del ribosoma [88, 172]; y 5) fungir como un regulador transcripcional de operones relacionados con la actividad traduccional [88]. Aunado a su diversidad de roles, tiene secuencias tanto de nucleótidos como de a.a. altamente conservadas [73, 88, 181, 205] y mutaciones puntuales, como en la His229 de *E. coli*, degeneran en fenotipos letales [88, 172, 184].

En cuanto a su posible THG, no se encontraron reportes de que este gen haya sido transferido del cloroplasto al núcleo del hospedero [73, 205], fuera de los reportes de relacionados a Sacoglossanos como los estudios en *Plakobranchus ocellatus* [100] y entre *E. chlorotica* y *V. litorea* [83]. En el genoma plastidial de *V. litorea*, la secuencia *rpl2* tiene una longitud de 828 pb (Apéndice A.4), cuyo producto es una secuencia de 275 a.a., teniendo una diferencia de sólo 6 nucleótidos, o dos residuos, de la secuencia de 826pb en *E. coli* [8, 11]. *rpl2* abarca del nucleótido 57,456 al nucleótido 58,283 (Apéndice A.4) y, al igual que en muchos genomas plastidiales, este gen se forma parte del grupo genético *s10* (Figura 3.2).

Por otro lado, en el genoma de *E. chlorotica* la secuencia homóloga a *rpl2* se encuentra en el *scaffold* RQTK01003255.1, junto con otros genes que forman al grupo *s10* (Tabla 3.4). En el análisis de BLAST, RQTK01003255.1 obtuvo valores significativos, una E de 0.0 y un PI de 98%. Mientras que en el análisis del gen individual, este obtuvo los valores más significativos posibles, con una E de 0.0, un PI de 100% y una cobertura del 100% (Tabla 3.1, apéndices C.2, C.3 y C.5). Siendo exactamente iguales y conservando todos los residuos vitales para la función de la proteína y la supervivencia de un organismo [88, 172, 184].

Sin embargo, al no haber reportes previos de que este gen haya sido transferido al genoma nuclear, es posible de que, en caso de ser traducido, este gen

no pueda ser reimportado al plasto. A menos que use la misma ruta que otros genes transferidos, en caso de que exista tal ruta. Mientras que, por parte de su función secundaria, sólo se ha reportado que esta proteína funge como promotor transcripcional en el linaje procariota, por lo que sólo podría cumplir este en caso de ser reimportado al cleptoplasto. Por lo tanto, si bien la secuencia encontrada en el núcleo esta altamente conservada, es necesaria más investigación para poder determinar si este es un gen funcional involucrado en la actividad plastidial dentro de *E. chlorotica*.

rps19

rps19 es un gen perteneciente al grupo s10 en el linaje procarionte [205]. Gen al cual también se le considera como universal [78, 182] y como una proteína núcleo del ribosoma, al estar bastante conservada en la gran mayoría de cloroplastos y mitocondrias [175, 181, 182, 205]. Este gen codifica la proteína ribosomal S19 [83, 98, 178, 182, 205], la cual es participe en el proceso de decodificación del mRNA [98, 178, 182], en la traslocación del tRNA del sitio A al sitio P del ribosoma [104] y protege al rRNA 16S [178, 182]. Aunque no se le considera como una proteína de ensamblaje primario al requerir de que otras proteínas están unidas al rRNA 16 para que esta pueda ensamblarse [205].

Con respecto a su distribución, este gen está codificado en el plasto de todas las plantas estudiadas hasta la fecha [73, 181, 205] y se ha sugerido su expresión en el sistema *Elysia-Vaucheria* [83]. Dentro del plasto de la heteroconta, *rps19* forma parte del grupo s10 (Figura 3.2), entre la base 57,131 y la 57,421, teniendo una longitud total de 291pb (Apéndice A.4), y presentando una diferencia de 12pb, o 4 residuos, de la secuencia de 279pb en el genoma de *E.coli* [14, 15].

Mientras que en el genoma de *E. chlorotica*, la secuencia homologa a *rps19* se encuentra en el *scaffold* RQTK01003255.1, ya descrita (ver *rpl2*). En su BLAST individual, este gen presentó valores muy similares a los de *rpl2*, con diferencia sólo en su E, la cual es de 2^{-163} , que sigue siendo significativo (Tabla 3.1, apéndices D.2, D.3 y D.5). Al presentar un PI del 100% todos los aminoácidos que componen a esta proteína está presentes en la secuencia genética [182].

De forma similar a *rpl2*, este gen no tienen reportes de haber sido transferido desde el plasto hacia el núcleo, por lo que no es tan sencillo sugerir que este gen pueda ser reimportado al núcleo y, aunque este es un gen considerado como universal [78, 182], también se ha reportado que la secuencia de *rps19* de linaje procariota y la eucariota difieren [182], aunado a que tampoco se ha reportado una sustitución de la *rps19* eucariota por una *rps19*, por lo que es difícil sugerir que este gen pueda tener una actividad determinada en *E. chlorotica*. Por lo tanto, lo más plausible es que el producto de este gen fuese reimportado al plasto, pero es necesaria más investigación para poder afirmar o negar esta suposición, así como es necesario investigar lo concerniente a su

transcripción en *E. chlorotica*.

rpl22

rpl22 es otro gen miembro del grupo s10 del linaje procariota. Sin embargo, este gen no es exclusivo de los procariontes, sino, que es uno de los genes considerados como universales [78]. La distribución de este gen resulta bastante particular, ya que si bien está presente en la gran mayoría de los cloroplastos primarios [73, 181, 205, 216], hay ciertas excepciones. Un ejemplo es el caso del linaje rojo en donde varios plastos secundarios carecen de este gen, sin que quede claro si fueron transferidos al núcleo o si el gen fue perdido [73]. Otro ejemplo se encuentra en el linaje verde, en donde el gen se ubica en la gran mayoría de los plastos, con tres excepciones, *Chlamydomonas reinhardtii* [205], la planta parasítica *Epifagus virginiana* [205] y en la familia Fabacea de las angiospermas [22, 168, 204, 205, 216].

El caso de las leguminosas es bastante relevante, ya que se ha confirmado que, en chícharo (*Pisum sativum*), el gen está en el genoma nuclear y la proteína resultante es reimportada al cloroplasto, lo que es un caso de THE clásica [22, 168]. Sin embargo, este gen presenta una característica que no se observa en ningún otro gen *rpl22* plastidial secuenciado a la fecha [22], la cual es que se encuentra dividido por un intrón que separa a dos dominios funcionales distintos de la misma proteína [22, 205, 216]. En el caso de los sacoglossanos, sólo se ha sugerido que este gen ha sido transferido desde el plasto de *V. litorea* al genoma nuclear de *E. chlorotica* en un estudio [83].

rpl22 codifica a la proteína ribosomal L22 [83, 168], la cual está conservada a lo largo del linaje fotosintético [78]. Esta proteína es bastante particular al ser parte de dos grupos funcionales en las que pocas PR se encuentran. El primer grupo es el de las proteínas necesarias para la formación del núcleo de la subunidad 50S, junto con L4, L13, L20 y L24 [189, 205]. Como parte de este grupo juega un papel como proteína de ensamblaje, al unirse de forma temprana en la formación de la subunidad grande al rRNA 23S y promoviendo el plegamiento del RNA [189, 205]. De aquí se desprende su rol principal en el ribosoma, que es el de proteína estructural, ya que se une a distintos dominios del rRNA 23S, manteniendo su plegamiento [78, 189] y, en consecuencia, ayudando a mantener la actividad del rRNA encargado de la actividad peptidil transferasa [78, 184, 205]. El segundo grupo al que pertenece es al de las proteínas que forman parte del canal de salida del ribosoma, junto con L4 y L23 [76, 155, 189]. Debido a esta disposición se ha sugerido que L22 tiene algún rol en la expulsión del polipéptido recién formado [155].

En el genoma plastidial de *V. litorea*, este gen es parte del grupo s10 y tiene una longitud de 348 pb, que van de la base 57,121 a la base 56,774, teniendo su marco de lectura en contrasentido [9]. El producto de esta secuencia es un

polipéptido de 115 a.a., lo que difiere en 2 residuos de la secuencia de L2 en *Thermus thermophilus* [13, 189]. En este caso se comparó a la secuencia de *V. litorea* con la de *T. thermophilus* en vez de *E. coli* debido a que no se encontraron artículos que describan la estructura tridimensional de la proteína de la segunda bacteria. Sin embargo, aunque existe esta diferencia en cantidad, e incluso hay varias sustituciones de aminoácidos (datos no mostrados), los residuos conservados y considerados clave [189] se encuentran en la secuencia de *V. litorea* (Apéndice E.5).

Por otro lado, en *E. chlorotica*, la secuencia homóloga a *rpl22* se encuentra en el *scaffold* RQTK01003255.1, al igual que otros genes del grupo s10, y cuyo BLAST ya fue previamente descrito (ver *rpl2*). En cuanto al BLAST con la secuencia de *rpl22*, el alineamiento obtuvo los valores más significativos posibles, con una E de 0.0, un PI del 100 % y una cobertura también del 100 %, indicando que ambas secuencias son exactamente iguales (Tabla 3.4 y Apéndices E.2, E.3 y E.5).

Debido a esta similitud y a que *rpl22* tiene antecedentes de haber sido transferido de cloroplasto a núcleo y la proteína producto es reimportada al organelo, se puede considerar a este gen como transferido funcional putativo. Dentro de la babosa, es difícil que cumpla otro papel fuera del estructural en el ribosoma ya que no hay reportes de que este gen presente otra actividad, al menos como parte del linaje procariota. Sin embargo, aún falta evidencia de los mecanismos de traducción y reimportación al plasto para poder asegurar que sea un gen transferido y funcional.

rpl23

El gen *rpl23*, al igual que las otras PR ya discutidas, forma parte del grupo s10 de distintos cloroplastos y bacterias, siendo el gen más cercano al promotor del operón tipo s10 [204, 205]. Este gen es considerado como parte del grupo de las PR universales [78, 205] aunque este gen tiene una importancia especial, ya que la pérdida o disfuncionalidad de la proteína L23 es una mutación letal [204].

Este gen codifica a la PR L23 de la subunidad grande del ribosoma [83, 160]. Esta proteína presenta dos actividades importantes en el proceso de formación de las proteínas. El primero es el de proteína de ensamblaje, al unirse de forma temprana al rRNA 23S [78, 160] y posteriormente reclutar a otras PR de la subunidad 50S [78, 160, 204]. Una vez ensamblado el ribosoma, esta proteína se encuentra cerca del CPT [172] y forma parte del canal de salida del péptido [160]. En esta posición es en donde manifiesta su segundo rol, al ser el punto de unión para la partícula de reconocimiento de señal [157, 160], el factor desencadenante [160] y para SecA [90], jugando un papel importante en los procesos de plegamiento de la proteína de traslocación de las mismas [160].

Motivo por el cual la falta del gen *rpl23* es una mutación letal [204].

En cuanto a su distribución, el gen *rpl23* se encuentra en la gran mayoría de los cloroplastos, aunque hay ciertas excepciones [73, 205]. Una de estas es la ausencia del gen en plastos secundarios de linaje rojo [73], en las cianelas de las glaucofitas [181, 205] y en la planta parasítica *Cuscuta reflexa* [205], sin que se aclare si fue transferido, perdido o sustituido.

Sin embargo, las excepciones que más resaltan son las presentes en plantas. Esto es debido a que en varios grupos este gen se llega a ver interrumpido ya sea por deleciones o mutaciones sin sentido [205]. Esto se ve claramente en el cloroplasto de varias especies del Orden Caryophyllales, en donde el gen se ve interrumpido por inserciones o deleciones que conllevan a un gen no funcional [204, 223], por lo que se le considera un pseudogen [22, 168, 179, 204, 205, 223]. Este hecho llevó a la creencia de que este gen había sido transferido al núcleo [22, 168, 223]. Sin embargo, se confirmó que el *rpl23* del cloroplasto de la espinaca (*Spinacia oleracea*) no fue transferido al núcleo, sino que fue sustituido por un gen homólogo a la proteína L25 de la subunidad 80S del ribosoma citoplasmático [168, 179, 204, 205].

Dentro del genoma plastidial de *V. litorea*, este gen es parte del grupo de genes *s103.2*, presenta su marco de lectura en contra sentido y tiene una longitud de 303pb, que van de la base 58,312 a la base 58,614 ([10]). Su producto presenta una longitud de 100a.a., difiriendo de la secuencia de *T. thermophilus* en 4 a.a. [160].

En el caso de la secuencia homóloga a *rpl23* en *E. chlorotica*, esta se encuentra en el *scaffold* RQTK01003255.1 al igual que los otros genes pertenecientes al grupo *s10*, cuyo BLAST ya fue descrito (ver *rpl2*). Con respecto al alineamiento con *rpl23* generado por BLAST, este obtuvo una cobertura del 100%, aunque con una E de 3^{-73} y un PI del 87%, que si bien son valores significativos, son merecedores de atención (Apéndices F.2, F.3 y F.5). Al analizar la secuencia alineada, se puede notar que esta presenta un total de 40 sustituciones a nivel de nucleótidos y una inserción, lo que explica que tenga una longitud de 304 pb, a diferencia de las 303 pb del gen plastidial. Esta inserción posiblemente se encuentra en la posición 189, ya que BLAST colocó un hueco (gap) en esa posición. Sin embargo, en las siguientes dos posiciones hay nucleótidos sin alinear, por lo que cualquiera de las T's ahí presentes podrían ser la inserción (Apéndice F.5).

Con respecto a las sustituciones previas a la posición 189, estas reflejan sustituciones de 10 aminoácidos, aunque sólo uno de estos cambios ocurre en un a.a. considerado como esencial [160]. Por otra parte, al pasar de la posición 189, la sustitución genera que el marco de lectura se vea totalmente modificado, lo que se traduce en otros 32 cambios en la secuencia de a.a. que incluyen 5 mutaciones sin sentido en las posiciones 66, 70, 78, 82 y 95 (Apéndice F.5). Tomando

en cuenta sólo al primer codón stop fuera de lugar, con este se pierde desde el a.a. 66 al 100, lo que se traduce en la pérdida del 44 % de la proteína y, si bien la gran mayoría de los a.a. claves se mantienen en la secuencia, varias regiones se ven perdidas con esta mutación [160]. Una de las pérdidas más relevantes es la región bucle desordenada grande, la cual va del a.a. 60 al 75 (En enumeración de *T. thermophilus*) y participa en la interacción entre la proteína y el rRNA 23S, que es un paso fundamental en su participación dentro del ribosoma [160].

En cuanto su posible actividad dentro de *E. chlorotica*, al perder la región bucle desordenada grande, es posible que su plegamiento se vea afectado, así como su unión a RNA y, en consecuencia, el plegamiento del rRNA 23S. En cuanto a otra actividad fuera del ribosoma, a diferencia de otras proteínas ribosomales, la codificada por *rpl23* plastidial no presenta reportes sobre esto. En consecuencia, y debido a las sustituciones y la pérdida a nivel de proteína ocasionadas por la inserción, esta secuencia difícilmente puede ser un gen funcional.

rpl19

Finalmente, *rpl19*, a diferencia de los genes previamente descritos, no forma parte de algún grupo de genes ribosomales (Figura 3.2). Este gen está presente exclusivamente en el linaje procariota [78]. Aunado a lo anterior, esta proteína es altamente divergente, presentando porcentajes de identidad desde el 37.3 % hasta el 97 % entre organismos procariotas y organelos [136, 179]. Sin embargo, este ha sido catalogado como un gen esencial, ya que la falta de su proteína producto, la proteína L19, degenera en un desarrollo deficiente [52].

La proteína L19 se encuentra a un costado del ribosoma 50S, en donde tiene una fuerte interacción con la proteína L14, con la que forma una hoja- β intermolecular [136], que tiene tres roles principales como parte del ribosoma. El primero es la formación del puente intersubunidad B8, con L19-L14 del lado de la subunidad 50S, y el rRNA 16S del lado de la subunidad 30S [52, 78, 136, 155]. Por lo que, junto a L2 es una de las pocas proteínas de la subunidad grande que entran en contacto con la subunidad pequeña [136]. Como segundo rol, y consecuente con el primero, el complejo L19-L14 participa en preservar la fidelidad de la traducción, manteniendo el plegamiento del rRNA16S [136]. Y como tercer rol en el ribosoma, el puente B6 está involucrado en la señalización entre el centro de decodificación y el centro asociado a GTPasa, donde ocurre el enlace peptídico [52]. Por otro lado, se ha reportado que, de manera individual, L19 tiene la capacidad de ser chaperona, ya sea del tipo Janu (promiscua), al participar en la reactivación, ante inhibición química y por shock térmico, y replegamiento de otras proteínas [52] o como chaperona en el splicing de distintos RNAs [155].

Con respecto a su distribución, *rpl19* se encuentra típicamente en los plas-

tos de linaje rojo [175, 181], con excepción de algunos plastos secundarios [175]. Por otra parte, en el linaje verde, se ha confirmado que este gen es codificado en el núcleo de la espinaca (*E. oleracea*), muy posiblemente a causa de una transferencia horizontal [179], lo que podría explicar la ausencia del gen en los plastos otras plantas [175]. En el caso de los sacoglossanos, se ha propuesto que este gen fue transferido del plasto de *V. litorea* al genoma nuclear de *E. chlorotica* [83].

En el genoma plastidial de *V. litorea*, *rpl19* presenta su marco de lectura en contra sentido [7] y se encuentra lejos de los grupos de genes que codifican proteínas ribosomales (Figura 3.2), abarcando desde la base 82,461 a la base 82,835, teniendo una longitud de 375pb (Apéndice A.5), lo que se traduce a un polipéptido de 124 a.a. La secuencia de *V.litorea* difiere en longitud de la de *E. coli* por 27 pares de bases [7, 12], lo que se traduce a 9 a.a extra en la secuencia del cloroplasto.

En sus respectivos estudios, Maisnier-Patin y cols. en 2007 [136] y VanNiece y cols. 2016 [52] identificaron los aminoácidos clave de la proteína L19, los cuales se encuentran en la secuencia de *V. litorea*, en particular el fundamental Gln50 (Apéndice G.5) (Q40 en conteo de *E. coli* [52, 136]). Sin embargo, existen cinco sustituciones en los aminoácidos esenciales, de las cuales cuatro son sustituciones que permiten el mantenimiento de la función [156] (V41I, R97K, V101I y R122K). Por otro lado, la sustitución W40L, si bien el sustituir un triptófano es delicado [156], en este caso el aminoácido pertenece a la estructura de una hélice que interactúa con el rRNA 16S [52], por lo que la sustitución por una leucina puede no afectar la estructura de la hélice [156]. Aunado a esto, existen múltiples sustituciones en la región que forma la lámina- β junto con L14 (datos no mostrados). No obstante, al ser la secuencia de un organismo fotosintético del cual no se reportó un crecimiento deficiente a causa de estas sustituciones, es posible que estos cambios con respecto a *E. coli* no sean perjudiciales para el organismo, ya sea porque estos aminoácidos no son tan esenciales en los cloroplastos o porque los aminoácidos extra que presenta la secuencia de *V. litorea* son capaces de amortiguar las mutaciones.

Por otra parte, la secuencia homóloga a *rpl19* pertenece, junto con *trnM* (CAU), *ccsA*, *cfxQ*, *psbI* y *trnR* (CCG), al *scaffold* RQTK01003420.1, aunque en una región distinta a la de los últimos cuatro genes mencionados, más específicamente a la región que va de la base 1,492 a la base 1,970. El BLAST de esta región presenta valores significativos, con una E de 0.0 y un PI del 92 % (Tabla 3.4). En cuanto al BLAST individual, el alineamiento presenta una E de 6^{-143} , un PI del 92 % y una cobertura del 98 % (Tabla 3.1, apéndices G.2, G.3 y G.5). Si bien todos los valores son significativos, estos se deben a que la secuencia presente en *E. chlorotica* presenta 28 cambios a nivel de la secuencia de nucleótidos (Apéndice G.5), las cuales solo se traducen en 7 sustituciones a nivel de a.a., sin embargo, ninguna de estas sustituciones ocurre en un a.a esencial [52, 136].

Aunado a esto, la cobertura del 92 % se debe a que los últimos 6 nucleótidos de la secuencia de *rpl19*, que abarca a un codón de asparagina (AAC) y al codón de stop (TAA), no se encuentran en el alineamiento. Sin embargo, al analizar con detenimiento la secuencia del *scaffold* RQTK01003420.1, se observa que la secuencia sí contiene dichos codones, sólo que el codón AAC fue cambiado por un codón TTT (fenilalanina) (Apéndices G.6, G.7 y G.8), lo que puede ayudar a entender porqué el BLAST del NCBI no fue capaz de recuperar estos seis nucleótidos. Aunado a estas tres sustituciones, a menos de 20 nucleótidos del final de la secuencia, se encuentran otras tres sustituciones que pueden bajar el puntaje de la secuencia, basado en el sistema de puntuación, y el hecho de que se creara un hueco en esas tres bases implicaría un decremento mayor al puntaje del alineamiento que no sería soportado por alinear las tres últimas bases correspondientes al codón de stop, lo que detona en que el alineamiento termine en la base 369 de *rpl19* [158].

Si bien la secuencia homóloga a *rpl19* presente en *E. chlorotica* tiene varias sustituciones, al conservar los aminoácidos más esenciales es posible que sea una proteína funcional en caso de ser traducida, proceso que es posible que ocurra sin problemas al presentar tanto codón de inicio como codón de stop. Aunado a esto, es posible que, en caso de no ser reimportada, tenga un rol como chaperona Janu de otras proteínas ante estrés térmico o químico o en el splicing de RNAs del hospedero. Finalmente, al haber antecedentes de que esta proteína es reimportada desde el núcleo hacia el plasto, es posible que esto también ocurra dentro de la babosa. Sin embargo, la parte traduccional de esta secuencia es un tema en el que queda ahondar. No obstante, la secuencia homóloga a *rpl19* tiene varias características para ser propuesta como un gen putativo funcional transferido horizontalmente.

RNAs de transferencia

Los RNAs de transferencia (tRNAs) son un conjunto de RNAs de secuencia corta menores a 100 bases [61, 226, 228] y representan un rol crucial el proceso de traducción de proteínas [24, 61, 129, 226, 229]. Los tRNAs son los encargados de transportar los aminoácidos, en forma de aminoacil-tRNAs, al interior de los ribosomas y de mantener la cadena de a.a. dentro de los mismos durante la elongación, en forma de peptidil-tRNA [61, 205, 226, 229]. Durante la elongación, los tRNAs participan, junto con la subunidad pequeña de los ribosomas [88, 179], en la decodificación del mRNA gracias a que la secuencia codón del mRNA reconoce por complementariedad a la secuencia anticodón; secuencias de tres bases específicas al a.a. cognado que porta el tRNA [104, 226, 229].

Los tRNAs pueden participar en estos procesos ya que, a pesar de ser una sola hebra de bases nitrogenadas, tienen la capacidad de plegarse y autocomplementarse por puentes de hidrógeno en una estructura secundaria con forma

de trébol que presenta partes bien diferenciadas [24, 44, 104, 226, 229], salvo algunas excepciones [24, 44, 61]. La primer parte de esta estructura es el brazo aceptor, formado por un tallo que porta una cola de secuencia CCA que suele ser agregada de forma postranscripcional en la mayoría de los tRNAs, y es la encargada de unirse al a.a. correspondiente [44, 129, 205, 229]. A su vez, el brazo aceptor es un componente importante en el reconocimiento del factor-Tu (Ef-Tu) durante el proceso de elongación [229]. De forma paralela se encuentran los brazos D y T (TΨC), subestructuras tallo-bucle cuyo plegamiento e interacción otorgan la característica forma de «L» que distingue a la estructura terciaria de los tRNAs [24, 44, 226]. Dicho plegamiento es importante ya que da la forma que permite la interacción con múltiples proteínas, así como la incorporación dentro del ribosoma [24, 44, 165]. En la posición más inferior, y alejada del brazo aceptor, se encuentra el brazo anticodón la tercer estructura tallo-bucle, encargada de presentar la secuencia que será reconocida por el mRNA [44, 104, 129]. Finalmente, se encuentra el bucle variable, en una posición entre el brazo anticodón y el brazo T. Este difiere bastante en longitud dependiendo del tRNA y juega un rol en el reconocimiento de la aminoacil-tRNA sintetasa para tRNA^{Ser}, tRNA^{Leu} y el tRNA^{Tyr} bacteriano [44, 61, 129, 165] (Figura 3.3).

Además del agregado de la cola -CCA 3' terminal, los tRNAs pasan por una gran diversidad de modificaciones post-transcripcionales, pudiendo presentar 93 de las 112 modificaciones que ocurren en los RNAs [24, 44]. Entre estas, 17 modificaciones son universales, aunque su presencia varía dependiendo del isoceptor [24, 44]. Las más comunes son las metilaciones, las tiolaciones y la transformación de uracilo a pseudouridina, transformación que es ubicua en los tRNAs y le otorga el nombre al brazo TΨC [24, 44, 61, 170]. La relevancia de estas modificaciones recae en que, al ser dependientes del aceptor, le otorgan identidad a los tRNAs y, a su vez, son fundamentales para el establecimiento de la estructura en «L» [44, 61, 170] (Figura 3.3).

En cuanto a su distribución, si bien los genes que codifican tRNAs están bastante conservados aún entre dominios [119, 205], varían ampliamente en cantidad de organismo en organismo [205, 226]. Esto se observa, por un lado, en genomas que presentan múltiples genes que codifican tRNAs isoceptores para el mismo codón en el núcleo de eucariontes [226]. Mientras que, en una situación opuesta, está el caso de algunas mitocondrias que, a raíz de eventos de transferencia horizontal, llegan a codificar sólo 18 tRNAs, menos de los 20 necesarios para cada a.a. [183]. Aunado a esto, la distribución de estos genes dentro de un mismo genoma es bastante distinto, estando en grupos densos de genes de tRNAs en algunos casos, o esparcidos en distintas regiones dentro un mismo cromosoma, e incluso en múltiples cromosomas [205, 226].

En el caso particular de los cloroplastos de las algas rojas, estos llegan a codificar de 29 a 37 genes de tRNAs, suficientes para poder efectuar la traducción [89]. No obstante, no hay evidencia directa sobre una THG de genes de tRNA

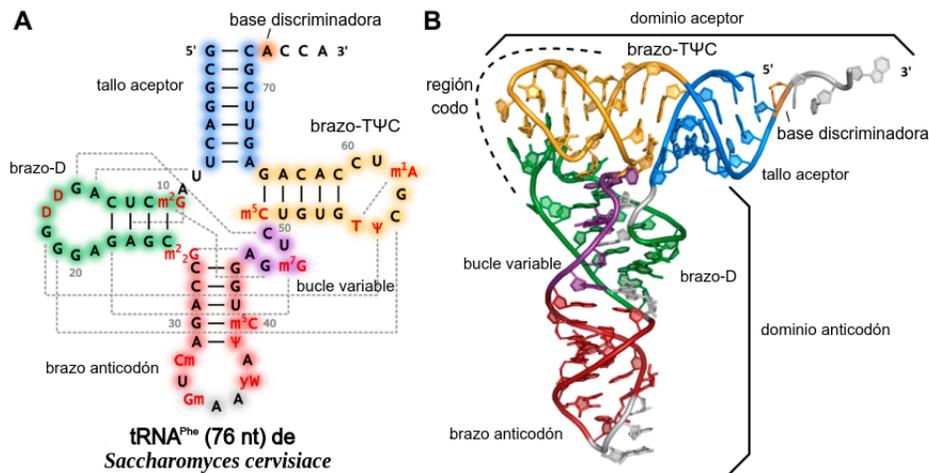


Figura 3.3: Estructuras del tRNA. (A) Estructura en trébol secundaria. (B) Estructura en «L» tridimensional. (Modificado de [44]).

desde los plastos al núcleo del hospedero [22, 205]. Siendo lo más cercano, la ausencia de genes de tRNA suficientes para la traducción en los cloroplastos de *Epifagus* [205]. Sin embargo, al ser una planta no fotosintética, se pone en duda dicha transferencia [205]. Las únicas transferencias de genes de tRNA desde los cloroplastos es en dirección a las mitocondrias de varias angiospermas, en cuyo caso los genes plastidiales reemplazaron a los genes mitocondriales perdidos; *trnD*, *trnH*, *trnM*, *trnN*, *trnP*, *trnS*, *trnV*, y *trnW* [22, 34, 89, 145, 183].

En el genoma plastidial de *V. litorea*, se encuentran codificados 27 tRNAs [16], dos menos de lo típico en algas rojas, pero aún suficientes para realizar la síntesis de proteínas [89]. Entre estos genes es que se encuentra el único intrón en el genoma del alga, en el gen *trnL (uua)* [127], lo que es congruente con la proporción baja de genes de tRNA con intrones [27]. En cuanto a su distribución dentro del genoma plastidial, estos genes se encuentran dispersos por todo el genoma de forma individual o en conjuntos de máximo tres tRNAs (Figura 3.2), siendo congruente con descripciones previas [138, 181, 205, 212]. Entre estos 27 genes destacan dos, *trnM (CAU)* y *trnR (CCG)*, ya que se encontraron secuencias homólogas a estos genes en el genoma nuclear de *E. chlorotica*.

trnM (CAU)

La metionina juega dos roles en la traducción, es el iniciador de dicho proceso y puede ser un a.a. interno en el polipéptido [230]. Debido a esto, es que

existen dos tRNA^{Met}s distintos. Uno es el tRNA_m^{Met} o tRNA^{Met}, el cual entra en acción en las posiciones internas de los polipéptidos, mientras que el tRNA_f^{Met}, actúa en la iniciación de la traducción [104, 129, 205, 230], y se distingue por portar una metionina que presenta un grupo carbonilo (fMet), el cual suele ser retirado de manera post-traducciona [110, 166, 179].

En el caso de *V. litorea*, ambos tRNAs se encuentran codificados en su genoma plastidial, en los genes *trnfM* (CAU) y *trnM* (CAU), respectivamente [16], aunque en posiciones alejadas (Figura 3.2). Sin embargo, el que interesa en esta tesis es el gen *trnM* (CAU). Este gen se encuentra entre la base 82,367 y la 82,451 [17], una posición que es congruente con reportes previos que indican que este gen se presenta en posiciones plasto-específicas [138, 181, 205, 212]. En cuanto a su longitud, esta es de 85 pb, lo que se transcribe como un tRNA de la misma longitud.

Con respecto a la secuencia homóloga a *trnM* (CAU) en el genoma de *E. chlorotica*, esta pertenece a la región 1,492-1,970 del *scaffold* RQTK01003420.1, junto con *rpl19* (Tabla 3.4) y cuyo BLAST ya fue analizado (ver *rpl19*). En cuanto a su alineamiento individual, este obtuvo una E de 1^{-38} , una cobertura del 100 % y un PI del 99 % (Tabla 3.1, apéndices H.2, H.3 y H.5). Estos valores se explican debido a que la secuencia en *E. chlorotica* presenta una transición de una C por una T en la posición 59 (Apéndice H.5).

***trnR* (CCG)**

La arginina, en el código genético estándar, es codificada por seis codones [30]. Sin embargo, en el genoma plastidial de *V. litorea* sólo se encuentran codificados tres tRNAs en los genes *trnR* (ACG), *trnR* (UCU) y *trnR* (CCG) [16], los cuales son capaces de decodificar todos los codones de arginina debido a la degeneración del código genético [30]. Estos tres genes se encuentran dispersos en el genoma plastidial, aunque en grupos de dos genes de tRNAs (Figura 3.2), lo que también es congruente con las posiciones plasto-específicas de esta familia de genes [181, 205]. Particularmente, *trnR* (CCG) se encuentra entre las bases 82,251 y 82,323, corriente abajo de *trnM* (CAU). Este gen presenta una longitud de 73pb [18], lo que se transcribe como un tRNA de la misma longitud.

Por otra parte, la secuencia homóloga a *trnR* (CCG) en el genoma de *E. chlorotica* pertenece al *scaffold* RQTK01003420.1 en la región 1-1,436, junto con los genes *psbI*, *cfxQ* y *ccsA* (Tabla 3.4), la cual es una región distinta a la que pertenecen *rpl19* y *trnM* (CAU). El BLAST correspondiente al *scaffold* RQTK01003420 presenta un valor-E significativo de 0.0 y un PI de 98 %, también significativo. Con respecto al alineamiento del gen individual, este obtuvo una cobertura del 100 %, un valor-E de 1^{-31} y un PI del 99 % (Apéndices I.2, I.3 y I.5). Estos valores se explican, de forma similar al alineamiento de *trnM* (CAU), debido a una transición de T a C en la posición 47 (Apéndice I.5).

En cuanto a la posible funcionalidad de ambos genes dentro de *E. chlorotica*, es difícil el poder afirmar que esto ocurra debido a que el plegamiento de los tRNAs es un proceso físico bastante complejo, el cual supera las herramientas disponibles para esta tesis, aunado a que las transiciones presentes en ambas secuencias de tRNAs podrían dar cambios en la estructura en «L» letales o que mantengan la funcionalidad de los tRNAs [21]. Aunado a esto, todos los tRNAs pasan por modificaciones post-transcripcionales [24, 61] por lo que, aunque exista la maquinaria en la babosa, no se puede afirmar que esta haga las modificaciones pertinentes a los RNAs plastidiales. Por otra parte, se puede sugerir las secuencias sean reimportadas al cloroplasto y ahí se realicen los cambios con la maquinaria plastidial, no obstante, no hay evidencia que soporte la reimportación de tRNAs al plasto [22, 34, 89, 145, 183]. Finalmente, si bien los tRNAs están conservados en todos los dominios de la vida, tampoco hay evidencia de que los tRNAs de los organelos puedan sustituir estos RNAs en el hospedero, como lo hacen los plastidiales con los mitocondriales [22, 34, 89, 145, 183]. Por lo que, sugerir una función directa en el animal es muy difícil. A causa de esto, si bien se puede proponer a estos genes como transferidos putativos, su funcionalidad no es algo que se pueda sugerir o negar sin estudios sobre su plegamiento, reimportación y modificaciones post-transcripcionales.

cfxQ

cfxQ (o también llamado *cbxX* [92, 122, 162, 175, 192, 214]) es un gen que codifica la proteína CbbX la cual es una AAA⁺ (ATPasa asociada a distintas actividades celulares) que funge como activasa de la RuBisCO (ribulosa-1,5-bisfosfato carboxilasa/oxigenasa) en algas rojas y plastos derivados [92, 162, 175]. A causa de que esta proteína posee un motivo de unión a ATP altamente conservado [83, 92, 121, 162, 164, 214, 218] y a que en muchos casos se encuentra corriente abajo y adyacente al operón *rbcLS* (formado por los genes *rbcL* y *rbcS* que codifican la subunidad grande y la subunidad pequeña de RuBisCO, respectivamente) [92, 121, 122, 162-164, 175, 192, 193, 212, 214, 218], se creía que CbbX regulaba transcripcionalmente al operón [92, 121, 122, 152, 164, 181, 193].

Debido a la importancia que tiene la RuBisCO en la fotosíntesis, CbbX es una proteína muy relevante, al ser la proteína que evita que la fijación de CO₂ se vea interrumpida [92]. Su importancia es tal, que se ha reportado que mutantes del gen *cfxQ* tienen un desarrollo deficiente en condiciones fotoautótrofas [122, 154, 162, 164, 214].

cfxQ es un gen que se encuentra en β -proteobacterias, las algas rojas y en los plastos secundarios derivados de algas rojas, estando ausente en todo el linaje de cloroplastos verdes, incluyendo a las cianobacterias [122, 141, 162, 163, 175, 181, 192, 193, 212, 214, 218]. En el linaje verde se encuentra el gen *cbxQ*, que también codifica una activasa de la RuBisCO; sin embargo, estos dos genes

no tienen relación filogenética [162]. Debido a esto, y a que la RuBisCO del linaje rojo está emparentada con la RuBisCO de β -proteobacterias y no con la de las cianobacterias; se ha sugerido que *cfxQ*, junto con *rbcl* y *rbcS* de linaje rojo, fueron transferidos horizontalmente desde una proteobacteria al ancestro de los cloroplastos y de ahí la bifurcación de los dos linajes se dio entre los organismos que conservan la RuBisCO de β -proteobacteria y los que conservan la de las cianobacterias [122, 154].

Una evidencia que soporta esta hipótesis es que *cfxQ* está frecuentemente acomodada en tándem dentro del operón *rbcLS*, que a veces contiene más genes, corriente abajo y adyacente de *rbcS* [92, 121, 122, 162-164, 175, 192, 193, 212, 214, 218]. Sin embargo, en algunas heterocontas se ha reportado que *cfxQ* se encuentra alejado del operón, aunque es una disposición bastante atípica [175].

No obstante, la THG de una β -proteobacteria a una ciano, no es la única THG por la que ha pasado este gen. Se ha demostrado que *cfxQ* ha sido transferido al núcleo de algunas algas rojas [121, 122, 153, 154] y diatomeas [154] e incluso está presente en el nucleomorfo de algunas criptofitas [122, 154, 175]. En cuanto al sistema entre *E. chlorotica* y *V. litorea*, *cfxQ* se encuentra en la lista de genes plastidiales expresados provista por Pierce y cols. 2012 [83].

Dentro del plasto *V. litorea*, *cfxQ* tiene una longitud de 900pb que, al traducirlos, arrojan un polipéptido de 299 residuos. Este gen se encuentra entre la base 81,120 y la base 82,019 (Apéndice A.3), relativamente lejos del operón *rbcLS* (Figura 3.2), a 6,571 pb de distancia del inicio de *rbcl*. Lo que llama la atención es que parece que el operón *rbcLS* tuvo una inversión, al tener su marco de lectura en contrasentido [4, 5]. Siendo una disposición de *cfxQ* congruente con algunas otras heterocontas.

En el caso de *E. chlorotica*, la secuencia homóloga a *cfxQ* se encuentra en el *scaffold* RQTK01003420.1, cuyo BLAST ya fue descrito (ver *trnr* (CCG)). En cuanto al BLAST contra el gen individual, este es uno de los genes que presenta valores significativos más altos en los tres parámetros. Al igual que el gen codificado en el plasto, el alineamiento obtenido presenta una longitud de 900pb y, en con secuencia, una cobertura del 100% junto con un valor-E de 0.0 y un PI de 99% (Tabla 3.1, apéndices J.2, J.3 y J.5).

El alineamiento no presenta un PI del 100% debido a cuatro sustituciones puntuales a lo largo de la secuencia en *E. chlorotica* (Apéndice J.5). Estas cuatro sustituciones son todas transiciones de A a G, un tipo de mutación común [31]. Sin embargo, dos de estas no presentan efectos a nivel de a.a., siendo sinonimias [31]. Por otra parte, las dos modificaciones restantes generaron: una sustitución de una arginina a una glicina en la posición 5 y un cambio de asparagina a aspartato en la posición 619.

En cuanto a la primer sustitución, el cambio de una R a una G no es un cambio que permita que el rol de a.a. se mantenga [156]. Sin embargo, un cambio en la posición 5 cae dentro de la región «flexible» de la proteína CbbX, región en la que se pueden presentar distintas sustituciones sin que afecten a la actividad de la enzima [92]. Por otra parte, un cambio en la región 206 a 296 resulta en un cambio en el subdominio α -hélice, que es parte del motivo de unión a nucleótidos [92]. No obstante, la sustitución de una N a una D en la posición 207 es un cambio que puede mantener la función del aminoácido, al no ser un a.a. que pase por un proceso de N-glucosilación [156]. Lo que indica que ninguna de las sustituciones genera una mutación que ocasione la pérdida de la funcionalidad de la proteína [92].

Debido a lo anterior, a que es un gen que ha mostrado ser transferido al núcleo del hospedero, sin importar si es primario o superior [121, 122, 153, 154, 175], y a que, en caso de ser transferido, puede ser importado al plasto sin problema [121, 122], *cfxQ* podría considerarse como un gen funcional putativo transferido horizontalmente desde el plasto *V. litorea* hasta el núcleo de *E. chlorotica*. Sin embargo, falta información relacionada a procesos como su transcripción, para poder confirmarlo.

psbI

El gen *psbI* codifica la proteína homónima PsbI la cual, en conjunto con las proteínas D1, D2, el citocromo b559 y PsbW, conforman el Centro Reactivo (CR) del fotosistema II (PSII) [85, 133, 138, 194, 196, 202], complejo que se encarga de la oxidación del agua durante la fotosíntesis [133, 166]. Si bien no se han aclarado los mecanismos moleculares de su rol en este complejo [133, 166], a PsbI se la ha asociado con el ensamblaje del PSII [85, 133, 202] y con la resistencia ante condiciones estresantes de luz intensa [85, 133, 196, 202], aunque la afectación es mucho menos severa en eucariontes que en cianobacterias [85, 202].

Estos roles se le han asociado debido a que forma un precursor con la proteína D1 en el ensamblaje temprano del PSII y a que, ya con el PSII ya ensamblado y activo, PsbI estabiliza la interacción de CP43 con el CR [85, 133]. Sin esta estabilización, la proteína D1 resulta dañada, por lo que es necesario un recambio más frecuente de esta proteína, lo que se asocia con la sensibilidad ante la luz intensa [85, 133]. Sin embargo, se ha demostrado que, si bien puede haber disminución en la acumulación de complejos PSII [133, 202] y un crecimiento deficiente ante luz intensa [85, 133, 194, 196, 202], *psbI* no es un gen indispensable para el ensamblaje del PSII ni en la supervivencia del organismo fotosintético [85, 133, 166, 194, 202].

En cuanto a su distribución, este gen es universal en todos los organismos fotosintéticos, estando codificado en el genoma plastidial [89, 138, 146], y presenta una gran conservación en su secuencia de a.a. [133, 202]. Respecto a su

disposición en el genoma plastidial, esta es bastante variable, aunque llega a ser cotranscrito con los genes *psbK* [202, 221, 222], o con *psbD* y *psbC* [221].

Dentro del genoma plastidial de *V. litorea*, el gen *psbI* abarca la región 82,090-82,206 y presenta una longitud de 117bp [3] que se traduce a un polipéptido de 38 a.a. Siendo congruente con la diversidad de posiciones que puede presentar este gen [202, 222], no se presenta cerca de los genes *psbK*, *psbD* y *psbC*, sino que se encuentra rodeado de genes relacionados a distintas actividades del plasto distintas a los componentes del PSII (Figura 3.2).

Por otra parte, la secuencia homóloga a *psbI* presente en el genoma de *E. chlorotica* pertenece al *scaffold* RQTK01003420, concretamente a la región que va de la base 1 a la base 1,436, y cuyo BLAST ya fue discutido (ver *trnR* (*ccg*)). En cuanto al BLAST del gen individual, este presenta valores significativos en los tres parámetros establecidos, una E de 4^{-55} , un PI del 98 % y una cobertura del 100 % (Apéndices K.2, K.3 y K.5). En cuanto a su PI, el valor obtenido se debe a dos transiciones de A a G, ocurridas en las posiciones 90 y 96. Sin embargo, estas dos mutaciones puntuales son sinonimias por lo que la secuencia de a.a. entre ambas secuencias son exactamente iguales y conserva todos los a.a más conservados (Apéndice K.5) identificados previamente [202, 222].

Con respecto a su actividad dentro de la babosa, si bien este gen en teoría daría una proteína funcional, el producto tendría que ser forzosamente reimportado del citoplasma al plasto, por lo que es necesario estudiar si es que esto ocurre dentro de *V. litorea*. Sin embargo, a parte de la reimportación, se tiene que estudiar si este gen es transcrito y traducido. Y en caso de que estos tres procesos ocurran, el único rol que puede cumplir en el organismo es el de estabilizar al fotosistema II como ya se ha descrito [85, 133, 138, 194, 196, 202]. No obstante, este gen, al tener valores significativos y que su secuencia es teóricamente capaz de producir una proteína funcional, se le puede considerar como un gen funcional transferido horizontalmente putativo.

atpB

El gen *atpB* codifica la subunidad β de la enzima ATP-sintasa (también conocida como F-ATPasa o F1-Fo-ATPasa) [71, 75, 83], enzima fundamental en el proceso de producción de energía en las membranas de bacterias, cianobacterias, mitocondrias y cloroplastos [71, 75, 126]. Esta producción se da a partir de la unión de ADP y P_i , con el aprovechamiento de la energía potencial almacenada en el gradiente de protones (Δp) generado, ya sea, por la respiración o la fotosíntesis [71, 75].

La ATP-sintasa se compone de dos dominios mayores, el dominio Fo (Factor oligomérico) y el dominio F1 (Factor 1), más un tallo central [75, 126]. El dominio Fo está compuesto por tres subunidades, de estequiometría $a_1b_2c_{10-15}$, y

es el motor giratorio encargado de transformar la energía del Δp en la energía necesaria en la síntesis de ATP [71, 75, 126]. El tallo central está formado sólo por la subunidad γ , la cual se encuentra fija al dominio Fo, y transfiere la rotación entre los dos dominios [75]. Finalmente, el dominio catalítico F1 está formado por cuatro subunidades, en conjunto con la subunidad γ , en una estequiometría $\alpha_3\beta_3\gamma_1\delta_1\varepsilon_1$ [71, 75, 126] (Figura 3.4).

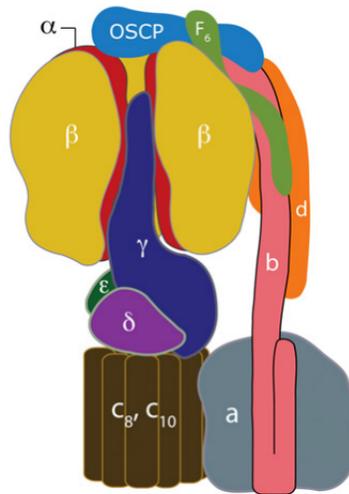


Figura 3.4: Estructura de la atp-sintasa. Modificado de [75].

Particularmente, en el dominio F1, las tres subunidades β se encuentran alternadas con las subunidades α en una estructura globular, alrededor de una estructura de α -hélice de la subunidad γ [71, 75, 126]. Por otra parte, la subunidad ε mantiene fija a γ al motor, mientras que la subunidad δ mantiene fija a la F1, ante el movimiento de la subunidad γ , en conjunto con las subunidades b [75]. En esta disposición, el ADP y el P_i se unen a la subunidad β y gracias al movimiento rotatorio de γ , cada 120° se forma una molécula de ATP, por lo que al final de una vuelta de γ se forman tres moléculas de ATP [71, 75].

Debido a su actividad catalítica y a que es parte de uno de los mecanismos de regulación de la ATP-sintasa, la subunidad β es un componente fundamental de la enzima [71, 75, 83, 140, 151]. En congruencia con esto, el gen *atpB* se encuentra intacto en la gran mayoría de cianobacterias y cloroplastos [89, 168, 181], formando un operón con el gen *atpE*, operón que no parece tener una posición específica en los distintos genomas [138, 173, 181, 209]. Por otra parte, las únicas especies que presentan este gen ausente o fragmentado son los cloroplastos no fotosintéticos de parásitos [163]. Debido a esto, la secuencia de este gen se encuentra bien conservada, por lo que se utiliza frecuentemente como marcador plastidial en estudios filogenéticos junto con el gen *rbcL* [62, 168, 191].

En el genoma plastidial de *V. litorea*, el gen *atpB* se encuentra en conjunto con el gen *atpE* (Figura 3.2), en congruencia con otros genomas plastidiales [138, 173, 181, 209]. *atpB* abarca desde la base 2,520 a la base 3,941, con una longitud de 1,422pb (Apéndice A.3), lo que se traduce a un polipéptido de 473 a.a.

Por otro lado, en el genoma nuclear de *V. litorea*, la secuencia homóloga a *atpB* pertenece al *scaffold* RQTK01003942.1, junto con el gen *atpE* (Tabla 3.4). No obstante, el gen *atpE* obtuvo una cobertura del 73 % (Datos no mostrados), por lo que no fue analizado en esta tesis. El alineamiento de este *scaffold* obtuvo una E de 0.0 y un PI del 97 %, ambos valores significativos. En cuanto al BLAST con el gen *atpB*, se recuperaron dos alineamientos distintos (Apéndices L.5 y L.6). El primero obtuvo una E de 0.0, un PI del 92 % y una cobertura del 90 % (Apéndices L.2, L.3 y L.5), todos valores significativos. Por otro lado, el segundo obtuvo una E de 3^{-40} , un PI del 100 % y una cobertura de sólo el 6 % (Apéndice L.6), por lo que el segundo alineamiento no es considerado para mayor análisis.

En cuanto a la cobertura del 90 %, esta se debe a que esta secuencia carece de los primeros 131 nucleótidos del gen *atpB* (Apéndice L.3), en donde se incluye al codón de inicio. Aunado a esto, si se analiza con detenimiento el *scaffold* RQTK01003942.1, al cual pertenece *atpB*, estos 131 nucleótidos no se encuentran al final de dicha secuencia (Datos no mostrados). Esta ausencia complica su posible actividad, ya que se ha reportado que los primeros nucleótidos juegan un rol fundamental en su proceso de transcripción, distinto al basado en secuencias Shine-Dalgarno [205, 224]. Aunado a esto, este gen no presenta reportes previos de THG fuera de dos análisis realizados en el sistema *Elysia-Vaucheria*. En el primero, realizado en 1996, no se obtuvieron resultados concluyentes [200]. Mientras que en el segundo, realizado en el 2012, se propuso que este gen es transcrito, pero no se confirmó su traducción [83]. No obstante, la falta de los 131 nucleótidos indicaría que este gen sería un gen putativo a THG silenciado.

3.3. Discusión

Debido a la discusión aún prevalente sobre si es que existe una THG entre *Elysia chlorotica* y *Vaucheria litorea*, primero se debe considerar si es que los resultados obtenidos se deben a una posible contaminación o no. A favor de la posibilidad de contaminación está la regla del 70 % en el estudio de THG para secuencias de a.a., propuesta por Ku y Martin en 2016 [49], o del 80 % para nucleótidos [45]. Lo que plantean estas reglas es que, si al comparar dos secuencias, una del organismo donador y otra del receptor, estas presentan un porcentaje de identidad superior a los ya mencionados, estas pueden ser des-

cartadas por motivo de contaminación. Aunado a esto, más de la mitad de las bibliotecas utilizadas por Cai y cols. [28] en el proceso de secuenciación eran de un organismo adulto completo que aún retenía cloroplastos.

Sin embargo, Ku y Martin [49] plantearon que las únicas secuencias que pueden ser excepciones de esta regla son las derivadas del proceso de Transferencia Horizontal Endosimbionte de cloroplastos, caso en el que cae el sistema *Elysia-Vaucheria*. Además, en el proceso de ensamblado Cai y cols. [28] utilizaron distintas metodologías con el propósito de eliminar secuencias de virus, mitocondrias y cloroplastos. Aunado a que, en múltiples estudios de secuenciación, realizados por distintos laboratorios, se han encontrado genes de origen algal en el genoma de *E. chlorotica* [70, 83, 86, 109, 112, 114, 127, 139]. Por lo que, si bien no se puede descartar la posibilidad de contaminación de forma tajante, hay motivos para asumir que los resultados aquí expuestos no son consecuencia de contaminación.

Una vez tocado el punto de la posibilidad de contaminación, la siguiente cuestión es si los genes podrían ser funcionales o no. Ante esto, de los 11 genes aquí identificados, dos (*chlB* y *atpB*) son descartados debido a deleciones en el extremo 5' de estas. Estas deleciones implican la pérdida de sus respectivos codones de inicio, por lo que sólo se podrían considerar como pseudogenes silenciados putativos. Por otra parte, entre los otros 9 genes restantes, uno (*rpl23*) presenta una inserción de una base que modifica su marco de lectura. Modificación que ocasiona varias mutaciones sin sentido, de las cuales, la primera ocasiona la pérdida de 44 % de los a.a. de la proteína. Debido a esto, este gen, si bien son necesarios más estudios que lo confirmen, muy posiblemente no genera una proteína funcional.

No obstante, aún quedan otros 8 genes (*cfxQ*, *psbI*, *rpl2*, *rpl19*, *rps19*, *rpl22*, *trnM* (CAU) y *trnR* (CGG)), los cuales se encuentran casi sin modificaciones, por lo que podrían ser funcionales. Si llega a ser el caso, el siguiente punto a considerar tiene que ver con sus posibles actividades en *E. chlorotica*. Por una parte, *cfxQ* y *psbI* ambos son genes relacionados a la fotosíntesis. El primero tiene una actividad fundamental en este proceso, al codificar la activasa de la RuBisCO en el linaje rojo, lo que permite la actividad carboxilasa continua de la enzima. Mientras tanto, la proteína PsbI es un componente del centro reactivo del PSII. Sin embargo, se ha demostrado que no es un componente vital en este complejo proteico.

Finalmente, los seis genes restantes (*trnM* (CAU), *trnR* (CGG), *rpl2*, *rpl19*, *rps19* y *rpl22*) presentan una completitud en su estructura (codón de inicio, secuencia y codón de término), así como pocas o nulas mutaciones que pudiesen afectar la estructura de su proteína correspondiente. Sin embargo, estos seis genes codifican distintos componentes de la síntesis de proteínas: dos RNAs de transferencia y cuatro proteínas ribosomales.

Entre estas últimas destacan *rpl2* y *rpl19* al presentar actividades secundarias. La proteína L19 podría jugar un rol dentro de *E. chlorotica* sin necesidad de reimportación ya que se ha demostrado que tiene capacidades de chaperona Janu en la reactivación y replegamiento de otras proteínas ante estrés, así como también participa como chaperona en el splicing de distintos RNAs. Por otro lado, la proteína L2 participa como promotora transcripcional, pero esto sólo sucede en el linaje procariota. Debido a lo cual tendría que ser reimportada al cleptoplasto, en caso de tener esta función en el organelo.

Sin embargo, estos resultados contrastan con distintas investigaciones previas. El primer contraste es relacionado con estudios en los que aseguran que no hay presencia de genes de origen algal en el genoma nuclear de *E. chlorotica*, aún con aproximaciones similares [70, 94]. Esto puede deberse a que, como se ha reportado anteriormente, los individuos de *E. chlorotica* presentan una gran diversidad en cuanto a la presencia de genes de origen algal [70]. Por lo que el ensamblado de 5 individuos de Pelletreau y cols. [94], puede ser una muestra bastante pequeña, a comparación del ensamblado de 1,000 larvas veliger más un adulto de *E. chlorotica* de Cai y cols. [28], utilizado en esta tesis.

Aunado a esto, la cantidad de genes posiblemente funcionales aquí reportados es baja, a diferencia de estudios, como el de Pierce y cols. [83] en donde reportó 52 genes de origen nuclear algal en el transcriptoma de *E. chlorotica*. Lo que también puede ser a causa de la discrepancia entre individuos en cuanto a presencia-ausencia de genes algales [70]. Aunque cabe destacar que los genes plastidiales con mayor soporte bibliográfico, como lo son *rbcL* [77, 83, 86, 115, 174, 200, 201], *psaA* [83, 86, 115, 174, 200], *psbA* [83, 115, 174, 200, 201] y *rrs_2* (rRNA 16S) [83, 200], se encuentran ausentes o incompletos en estos resultados (Tablas 3.4-3.8). Aunado a esto y de forma totalmente opuesta, cuatro de los genes aquí reportados (*psbI*, *rpl23*, *trnM* (CAU) y *trnR* (CGG)) no han tenido reportes de THG en estudios previos en este o cualquier otro sistema de organismos fotosintéticos [22, 23, 54, 65, 77, 83, 86, 109, 115, 174, 200, 201].

Otro contraste a discutir tiene que ver con la actividad de los genes propuestos como transferidos. En estudios anteriores se ha reportado que los genes transferidos putativos codifican, en su mayoría, proteínas participantes en la fotosíntesis [54, 65, 77, 83, 86, 109, 114, 115, 127, 139, 174, 200, 201], en congruencia con la cleptoplastia. Sin embargo, en cuanto a número de genes, la principal actividad de las secuencias posiblemente funcionales aquí reportadas está relacionada con la síntesis de proteínas, actividad en la que el núcleo del animal podría ser un apoyo.

En cuanto al mecanismo que pudiese generar la THG hay dos posibilidades planteadas en estudios previos: El primero es un mecanismo tipo transformación y el segundo una posible transducción. En cuanto a la transformación, debido a la exposición de material genético algal en el proceso de ingesta, el grupo de Rumpho y cols. [127, 141] ha sugerido la posibilidad de una THG «a

granel». De forma similar, en su estudio del 2013, Bhattacharya y cols.[70] sugirieron que el intestino de la babosa es un espacio en donde el material genético de origen algal se encuentra de forma extracromosomal y este es incorporado y descartado constantemente en el genoma nuclear. Lo que podría explicar la cantidad de genes y secuencias fragmentados aquí reportados.

En cuanto al segundo mecanismo, la expresión de virus endógenos en *E. chlorotica* al final de su ciclo de vida[96, 142, 159, 185], así como la presencia de virus muy similares dentro del cleptoplasto[159, 185], están altamente documentadas. Debido a esto se ha sugerido que la THG se da por transducción[96, 97, 142, 185]. No obstante, aún se requieren análisis, como secuenciación de los virus, para poder determinar si estos virus juegan un rol en la THG.

Aunado a esto, es posible que esta transducción sea la generadora del eslabón débil, como lo plantea Huang[72]. Infectando las células germinales al final del ciclo de vida, con genes que fueron incorporados a lo largo de la vida del molusco adulto, congeniando ambos modelos. Sin embargo, son necesarios más estudios para poder sustentar esta hipótesis.

Cualquiera que llegase a ser el caso, es posible que los resultados aquí presentados, basados en el ensamblado de Cai y cols. [28], sean una «fotografía» de este proceso. Esto se sugiere ya que, en total, las longitudes de los alineamientos (con base en su respectivos rangos (Tablas 3.4-3.7)) obtenidos en la segunda aproximación, abarcan 12% del genoma plastidial de *V. litorea*, lo que podría ser una cantidad de fragmentos de DNA transferidos en flujo plasto-núcleo «a granel».

Sin embargo, podría ser interesante la realización de una comparación con otra base de datos nuclear de *E. chlorotica* para verificar si se encuentran los mismos genes presentados en esta tesis. Aunado a esto, aún hay que considerar la posibilidad de que fragmentos de DNA nuclear del alga sean transferidos, en un flujo núcleo-núcleo, al de *E. chlorotica*, una vez que una base de datos del genoma nuclear de *V. litorea* esté disponible.

Ahora, si bien aquí se presentan como candidatos ocho genes funcionales putativos a haber sido transferidos horizontalmente, aún queda bastante campo de estudio al respecto. Esto se puede englobar en: la necesidad de determinar si estos genes son realmente funcionales en el animal, al ser transcritos, traducidos y reimportados al cleptoplasto, así como determinar su posterior actividad en los organelos. Aunado a esto, es necesario determinar si estos genes presentan las secuencias de unión a RNA polimerasa necesarias para su transcripción. Cuestión que, por la naturaleza de la transcripción en eucariontes, supera los recursos de esta tesis.

En cuanto a la síntesis de las proteínas, ocho de los genes presentan los componentes básicos necesarios para su traducción, por lo que no debería ha-

ber mayor impedimento para ello. No obstante, cabe la posibilidad de que estos genes pasen por procesos de edición del mRNA, pero el determinar esto necesita de mayor investigación [179]. Aunado a esto, y debido a la naturaleza compleja de la transcripción en eucariontes, este proceso va más allá de los alcances de esta tesis. Sin embargo, algo a resaltar es que en esta tesis se reportan genes que no se habían reportado con anterioridad, aún en estudios transcriptómicos, lo que puede dar pie a estudios transcriptómicos focalizados.

Respecto a su reimportación, este es un tema que se ha tratado en investigaciones previas [100, 200]. Por ejemplo, se ha observado que las proteínas L22 y L19 son reimportadas en mitocondria, lo que tal vez puede llevar a la posibilidad de reimportación en el sistema *Elysia-Vaucheria*. Sin embargo, este proceso puede que no sea homólogo al que sucede al interior de *V. litorea* debido a la pérdida de las dos membranas extra que recubren al cloroplasto en el alga, aunado a que no se han detectado péptidos de señalización que realicen este proceso [100]. Incluso un estudio transcriptómico reciente sugiere que este proceso no es necesario y que *E. chlorotica* ha desarrollado los mecanismos moleculares suficientes para el establecimiento de la cleptoplastia sin la intervención de genes algales [35]. Debido a lo cual, la participación la Transferencia Horizontal de Genes y su posible rol en la cleptoplastia es un tema que aún requiere mayor profundización.

Finalmente, en cuanto a la importancia de la THG como mecanismo de novedades evolutivas, es difícil determinarlo con sólo el análisis del flujo plasto-núcleo. Aún es necesario el análisis núcleo-núcleo. No obstante, si se basa sólo en el flujo aquí analizado, es posible que la THG sea sólo una consecuencia del mecanismo que permite el establecimiento de la cleptoplastia en el sistema *Elysia-Vaucheria*, como ya se ha descrito en otros grupos de simbioses [96]. Una posibilidad a considerar es la de simbiosis tri-partita [96, 137] entre plasto, molusco y virus sea el mecanismo del que emerge la cleptoplastia como novedad evolutiva, incluyendo la morfología tan similar al de una hoja y la capacidad fotosintética.

3.4. Conclusiones

En este estudio se comprobó la presencia de genes coincidentes entre la base de datos del genoma nuclear de *Elysia chlorotica*, provista por Cai y cols. en 2019 [28], y el genoma plastidial de *Vaucheria litorea*, provista por Rumpho y cols. en 2008[127]. No obstante, la principal actividad de los genes encontrados está relacionada a la síntesis de proteínas.

Con la ayuda del programa BLASTn, se compararon ambas bases de datos y se obtuvieron 42 alineamientos con valores-E significativos, que representan el 12% del genoma plastidial de *V. litorea*, lo que podría ser debido a una trans-

ferencia «a granel» de fragmentos genéticos del alga, como se ha propuesto con anterioridad [127, 141].

Posteriormente, al realizar las búsquedas de genes individuales, sólo se rescataron 11 alineamientos con valores-E y coberturas significativas, resultados que contrastan con reportes previos, al estar ausentes los genes con mayor soporte bibliográfico. Esto puede ser debido a que posiblemente hay una constante integración y eliminación de material genético de origen algal en el genoma nuclear de *E. chlorotica*, como han sugerido otros autores[70].

Con relación a los mecanismos y modelos discutidos previamente, se sugiere una posible combinación del mecanismo de recambio «a granel»[70, 127, 141] de transformación, junto con una posible transducción al final del ciclo de vida [96, 97, 142, 185] que genera el eslabón débil[72]. Aunado a esto, es posible que, como en otros sistemas de simbioses [96, 137], la THG sea más una consecuencia de la íntima relación entre los simbioses y que, incluso, esta sea una simbiosis tripartita entre *Elysia chlorotica*, *Vaucheria litorea* y el virus endógeno que se expresa al final de la vida del molusco.

Finalmente, con apoyo en la bibliografía, se determinó que sólo seis, de los once genes ya mencionados, presentan las partes necesarias para la síntesis de sus respectivas proteínas y dos, aparentemente, presentan la partes necesarias para que sus respectivos tRNAs cumplan su función en el proceso de traducción.

Aunado a esto, se determinó que la principal actividad de los genes encontrados está relacionada a la síntesis de proteínas, y no al soporte de la fotosíntesis como se ha planteado en estudios previos[54, 65, 77, 83, 86, 109, 114, 115, 127, 139, 174, 200, 201]. Por ello, se pone en duda la relevancia de la THG, al menos en flujo plasto-núcleo, en el mantenimiento de la cleptoplastia de largo plazo en el sistema *Elysia-Vaucheria*. Por ello se recalca la necesidad de estudios posteriores y la importancia de la simbiosis como mecanismo que genera la novedad evolutiva.

Ante esto, se propone realizar un análisis similar al aquí planteado, pero con el genoma nuclear de *V. litorea*, en vez de su genoma plastidial, para poder determinar si la THG entre los dos organismos aquí estudiados también ocurre en flujo núcleo-núcleo, una vez esta base de datos está disponible. También, se plantea la necesidad de determinar si los virus endógenos son portadores de genes de origen algal y que sean capaces de infectar a las células germinales previo a la reproducción.

No obstante, la genética no es la única escala de estudio a explorar con estas entidades biológicas. Por ejemplo, el determinar cómo es que surge la morfología similar a la de una hoja en *E. chlorotica* e incluso, si la THG puede ocurrir en etapas tempranas del desarrollo embrionario, o si el virus tiene participa-

ción en el desarrollo, es tierra fértil para biología del desarrollo.

Aunado a esto, la cleptoplastia ya es una relación simbiótica entre dos, o tal vez tres, entidades biológicas que, a su vez, puede tener consecuencias ecológicas propias. Sin dejar de lado el preguntar qué consecuencias ecológicas puede tener la presencia de un animal fotosintético en relación a otros organismos fuera de *V. litorea*. Siendo todas estas preguntas en las cuales la perspectiva de sistemas complejos puede ser una gran herramienta para explorar.

Bibliografía

- [1] NCBI. *chlB* photochlorophyllide reductase subunit B [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=chlB+Vaucheria#reference-sequences>. (accessed: 01.26.2022).
- [2] NCBI. *Elysia chlorotica* isolate EC2010 scaffold003420, whole genome shotgun sequence. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/RQTK01003420.1?report=genbank&log%5C%24=nuclalign&blast_rank=1&RID=1ZYTVE3016&from=1594&to=1962. (accessed: 03.02.2022).
- [3] NCBI. *psbI* photosystem II protein I [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=psbI+Vaucheria>. (accessed: 03.18.2022).
- [4] NCBI. *rbcL* rubisco large subunit [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rbcL+Vaucheria+litorea>. (accessed: 02.04.2022).
- [5] NCBI. *rbcS* rubisco small subunit [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7056119>. (accessed: 02.04.2022).
- [6] NCBI. *ribosomal proteins coded in Vaucheria litorea's chloroplast*. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=ribosomal+protein+Vaucheria>. (accessed: 02.16.2022).
- [7] NCBI. *rpl19* ribosomal protein L19 [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rpl19+Vaucheria>. (accessed: 02.25.2022).
- [8] NCBI. *rpl2* ribosomal protein L2 [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rpl2+Vaucheria>. (accessed: 02.21.2022).
- [9] NCBI. *rpl22* ribosomal protein L22 [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rpl22%5C%20Vaucheria>. (accessed: 03.07.2022).
- [10] NCBI. *rpl23* ribosomal protein L23 [Vaucheria litorea]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rpl23+Vaucheria>. (accessed: 03.13.2022).

- [11] NCBI. *rplB* 50S ribosomal subunit protein L2 [*Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/947820>. (accessed: 02.21.2022).
- [12] NCBI. *rplS* 50S ribosomal subunit protein L19 [*Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/947096>. (accessed: 03.02.2022).
- [13] NCBI. *rplV* 50S ribosomal protein L22 [*Thermus thermophilus* HB8]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=ribosomal+protein+L22+Thermus+thermophilus>. (accessed: 03.07.2022).
- [14] NCBI. *rps19* ribosomal protein S19 [*Vaucheria litorea*]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=rps19+Vaucheria>. (accessed: 02.22.2022).
- [15] NCBI. *rpsS* 30S ribosomal subunit protein S19 [*Escherichia coli* str. K-12 substr. MG1655]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/947811>. (accessed: 02.22.2022).
- [16] NCBI. *tRNAs* coded in *Vaucheria litorea*'s chloroplast. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=tRNA+Vaucheria>. (accessed: 04.01.2022).
- [17] NCBI. *trnM_cau* [*Vaucheria litorea*]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/?term=trnM+Vaucheria>. (accessed: 04.12.2022).
- [18] NCBI. *trnR_ccg* [*Vaucheria litorea*]. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/7056059>. (accessed: 04.13.2022).
- [19] NCBI. *Vaucheria litorea* chloroplast, complete genome. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_011600.1?report=genbank&from=82461&to=82835&strand=true. (accessed: 03.02.2022).
- [20] Ryota Aoki y Sachihito Matsunaga. «A Photosynthetic Animal: A Sacoglossan Sea Slug that Steals Chloroplasts». En: *Cytologia* 86.2 (2021), págs. 103-107. ISSN: 0011-4545. DOI: [10.1508/cytologia.86.103](https://doi.org/10.1508/cytologia.86.103).
- [21] Valérie De Crécy-Lagard y Marshall Jairoch. «Functions of bacterial tRNA modifications: from ubiquity to diversity». En: *Trends in Microbiology* 29.1 (2021), págs. 41-53. DOI: [10.1016/j.tim.2020.06.010](https://doi.org/10.1016/j.tim.2020.06.010).
- [22] Ewa Filip y Lidia Skuza. «Horizontal gene transfer involving chloroplasts». En: *International Journal of Molecular Sciences* 22.9 (2021), págs. 1-16. ISSN: 14220067. DOI: [10.3390/ijms22094484](https://doi.org/10.3390/ijms22094484).
- [23] Kartik Mayank Puri, Vito Butardo y Huseyin Sumer. «Evaluation of natural endosymbiosis for progress towards artificial endosymbiosis». En: *Symbiosis* Lang 2014 (2021). ISSN: 18787665. DOI: [10.1007/s13199-020-00741-5](https://doi.org/10.1007/s13199-020-00741-5).
- [24] Martine Roovers y col. «Post-Transcriptional Modifications of Conserved Nucleotides in the T-Loop of tRNA: A Tale of Functional Convergent Evolution». En: *Genes* 12.140 (2021), pág. 19. DOI: [10.3390/genes12020140](https://doi.org/10.3390/genes12020140). URL: <https://doi.org/10.3390/genes12020140>.

- [25] Julia Van Etten y Debashish Bhattacharya. «Horizontal Gene Transfer in Eukaryotes : Not if , but How Much ?» En: *Trends in Genetics* (2020), págs. 1-11. ISSN: 0168-9525. DOI: [10.1016/j.tig.2020.08.006](https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.08.006). URL: <https://doi.org/10.1016/j.tig.2020.08.006>.
- [26] Taro Maeda y col. «Chloroplast acquisition without the gene transfer in kleptoplastic sea slugs, *Plakobranthus ocellatus*». En: *eLife* 1 (2020), págs. 1-32. DOI: [10.1101/2020.06.16.155838](https://doi.org/10.1101/2020.06.16.155838).
- [27] Casey A. Schmidt y A. Gregory Matera. «tRNA introns: Presence, processing, and purpose». En: *Wiley Interdisciplinary Reviews: RNA* 11.3 (2020), págs. 1-15. ISSN: 17577012. DOI: [10.1002/wrna.1583](https://doi.org/10.1002/wrna.1583).
- [28] Huimin Cai y col. «Data descriptor: A draft genome assembly of the solar-powered sea slug *Elysia chlorotica*». En: *Scientific Data* 6 (2019), págs. 1-13. ISSN: 20524463. DOI: [10.1038/sdata.2019.22](https://doi.org/10.1038/sdata.2019.22).
- [29] Isaac Hernández y Davide Vecchi. «The Interactive Construction of Biological Individuality Through Biotic Entrenchment». En: *Frontiers in Psychology* 10.December (2019). ISSN: 16641078. DOI: [10.3389/fpsyg.2019.02578](https://doi.org/10.3389/fpsyg.2019.02578).
- [30] Emil M Nilsson y Rebecca W Alexander. «Bacterial Wobble Modifications of NNA-Decoding tRNAs tRNA MODIFICATIONS». En: *IUBMB Life* 71.8 (2019), págs. 1158-1166. DOI: [10.1002/iub.2120](https://doi.org/10.1002/iub.2120).
- [31] Glenn-Peter Sætre y Mark Ravinet. «Genomes and the origin of genetic variation». En: *Evolutionary Genetics: Concepts, Analysis, and Practice*. Oxford University Press, 2019. Cap. 2, págs. 25-48. ISBN: 9780198830917. DOI: [10.1093/oso/9780198830917.001.0001](https://doi.org/10.1093/oso/9780198830917.001.0001).
- [32] Niels W.L. Van Steenkiste y col. «A new case of kleptoplasty in animals: Marine flatworms steal functional plastids from diatoms». En: *Science Advances* 5.7 (2019), págs. 1-8. ISSN: 23752548. DOI: [10.1126/sciadv.aaw4337](https://doi.org/10.1126/sciadv.aaw4337).
- [33] Norico Yamada y col. «Discovery of a kleptoplastic ‘dinotom’ dinoflagellate and the unique nuclear dynamics of converting kleptoplastids to permanent plastids». En: *Scientific Reports* 9.1 (2019), págs. 1-13. ISSN: 20452322. DOI: [10.1038/s41598-019-46852-y](https://doi.org/10.1038/s41598-019-46852-y).
- [34] Nan Zhao y col. «Intergenomic gene transfer in diploid and allopolyploid *Gossypium*». En: *BMC Plant Biology* 19.1 (2019), págs. 1-18. ISSN: 14712229. DOI: [10.1186/s12870-019-2041-2](https://doi.org/10.1186/s12870-019-2041-2).
- [35] Cheong Xin Chan y col. «Active host response to algal symbionts in the sea slug *Elysia chlorotica*». En: *Molecular Biology and Evolution* 35.7 (2018), págs. 1706-1711. ISSN: 15371719. DOI: [10.1093/molbev/msy061](https://doi.org/10.1093/molbev/msy061).
- [36] Timothy M. Gibson y col. «Precise age of *Bangiomorpha pubescens* dates the origin of eukaryotic photosynthesis». En: *Geology* 46.2 (2018), págs. 135-138. ISSN: 19432682. DOI: [10.1130/G39829.1](https://doi.org/10.1130/G39829.1).

- [37] Jenny Melo Clavijo y col. «Polymorphic adaptations in metazoans to establish and maintain photosymbioses». En: *Biological Reviews* 93.4 (2018), págs. 2006-2020. ISSN: 1469185X. DOI: [10.1111/brv.12430](https://doi.org/10.1111/brv.12430).
- [38] Cessa Rauch y col. «The ability to incorporate functional plastids by the sea slug *Elysia viridis* is governed by its food source». En: *Marine Biology* 165.5 (2018), págs. 1-13. ISSN: 00253162. DOI: [10.1007/s00227-018-3329-8](https://doi.org/10.1007/s00227-018-3329-8). URL: <https://doi.org/10.1007/s00227-018-3329-8>.
- [39] Itzel Salas Hernández. «Cambio en el perfil de sensibilidad a antimicrobianos de *Acinetobacter baumannii*, asociado a transferencia horizontal de genes provenientes de *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente». Tesis doct. Universidad Nacional Autónoma de México, 2018, pág. 37.
- [40] Jan de Vries y John M. Archibald. *Plastid Autonomy vs Nuclear Control Over Plastid Function*. 1.^a ed. Vol. 85. Elsevier Ltd., 2018, págs. 1-28. DOI: [10.1016/bs.abr.2017.11.011](https://doi.org/10.1016/bs.abr.2017.11.011). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/bs.abr.2017.11.011>.
- [41] Paulo Cartaxana y col. «Kleptoplast photosynthesis is nutritionally relevant in the sea slug *Elysia viridis*». En: *Scientific Reports* 7.1 (2017), págs. 1-10. ISSN: 20452322. DOI: [10.1038/s41598-017-08002-0](https://doi.org/10.1038/s41598-017-08002-0).
- [42] Shota Ikeda y col. «Zooxanthellal genetic varieties in giant clams are partially determined by species-intrinsic and growth-related characteristics». En: *PLoS ONE* 12.2 (2017), págs. 1-15. ISSN: 19326203. DOI: [10.1371/journal.pone.0172285](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0172285).
- [43] Elise Marie Jerschabek Laetz y Heike Wägele. «Chloroplast digestion and the development of functional kleptoplasty in juvenile *Elysia timida* (Risso, 1818) as compared to short-term and non-chloroplast-retaining sacoglossan slugs». En: *PLoS ONE* 12.10 (2017), págs. 1-23. ISSN: 19326203. DOI: [10.1371/journal.pone.0182910](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0182910).
- [44] Christian Lorenz, Christina E Lünse y Mario Mörl. «tRNA Modifications: Impact on Structure and Thermal Adaptation». En: *biomolecules* 7.35 (2017), pág. 29. DOI: [10.3390/biom7020035](https://doi.org/10.3390/biom7020035). URL: www.mdpi.com/journal/biomolecules.
- [45] Corinne Rancurel, Ludovic Legrand y Etienne G.J. Danchin. «Alienness: Rapid detection of candidate horizontal gene transfers across the tree of life». En: *Genes* 8.10 (2017). ISSN: 20734425. DOI: [10.3390/genes8100248](https://doi.org/10.3390/genes8100248).
- [46] Cessa Rauch y col. «On being the right size as an animal with plastids». En: *Frontiers in Plant Science* 8.August (2017), págs. 1-8. ISSN: 1664462X. DOI: [10.3389/fpls.2017.01402](https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01402).
- [47] Jan De Vries. «Of robust kleptoplasts and versatile embryoplasts». Doctoral dissertation. Universitäts- und Landesbibliothek der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, 2016.

- [48] Woodward W. Fischer, James Hemp y Jena E. Johnson. «Evolution of Oxygenic Photosynthesis». En: *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 44.May (2016), págs. 647-683. ISSN: 00846597. DOI: [10.1146/annurev-earth-060313-054810](https://doi.org/10.1146/annurev-earth-060313-054810).
- [49] Chuan Ku y William F. Martin. «A natural barrier to lateral gene transfer from prokaryotes to eukaryotes revealed from genomes: The 70 % rule». En: *BMC Biology* 14.1 (2016), págs. 1-12. ISSN: 17417007. DOI: [10.1186/s12915-016-0315-9](https://doi.org/10.1186/s12915-016-0315-9). URL: <http://dx.doi.org/10.1186/s12915-016-0315-9>.
- [50] Kerry M. Oliver y Jacob A. Russell. *Symbiosis, Introduction to*. Ed. por Richard .M Kliman. 2016. DOI: [10.1016/B978-0-12-800049-6.00186-4](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-800049-6.00186-4).
- [51] Lucas J. Stal y Mariana Silvia Cretoiu. «The marine microbiome: An untapped source of biodiversity and biotechnological potential». En: *The Marine Microbiome: An Untapped Source of Biodiversity and Biotechnological Potential* (2016), págs. 1-498. DOI: [10.1007/978-3-319-33000-6](https://doi.org/10.1007/978-3-319-33000-6).
- [52] John VanNice y col. «Alterations in ribosomal protein L19 that decrease the fidelity of translation». En: *Biochimie* 128-129 (2016), págs. 122-126. ISSN: 61831638. DOI: [10.1016/j.biochi.2016.07.015](https://doi.org/10.1016/j.biochi.2016.07.015). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2016.07.015>.
- [53] Cessa Rauch y col. «Why it is time to look beyond algal genes in photosynthetic slugs». En: *Genome Biology and Evolution* 7.9 (2015), págs. 2602-2607. ISSN: 17596653. DOI: [10.1093/gbe/evv173](https://doi.org/10.1093/gbe/evv173).
- [54] Julie A Schwartz. «A Functional Chlorophyll Biosynthesis Pathway Identified in the Kleptoplastic Sea Slug , Elysia chlorotica». Tesis doct. University of South Florida, 2015, pág. 33.
- [55] George B. Stefano, Christopher Snyder y Richard M. Kream. «Mitochondria, chloroplasts in animal and plant cells: Significance of conformational matching». En: *Medical Science Monitor* 21 (2015), págs. 2073-2078. ISSN: 16433750. DOI: [10.12659/MSM.894758](https://doi.org/10.12659/MSM.894758).
- [56] Gregor Christa y col. «Functional kleptoplasty in a limapontioidean genus: Phylogeny, food preferences and photosynthesis in Costasiella, with a focus on C. Ocellifera (Gastropoda: Sacoglossa)». En: *Journal of Molluscan Studies* 80.5 (2014), págs. 499-507. ISSN: 14643766. DOI: [10.1093/mollus/eyu026](https://doi.org/10.1093/mollus/eyu026).
- [57] Gregor Christa y col. «Identification of sequestered chloroplasts in photosynthetic and non-photosynthetic sacoglossan sea slugs (Mollusca, Gastropoda)». En: *Frontiers in Zoology* 11.1 (2014), págs. 1-12. ISSN: 17429994. DOI: [10.1186/1742-9994-11-15](https://doi.org/10.1186/1742-9994-11-15).
- [58] Gregor Christa y col. «Phylogenetic evidence for multiple independent origins of functional kleptoplasty in Sacoglossa (Heterobranchia, Gastropoda)». En: *Organisms Diversity and Evolution* 15.1 (2014), págs. 23-36. ISSN: 16181077. DOI: [10.1007/s13127-014-0189-z](https://doi.org/10.1007/s13127-014-0189-z).

- [59] Jan De Vries y col. «A sea slug's guide to plastid symbiosis». En: *Acta Societatis Botanicorum Poloniae* 83.4 (2014), págs. 415-421. ISSN: 20839480. DOI: [10.5586/asbp.2014.042](https://doi.org/10.5586/asbp.2014.042).
- [60] S. Donkor Eric, T. K. D. Dayie Nicholas y K Adiku Theophilus. «Bioinformatics with basic local alignment search tool (BLAST) and fast alignment (FASTA)». En: *Journal of Bioinformatics and Sequence Analysis* 6.1 (2014), págs. 1-6. DOI: [10.5897/ijbc2013.0086](https://doi.org/10.5897/ijbc2013.0086).
- [61] Kosuke Fujishima y Akio Kanai. «tRNA gene diversity in the three domains of life». En: *frontiers in GENETICS* 5.142 (2014), pág. 11. DOI: [10.3389/fgene.2014.00142](https://doi.org/10.3389/fgene.2014.00142). URL: www.frontiersin.org.
- [62] Timothée Le Péchon y Luc D. B. Gigord. *Molecular plant taxonomy. methods in molecular biology (methods and protocols)*. 2014, págs. 337-363. ISBN: 9781627037662. URL: http://link.springer.com/10.1007/978-1-62703-767-9%7B%5C_%7D17.
- [63] Karen N. Pelletreau y col. «Lipid accumulation during the establishment of kleptoplasty in *Elysia chlorotica*». En: *PLoS ONE* 9.5 (2014), e97477. ISSN: 19326203. DOI: [10.1371/journal.pone.0097477](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0097477).
- [64] Miguel Fernando Romero Gutiérrez. «Detección y datación de eventos de transferencia horizontal de genes de amibas del género *Entamoeba* con bacterias y arqueas». Tesis doct. Universidad Nacional Autónoma de México, 2014, pág. 41.
- [65] Julie A. Schwartz, Nicholas E. Curtis y Sidney K. Pierce. «FISH labeling reveals a horizontally transferred algal (*Vaucheria litorea*) nuclear gene on a sea slug (*Elysia chlorotica*) chromosome». En: *Biological Bulletin* 227.3 (2014), págs. 300-312. ISSN: 00063185. DOI: [10.1086/BBLv227n3p300](https://doi.org/10.1086/BBLv227n3p300).
- [66] João Serôdio y col. «Photophysiology of kleptoplasts: Photosynthetic use of light by chloroplasts living in animal cells». En: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 369.1640 (2014). ISSN: 14712970. DOI: [10.1098/rstb.2013.0242](https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0242).
- [67] Jan de Vries, Gregor Christa y Sven B. Gould. «Plastid survival in the cytosol of animal cells». En: *Trends in Plant Science* 19.6 (2014), págs. 347-350. ISSN: 13601385. DOI: [10.1016/j.tplants.2014.03.010](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2014.03.010). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tplants.2014.03.010>.
- [68] Heike Wägele y William F. Martin. *Endosymbioses in Sacoglossan Seaslugs: Plastid-Bearing Animals that Keep Photosynthetic Organelles Without Borrowing Genes*. Vol. 9783709113. 2014, págs. 291-324. ISBN: 9783709113035. DOI: [10.1007/978-3-7091-1303-5](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-1303-5).
- [69] Qiyun Zhu, Michael Kosoy y Katharina Dittmar. «HGTector: An automated method facilitating genome-wide discovery of putative horizontal gene transfers». En: *BMC Genomics* 15.1 (2014). ISSN: 14712164. DOI: [10.1186/1471-2164-15-717](https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-717).

- [70] Debashish Bhattacharya y col. «Genome analysis of *Elysia chlorotica* egg DNA provides no evidence for horizontal gene transfer into the germ line of this kleptoplastic mollusc». En: *Molecular Biology and Evolution* 30.8 (2013), págs. 1843-1852. ISSN: 15371719. DOI: [10.1093/molbev/mst084](https://doi.org/10.1093/molbev/mst084).
- [71] Toru Hisabori y col. «The chloroplast ATP synthase features the characteristic redox regulation machinery». En: *Antioxidants and Redox Signaling* 19.15 (2013), págs. 1846-1854. ISSN: 15230864. DOI: [10.1089/ars.2012.5044](https://doi.org/10.1089/ars.2012.5044).
- [72] Jinling Huang. «Horizontal gene transfer in eukaryotes: The weak-link model». En: *BioEssays* 35.10 (2013), págs. 868-875. ISSN: 02659247. DOI: [10.1002/bies.201300007](https://doi.org/10.1002/bies.201300007).
- [73] Uwe G. Maier y col. «Massively convergent evolution for ribosomal protein gene content in plastid and mitochondrial genomes». En: *Genome Biology and Evolution* 5.12 (2013), págs. 2318-2329. ISSN: 17596653. DOI: [10.1093/gbe/evt181](https://doi.org/10.1093/gbe/evt181).
- [74] Loïc Pillet y Jan Pawlowski. «Transcriptome analysis of foraminiferan elphidium margaritaceum questions the role of gene transfer in kleptoplastidy». En: *Molecular Biology and Evolution* 30.1 (2013), págs. 66-69. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/molbev/mss226](https://doi.org/10.1093/molbev/mss226).
- [75] John E. Walker. «The ATP synthase: The understood, the uncertain and the unknown». En: *Biochemical Society Transactions* 41.1 (2013), págs. 1-16. ISSN: 03005127. DOI: [10.1042/BST20110773](https://doi.org/10.1042/BST20110773).
- [76] Mee Ngan F. Yap y Harris D. Bernstein. «Mutations in the *Escherichia coli* ribosomal protein L22 selectively suppress the expression of a secreted bacterial virulence factor». En: *Journal of Bacteriology* 195.13 (2013), págs. 2991-2999. ISSN: 00219193. DOI: [10.1128/JB.00211-13](https://doi.org/10.1128/JB.00211-13).
- [77] Geoffrey Austin Davis. «Optimization of a Fluorescent In Situ Hybridization Protocol in the Chloroplast Hosting Mollusc *Elysia chlorotica*». Honors degree. University of Maine, 2012, pág. 31.
- [78] A. V. Korobeinikova, M. B. Garber y G. M. Gongadze. «Ribosomal proteins: Structure, function, and evolution». En: *Biochemistry (Moscow)* 77.6 (2012), págs. 562-574. ISSN: 00062979. DOI: [10.1134/S0006297912060028](https://doi.org/10.1134/S0006297912060028).
- [79] Taro Maeda y col. «Algivore or phototroph? *Plakobranthus ocellatus* (Gastropoda) continuously acquires kleptoplasts and nutrition from multiple algal species in nature». En: *PLoS ONE* 7.7 (2012), págs. 1-12. ISSN: 19326203. DOI: [10.1371/journal.pone.0042024](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0042024).
- [80] Karen N. Pelletreau y col. «Laboratory culturing of *Elysia chlorotica* reveals a shift from transient to permanent kleptoplasty». En: *Symbiosis* 58.1-3 (2012), págs. 221-232. ISSN: 03345114. DOI: [10.1007/s13199-012-0192-0](https://doi.org/10.1007/s13199-012-0192-0).

- [81] Jesús Pérez Juárez. «Detección de la transferencia horizontal de genes in vivo utilizando herramientas de biología sintética». Tesis doct. Universidad Nacional Autónoma de México, 2012, pág. 50.
- [82] Sidney K. Pierce y Nicholas E. Curtis. *Cell biology of the chloroplast symbiosis in sacoglossan sea slugs*. 1.^a ed. Vol. 293. Elsevier Inc., 2012, págs. 123-148. ISBN: 9780123943040. DOI: [10.1016/B978-0-12-394304-0.00009-9](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-394304-0.00009-9). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-394304-0.00009-9>.
- [83] Sidney K. Pierce y col. «Transcriptomic evidence for the expression of horizontally transferred algal nuclear genes in the photosynthetic sea slug, *Elysia chlorotica*». En: *Molecular Biology and Evolution* 29.6 (2012), págs. 1545-1556. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/molbev/msr316](https://doi.org/10.1093/molbev/msr316).
- [84] Susanne S. Renner y Sidonie Bellot. «Genomics of Chloroplasts and Mitochondria». En: *Advances in Photosynthesis and Respiration* 35. April 2017 (2012), págs. 103-126. ISSN: 1098-6596. DOI: [10.1007/978-94-007-2920-9](https://doi.org/10.1007/978-94-007-2920-9). arXiv: [arXiv:1011.1669v3](https://arxiv.org/abs/1011.1669v3). URL: <http://link.springer.com/10.1007/978-94-007-2920-9>.
- [85] Lan Xin Shi y col. «Photosystem II, a growing complex: Updates on newly discovered components and low molecular mass proteins». En: *Biochimica et Biophysica Acta - Bioenergetics* 1817.1 (2012), págs. 13-25. ISSN: 00052728. DOI: [10.1016/j.bbabi.2011.08.008](https://doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.08.008). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2011.08.008>.
- [86] Kara M. Soule y Mary E. Rumpho. «Light-regulated photosynthetic gene expression and phosphoribulokinase enzyme activity in the heterokont alga *vaucheria litorea* (xanthophyceae) and its symbiotic molluscan partner *elysia chlorotica* (gastropoda)». En: *Journal of Phycology* 48.2 (2012), págs. 373-383. ISSN: 00223646. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2012.01111.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2012.01111.x).
- [87] Baishnab C. Tripathy y Gopal K. Pattanayak. *Chlorophyll Biosynthesis in Higher Plants*. 1. 2012, págs. 63-94. ISBN: 9789400715790. DOI: [10.1007/978-94-007-1579-0_3](https://doi.org/10.1007/978-94-007-1579-0_3).
- [88] L. V. Aseev e I. V. Boni. «Extraribosomal functions of bacterial ribosomal proteins». En: *Molecular Biology* 45.5 (2011), págs. 739-750. ISSN: 00268933. DOI: [10.1134/S0026893311050025](https://doi.org/10.1134/S0026893311050025).
- [89] Beverley R. Green. «Chloroplast genomes of photosynthetic eukaryotes». En: *Plant Journal* 66.1 (2011), págs. 34-44. ISSN: 09607412. DOI: [10.1111/j.1365-313X.2011.04541.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-313X.2011.04541.x).
- [90] Damon Huber y col. «SecA Interacts with Ribosomes in Order to Facilitate Posttranslational Translocation in Bacteria». En: *Molecular Cell* 41.3 (2011), págs. 343-353. ISSN: 10972765. DOI: [10.1016/j.molcel.2010.12.028](https://doi.org/10.1016/j.molcel.2010.12.028).

- [91] Ryan Kerney. «Symbioses between salamander embryos and green algae». En: *Symbiosis* 54.3 (2011), págs. 107-117. ISSN: 03345114. DOI: [10.1007/s13199-011-0134-2](https://doi.org/10.1007/s13199-011-0134-2).
- [92] Oliver Mueller-Cajar y col. «Structure and function of the AAA + protein CbbX, a red-type Rubisco activase». En: *Nature* 479.7372 (2011), págs. 194-199. ISSN: 00280836. DOI: [10.1038/nature10568](https://doi.org/10.1038/nature10568).
- [93] Eva C.M. Nowack y col. «Endosymbiotic gene transfer and transcriptional regulation of transferred genes in *Paulinella chromatophora*». En: *Molecular Biology and Evolution* 28.1 (2011), págs. 407-422. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/molbev/msq209](https://doi.org/10.1093/molbev/msq209).
- [94] Karen N. Pelletreau y col. «Sea slug kleptoplasty and plastid maintenance in a metazoan». En: *Plant Physiology* 155.4 (2011), págs. 1561-1565. ISSN: 00320889. DOI: [10.1104/pp.111.174078](https://doi.org/10.1104/pp.111.174078).
- [95] Ovidiu Popa y Tal Dagan. «Trends and barriers to lateral gene transfer in prokaryotes». En: *Current Opinion in Microbiology* 14.5 (2011), págs. 615-623. ISSN: 13695274. DOI: [10.1016/j.mib.2011.07.027](https://doi.org/10.1016/j.mib.2011.07.027). URL: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mib.2011.07.027>.
- [96] Marilyn J. Roossinck. «The good viruses: Viral mutualistic symbioses». En: *Nature Reviews Microbiology* 9.2 (2011), págs. 99-108. ISSN: 17401526. DOI: [10.1038/nrmicro2491](https://doi.org/10.1038/nrmicro2491). URL: <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2491>.
- [97] Mary E. Rumpho y col. «The making of a photosynthetic animal». En: *Journal of Experimental Biology* 214.2 (2011), págs. 303-311. ISSN: 00220949. DOI: [10.1242/jeb.046540](https://doi.org/10.1242/jeb.046540).
- [98] Shinichiro Shoji y col. «Systemic Deletion of Ribosome Assembly Genes in *E. Coli*». En: *Journal of Molecular Biology* 413.4 (2011), págs. 751-761. DOI: [10.1016/j.jmb.2011.09.004](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2011.09.004).Systematic.
- [99] George D. Stanley y Jere H. Lipps. «Photosymbiosis: The Driving Force for Reef Success and Failure». En: *The Paleontological Society Papers* 17 (2011), págs. 33-59. ISSN: 1089-3326. DOI: [10.1017/s1089332600002436](https://doi.org/10.1017/s1089332600002436).
- [100] Heike Wägele y col. «Transcriptomic evidence that longevity of acquired plastids in the photosynthetic slugs *Elysia timida* and *Plakobranchus ocellatus* does not entail lateral transfer of algal nuclear genes». En: *Molecular Biology and Evolution* 28.1 (2011), págs. 699-706. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/molbev/msq239](https://doi.org/10.1093/molbev/msq239).
- [101] Ralph Bock. «The give-and-take of DNA: horizontal gene transfer in plants». En: *Trends in Plant Science* 15.1 (2010), págs. 11-22. ISSN: 13601385. DOI: [10.1016/j.tplants.2009.10.001](https://doi.org/10.1016/j.tplants.2009.10.001).
- [102] Katharina Handeler y col. «Slugs' last meals: Molecular identification of sequestered chloroplasts from different algal origins in *Sacoglossa* (Opisthobranchia, Gastropoda)». En: *Molecular Ecology Resources* 10.6 (2010), págs. 968-978. ISSN: 1755098X. DOI: [10.1111/j.1755-0998.2010.02853.x](https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02853.x).

- [103] Katharina Händeler. «Evolution of Sacoglossa (Opisthobranchia) with emphasis on their food (Ulvophyceae) and the ability to incorporate kleptoplasts». Tesis doct. Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, 2010, pág. 120.
- [104] Lasse Jenner y col. «Structural rearrangements of the ribosome at the tRNA proofreading step». En: *Nature Structural and Molecular Biology* 17.9 (2010), págs. 1072-1078. ISSN: 15459993. DOI: [10.1038/nsmb.1880](https://doi.org/10.1038/nsmb.1880). URL: <http://dx.doi.org/10.1038/nsmb.1880>.
- [105] Patrick J. Keeling. «The endosymbiotic origin, diversification and fate of plastids». En: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 365.1541 (2010), págs. 729-748. ISSN: 14712970. DOI: [10.1098/rstb.2009.0103](https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0103).
- [106] Taro Maeda y col. «Molecular phylogeny of the sacoglossa, with a discussion of gain and loss of kleptoplasty in the evolution of the group». En: *Biological Bulletin* 219.1 (2010), págs. 17-26. ISSN: 00063185. DOI: [10.1086/BBLv219n1p17](https://doi.org/10.1086/BBLv219n1p17).
- [107] José Darío Martínez Ezquerro. «CONSECUENCIAS DE LA TRANSFERENCIA HORIZONTAL DE GENES EN LA EVOLUCIÓN GENÓMICA EUCARIONTE». Tesis doct. Universidad Nacional Autónoma de México, 2010, pág. 109.
- [108] Norifumi Muraki y col. «X-ray crystal structure of the light-independent protochlorophyllide reductase». En: *Nature* 465.7294 (2010), págs. 110-114. ISSN: 00280836. DOI: [10.1038/nature08950](https://doi.org/10.1038/nature08950).
- [109] Julie A. Schwartz, Nicholas E. Curtis y Sidney K. Pierce. «Using algal transcriptome sequences to identify transferred genes in the sea slug, *Elysia chlorotica*». En: *Evolutionary Biology* 37.1 (2010), págs. 29-37. ISSN: 00713260. DOI: [10.1007/s11692-010-9079-2](https://doi.org/10.1007/s11692-010-9079-2).
- [110] Anne Marie Duchêne, Claire Pujol y Laurence Maréchal-Drouard. «Import of tRNAs and aminoacyl-tRNA synthetases into mitochondria». En: *Current Genetics* 55.1 (2009), págs. 1-18. ISSN: 01728083. DOI: [10.1007/s00294-008-0223-9](https://doi.org/10.1007/s00294-008-0223-9).
- [111] Katharina Händeler y col. «Functional chloroplasts in metazoan cells - A unique evolutionary strategy in animal life». En: *Frontiers in Zoology* 6.1 (2009), págs. 1-18. ISSN: 17429994. DOI: [10.1186/1742-9994-6-28](https://doi.org/10.1186/1742-9994-6-28).
- [112] Sidney K. Pierce, Nicholas E. Curtis y Julie A. Schwartz. «Chlorophyll a synthesis by an animal using transferred algal nucleargenes». En: *Symbiosis* 49.3 (2009), págs. 121-131. ISSN: 03345114. DOI: [10.1007/s13199-009-0044-8](https://doi.org/10.1007/s13199-009-0044-8).

- [113] John A. Raven y col. «Phagotrophy in the origins of photosynthesis in eukaryotes and as a complementary mode of nutrition in phototrophs: Relation to Darwin's insectivorous plants». En: *Journal of Experimental Botany* 60.14 (2009), págs. 3975-3987. ISSN: 00220957. DOI: [10.1093/jxb/erp282](https://doi.org/10.1093/jxb/erp282).
- [114] Mary E. Rumpho y col. «Molecular characterization of the calvin cycle enzyme phosphoribulokinase in the stramenopile alga *Vaucheria litorea* and the plastid hosting mollusc *Elysia chlorotica*». En: *Molecular Plant* 2.6 (2009), págs. 1384-1396. ISSN: 17529867. DOI: [10.1093/mp/ssp085](https://doi.org/10.1093/mp/ssp085).
- [115] Kara M. Soule. «Light regulated photosynthetic gene expression and enzyme activity in the heterokont alga *Vaucheria litoria* and its symbiotic partner the sacoglossan mollusc *Elysia chlorotica*». Tesis doct. The University of Maine, 2009, pág. 120.
- [116] Diane K. Stoecker y col. «Acquired phototrophy in aquatic protists». En: *Aquatic Microbial Ecology* 57.3 (2009), págs. 279-310. ISSN: 09483055. DOI: [10.3354/ame01340](https://doi.org/10.3354/ame01340).
- [117] Diana L Williams y col. «Implications of high level pseudogene transcription *Mycobacterium leprae*». En: *BMC Genomics* 10.397 (2009), págs. 1-20. DOI: [10.1186/1471-2164-10-397](https://doi.org/10.1186/1471-2164-10-397).
- [118] Patrick M Erwin y Robert W Thacker. «Phototrophic nutrition and symbiont diversity of two Caribbean sponge – cyanobacteria symbioses». En: *MARINE ECOLOGY PROGRESS SERIES* 362 (2008), págs. 139-147. DOI: [10.3354/meps07464](https://doi.org/10.3354/meps07464).
- [119] Patrick M. Erwin y Robert W. Thacker. «Cryptic diversity of the symbiotic cyanobacterium *Synechococcus spongiarum* among sponge hosts». En: *Molecular Ecology* 17.12 (2008), págs. 2937-2947. ISSN: 09621083. DOI: [10.1111/j.1365-294X.2008.03808.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2008.03808.x).
- [120] Anna Fong y John M Archibald. «Evolutionary Dynamics of Light-Independent Protochlorophyllide Oxidoreductase Genes in the Secondary Plastids of Cryptophyte Algae». En: *Eucariotic Cell* 7.3 (2008), págs. 550-553. DOI: [10.1128/EC.00396-07](https://doi.org/10.1128/EC.00396-07).
- [121] Kiyohito Fujita y col. «Functional analysis of the plastid and nuclear encoded CbbX proteins of *Cyanidioschyzon merolae*». En: *Genes and Genetic Systems* 83.2 (2008), págs. 135-142. ISSN: 13417568. DOI: [10.1266/ggs.83.135](https://doi.org/10.1266/ggs.83.135).
- [122] Kiyohito Fujita y col. «Molecular phylogeny and evolution of the plastid and nuclear encoded cbbX genes in the unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae*». En: *Genes and Genetic Systems* 83.2 (2008), págs. 127-133. ISSN: 13417568. DOI: [10.1266/ggs.83.127](https://doi.org/10.1266/ggs.83.127).
- [123] Udhi Hernawan. «REVIEW: Symbiosis between the Giant Clams (Bivalvia: Cardiidae) and Zooxanthellae (Dinophyceae)». En: *Biodiversitas* 9.1 (2008), págs. 53-58. ISSN: 1412-033X. DOI: [10.13057/biodiv/d090113](https://doi.org/10.13057/biodiv/d090113).

- [124] Mark Johnson y col. «NCBI BLAST: a better web interface.» En: *Nucleic acids research* 36.Web Server issue (2008), págs. 5-9. ISSN: 13624962. DOI: [10.1093/nar/gkn201](https://doi.org/10.1093/nar/gkn201).
- [125] Christopher E. Lane y John M. Archibald. «The eukaryotic tree of life: endosymbiosis takes its TOL». En: *Trends in Ecology and Evolution* 23.5 (2008), págs. 268-275. ISSN: 01695347. DOI: [10.1016/j.tree.2008.02.004](https://doi.org/10.1016/j.tree.2008.02.004).
- [126] Robert K. Nakamoto, Joanne A. Baylis Scanlon y Marwan K. Al-Shawi. «The rotary mechanism of the ATP synthase». En: *Archives of Biochemistry and Biophysics* 476.1 (2008), págs. 43-50. ISSN: 00039861. DOI: [10.1016/j.abb.2008.05.004](https://doi.org/10.1016/j.abb.2008.05.004).
- [127] Mary E. Rumpho y col. «Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene psbO to the photosynthetic sea slug *Elysia chlorotica*». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 105.46 (2008), págs. 17867-17871. ISSN: 00278424. DOI: [10.1073/pnas.0804968105](https://doi.org/10.1073/pnas.0804968105).
- [128] M. Virginia Sanchez-Puerta y Charles F. Delwiche. «A hypothesis for plastid evolution in chromalveolates». En: *Journal of Phycology* 44.5 (2008), págs. 1097-1107. ISSN: 00223646. DOI: [10.1111/j.1529-8817.2008.00559.x](https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2008.00559.x).
- [129] Thomas A. Steitz. «A structural understanding of the dynamic ribosome machine». En: *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 9.3 (2008), págs. 242-253. ISSN: 14710072. DOI: [10.1038/nrm2352](https://doi.org/10.1038/nrm2352).
- [130] A. A. Venn, J. E. Loram y A. E. Douglas. «Photosynthetic symbioses in animals». En: *Journal of Experimental Botany* 59.5 (2008), págs. 1069-1080. ISSN: 00220957. DOI: [10.1093/jxb/erm328](https://doi.org/10.1093/jxb/erm328).
- [131] David Yellowlees, T. Alwyn V. Rees y William Leggat. «Metabolic interactions between algal symbionts and invertebrate hosts». En: *Plant, Cell and Environment* 31.5 (2008), págs. 679-694. ISSN: 01407791. DOI: [10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2008.01802.x).
- [132] Jesse R. Zaneveld, Diana R. Nemergut y Rob Knight. «Are all horizontal gene transfers created equal? Prospects for mechanism-based studies of HGT patterns». En: *Microbiology* 154.1 (2008), págs. 1-15. ISSN: 13500872. DOI: [10.1099/mic.0.2007/011833-0](https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/011833-0).
- [133] Marika Dobáková, Martin Tichý y Josef Komenda. «Role of the PsbI protein in photosystem II assembly and repair in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803». En: *Plant Physiology* 145.4 (2007), págs. 1681-1691. ISSN: 15322548. DOI: [10.1104/pp.107.107805](https://doi.org/10.1104/pp.107.107805).
- [134] Jussi Evertsen y col. «Retention of functional chloroplasts in some sacoglossans from the indo-pacific and mediterranean». En: *Marine Biology* 151.6 (2007), págs. 2159-2166. ISSN: 00253162. DOI: [10.1007/s00227-007-0648-6](https://doi.org/10.1007/s00227-007-0648-6).

- [135] Rebecca J. Gast y col. «Kleptoplasty in an Antarctic dinoflagellate: Caught in evolutionary transition?» En: *Environmental Microbiology* 9.1 (2007), págs. 39-45. ISSN: 14622912. DOI: [10.1111/j.1462-2920.2006.01109.x](https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2006.01109.x).
- [136] Sophie Maisnier-Patin y col. «Compensatory Evolution Reveals Functional Interactions between Ribosomal Proteins S12, L14 and L19». En: *Journal of Molecular Biology* 366.1 (2007), págs. 207-215. ISSN: 00222836. DOI: [10.1016/j.jmb.2006.11.047](https://doi.org/10.1016/j.jmb.2006.11.047).
- [137] Luis M. Márquez y col. «A virus in a fungus in a plant: Three-way symbiosis required for thermal tolerance». En: *Science* 315.5811 (2007), págs. 513-515. ISSN: 00368075. DOI: [10.1126/science.1136237](https://doi.org/10.1126/science.1136237).
- [138] Marie Pierre Oudot-Le Secq y col. «Chloroplast genomes of the diatoms *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira pseudonana*: Comparison with other plastid genomes of the red lineage». En: *Molecular Genetics and Genomics* 277.4 (2007), págs. 427-439. ISSN: 16174615. DOI: [10.1007/s00438-006-0199-4](https://doi.org/10.1007/s00438-006-0199-4).
- [139] Sidney K. Pierce y col. «Transfer, integration and expression of functional nuclear genes between multicellular species (Symbiosis (2007) 43, 2, (57-64))». En: *Symbiosis* 43.3 (2007), pág. 171. ISSN: 03345114.
- [140] Adrian Reyes-Prieto, Andreas P.M. Weber y Debashish Bhattacharya. «The origin and establishment of the plastid in algae and plants». En: *Annual Review of Genetics* 41 (2007), págs. 147-168. ISSN: 00664197. DOI: [10.1146/annurev.genet.41.110306.130134](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.41.110306.130134).
- [141] Mary E. Rumpho y col. «The Kleptoplast». En: *The Structure and Function of Plastids*. Ed. por Robert R. Wise y J. Kenneth Hooper. 1.^a ed. Springer Netherlands, 2007. Cap. 23, págs. 451-473. DOI: [10.1007/978-1-4020-4061-0_23](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-4061-0_23).
- [142] Frank P. Ryan. «Review article: Viruses as symbionts». En: *Symbiosis* 44.1-3 (2007), págs. 11-21. ISSN: 03345114.
- [143] A. Reyes-Prieto & D. González-Halphen S. Funes, X. Pérez-Martinez. «The Apicoplast». En: *The Structure and Function of Plastids*. Ed. por Robert R. Wise y J. Kenneth Hooper. 1.^a ed. Springer Netherlands, 2007. Cap. 24, págs. 475-505. DOI: [10.7551/mitpress/7458.003.0033](https://doi.org/10.7551/mitpress/7458.003.0033).
- [144] Robert D. Willows. «Chlorophyll Synthesis». En: *The Structure and Function of Plastids*. Ed. por Robert R. Wise y Kenneth J. Hooper. 1.^a ed. Springer Netherlands, 2007. Cap. 15, págs. 295-313. DOI: [10.1007/1-4020-4061-x_15](https://doi.org/10.1007/1-4020-4061-x_15).
- [145] Ralph Bock. «Extranuclear inheritance: Gene transfer out of plastids». En: *Progress in Botany* 67.iii (2006), págs. 75-100. DOI: [10.1007/3-540-27998-9_4](https://doi.org/10.1007/3-540-27998-9_4).

- [146] Armen Y. Mulikidjanian y col. «The cyanobacterial genome core and the origin of photosynthesis». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 103.35 (2006), págs. 13126-13131. ISSN: 00278424. DOI: [10.1073/pnas.0605709103](https://doi.org/10.1073/pnas.0605709103).
- [147] Noriko Okamoto e Isao Inouye. «Hatena arenicola gen. et sp. nov., a Katablepharid Undergoing Probable Plastid Acquisition». En: *Protist* 157.4 (2006), págs. 401-419. ISSN: 16180941. DOI: [10.1016/j.protis.2006.05.011](https://doi.org/10.1016/j.protis.2006.05.011).
- [148] Mary E Rumpho y col. «Mollusc/algal chloroplast symbiosis: how can isolated chloroplasts continue to function for months in the cytosol of a sea slug in the absence of an algal nucleus?» En: *Zoology* 104.2001 (2006), págs. 303-312.
- [149] Sina M. Adl y col. «The new higher level classification of eukaryotes with emphasis on the taxonomy of protists». En: *Journal of Eukaryotic Microbiology* 52.5 (2005), págs. 399-451. ISSN: 10665234. DOI: [10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x](https://doi.org/10.1111/j.1550-7408.2005.00053.x).
- [150] Ingo Burghardt y col. «Solar powered seaslugs - Mutualistic symbiosis of aeolid nudibranchia (Mollusca, Gastropoda, Opisthobranchia) with Symbiodinium». En: *Symbiosis* 38.3 (2005), págs. 227-250. ISSN: 03345114.
- [151] Su Yoon Hwan y col. «Tertiary endosymbiosis driven genome evolution in dinoflagellate algae». En: *Molecular Biology and Evolution* 22.5 (2005), págs. 1299-1308. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/molbev/msi118](https://doi.org/10.1093/molbev/msi118).
- [152] Shin Ichiro Akase y col. «Molecular identification of red tide-causing microalga *Heterosigma akashiwo* strains based on their chloroplast DNA sequences». En: *Fisheries Science* 70.6 (2004), págs. 1043-1050. ISSN: 09199268. DOI: [10.1111/j.1444-2906.2004.00904.x](https://doi.org/10.1111/j.1444-2906.2004.00904.x).
- [153] Motomichi Matsuzaki y col. «Genome sequence of the ultrasmall unicellular red alga *Cyanidioschyzon merolae* 10D». En: *Nature* 428 (2004), págs. 653-657.
- [154] R. Ellen R. Nisbet, Oliver Kilian y Geoffrey I. McFadden. «Diatom genomics: Genetic acquisitions and mergers». En: *Current Biology* 14.24 (2004), págs. 1048-1050. ISSN: 09609822. DOI: [10.1016/j.cub.2004.11.043](https://doi.org/10.1016/j.cub.2004.11.043).
- [155] Katharina Semrad, Rachel Green y Renée Schroeder. «RNA chaperone activity of large ribosomal subunit proteins from *Escherichia coli*». En: *Rna* 10.12 (2004), págs. 1855-1860. ISSN: 13558382. DOI: [10.1261/rna.7121704](https://doi.org/10.1261/rna.7121704).
- [156] Matthew J. Betts y Robert B. Russell. «Amino Acid Properties and Consequences of Substitutions». En: *BIOINFORMATICS FOR GENETICISTS*. Ed. por Michael R Barnes y Ian C Gray. Wiley, 2003. Cap. 14, págs. 289-316.
- [157] Shan Qing Gu y col. «The signal recognition particle binds to protein L23 at the peptide exit of the *Escherichia coli* ribosome». En: *Rna* 9.5 (2003), págs. 566-573. ISSN: 13558382. DOI: [10.1261/rna.2196403](https://doi.org/10.1261/rna.2196403).

- [158] I. Korf y col. *BLAST*. BLAST (Electronic resource). O'Reilly Media, Incorporated, 2003. ISBN: 9780596002992. URL: <https://books.google.com.mx/books?id=zDqksXUaoBAC>.
- [159] William L. Mondy y Sidney K. Pierce. «Apoptotic-like morphology is associated with annual synchronized death in kleptoplastic sea slugs (*Elysia chlorotica*)». En: *Invertebrate Biology* 122.2 (2003), págs. 126-137. ISSN: 10778306. DOI: [10.1111/j.1744-7410.2003.tb00078.x](https://doi.org/10.1111/j.1744-7410.2003.tb00078.x).
- [160] Anders Öhman y col. «NMR structure of the ribosomal protein L23 from *Thermus thermophilus*». En: *Journal of Biomolecular NMR* 26.2 (2003), págs. 131-137. ISSN: 09252738. DOI: [10.1023/A:1023502307069](https://doi.org/10.1023/A:1023502307069).
- [161] Sidney K. Pierce y col. «Horizontal transfer of functional nuclear genes between multicellular organisms». En: *Biological Bulletin* 204.3 (2003), págs. 237-240. ISSN: 00063185. DOI: [10.2307/1543594](https://doi.org/10.2307/1543594).
- [162] Botho Bowien y Bernhard Kusian. «Genetics and control of CO₂ assimilation in the chemoautotroph *Ralstonia eutropha*». En: *Archives of Microbiology* 178.2 (2002), págs. 85-93. ISSN: 03028933. DOI: [10.1007/s00203-002-0441-3](https://doi.org/10.1007/s00203-002-0441-3).
- [163] Javier De Las Rivas, Juan Jose Lozano y Angel R. Ortiz. «Comparative analysis of chloroplast genomes: Functional annotation, genome-based phylogeny, and deduced evolutionary patterns». En: *Genome Research* 12.4 (2002), págs. 567-583. ISSN: 10889051. DOI: [10.1101/gr.209402](https://doi.org/10.1101/gr.209402).
- [164] Clare L. Simpson y David B. Stern. «The treasure trove of algal chloroplast genomes. Surprises in architecture and gene content, and their functional implications». En: *Plant Physiology* 129.3 (2002), págs. 957-966. ISSN: 00320889. DOI: [10.1104/pp.010908](https://doi.org/10.1104/pp.010908).
- [165] D.S. Goodsell. «Transfer RNA». En: *RCSB Protein Data Bank* (2001). DOI: [10.2210/rcsb_pdb/mom_2001_3](https://doi.org/10.2210/rcsb_pdb/mom_2001_3).
- [166] Ben Hankamer y col. «Subunit positioning and transmembrane helix organisation in the core dimer of photosystem II». En: *FEBS Letters* 504.3 (2001), págs. 142-151. ISSN: 00145793. DOI: [10.1016/S0014-5793\(01\)02766-1](https://doi.org/10.1016/S0014-5793(01)02766-1).
- [167] Jeffrey J. Hanten y Sidney K. Pierce. «Synthesis of several light-harvesting complex I polypeptides is blocked by cycloheximide in symbiotic chloroplasts in the sea slug, *Elysia chlorotica* (Gould): A case for horizontal gene transfer between alga and animal?» En: *Biological Bulletin* 201.1 (2001), págs. 34-44. ISSN: 00063185. DOI: [10.2307/1543523](https://doi.org/10.2307/1543523).
- [168] R. S. Millen y col. «Many parallel losses of infa from chloroplast dna during angiosperm evolution with multiple independent transfers to the nucleus». En: *Plant Cell* 13.3 (2001), págs. 645-658. ISSN: 10404651. DOI: [10.1105/tpc.13.3.645](https://doi.org/10.1105/tpc.13.3.645).

- [169] Heike Wägele y Geir Johnsen. «Observations on the histology and photosynthetic performance of "solar-powered" opisthobranchs (mollusca, gastropoda, opisthobranchia) containing symbiotic chloroplasts or zooxanthellae». En: *Organisms Diversity and Evolution* 1.3 (2001), págs. 193-210. ISSN: 14396092. DOI: [10.1078/1439-6092-00016](https://doi.org/10.1078/1439-6092-00016).
- [170] Michael Charette y Michael W. Gray. «Pseudouridine in RNA: What, where, how, and why». En: *IUBMB Life* 49.5 (2000), págs. 341-351. ISSN: 15216543. DOI: [10.1080/152165400410182](https://doi.org/10.1080/152165400410182).
- [171] Jordi De Manuel Barrabin. «The rotifers of spanish reservoirs: Ecological, systematical and zoogeographical remarks». En: *Limnetica* 19 (2000), págs. 91-267. ISSN: 02138409.
- [172] Gundo Diedrich y col. «Ribosomal protein L2 is involved in the association of the ribosomal subunits, tRNA binding to A and P sites and peptidyl transfer». En: *EMBO Journal* 19.19 (2000), págs. 5241-5250. ISSN: 02614189. DOI: [10.1093/emboj/19.19.5241](https://doi.org/10.1093/emboj/19.19.5241).
- [173] Gernot Glöckner, André Rosenthal y Klaus Valentin. «The structure and gene repertoire of an ancient red algal plastid genome». En: *Journal of Molecular Evolution* 51.4 (2000), págs. 382-390. ISSN: 00222844. DOI: [10.1007/s002390010101](https://doi.org/10.1007/s002390010101).
- [174] Brian J. Green y col. «Mollusc-algal chloroplast endosymbiosis. Photosynthesis, thylakoid protein maintenance, and chloroplast gene expression continue for many months in the absence of the algal nucleus». En: *Plant Physiology* 124.1 (2000), págs. 331-342. ISSN: 00320889. DOI: [10.1104/pp.124.1.331](https://doi.org/10.1104/pp.124.1.331).
- [175] Uwe G. Maier y col. «A nucleomorph-encoded CbbX and the phylogeny of RuBisCo regulators». En: *Molecular Biology and Evolution* 17.4 (2000), págs. 576-583. ISSN: 07374038. DOI: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a026337](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026337).
- [176] Surindar Paracer y Vernon Ahmadjian. *Symbiosis: An Introduction to Biological Associations*. Second. Oxford: Oxford University Press, 2000, pág. 304. ISBN: 9780195118070.
- [177] Mary E. Rumpho, Elizabeth J. Summer y James R. Manhart. «Solar-powered sea slugs. Mollusc/algal chloroplast symbiosis». En: *Plant Physiology* 123.1 (2000), págs. 29-38. ISSN: 00320889. DOI: [10.1104/pp.123.1.29](https://doi.org/10.1104/pp.123.1.29).
- [178] Brian T. Wimberly y col. «Structure of the 30S ribosomal subunit». En: *Nature* 407.6802 (2000), págs. 327-339. ISSN: 00280836. DOI: [10.1038/35030006](https://doi.org/10.1038/35030006).
- [179] K. Yamaguchi y A. R. Subramanian. «The plastid ribosomal proteins. Identification of all the proteins in the 50 S subunit of an organelle ribosome (chloroplast)». En: *Journal of Biological Chemistry* 275.37 (2000), págs. 28466-28482. ISSN: 00219258. DOI: [10.1074/jbc.M005012200](https://doi.org/10.1074/jbc.M005012200). URL: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M005012200>.

- [180] Charles F. Delwiche. «Tracing the thread of plastid diversity through the tapestry of life». En: *American Naturalist* 154.S4 (1999), S164-S177. ISSN: 00030147. DOI: [10.2307/2463984](https://doi.org/10.2307/2463984).
- [181] Susan E. Douglas y Susanne L. Penny. «The plastid genome of the cryptophyte alga, *Guillardia theta*: Complete sequence and conserved synteny groups confirm its common ancestry with red algae». En: *Journal of Molecular Evolution* 48.2 (1999), págs. 236-244. ISSN: 00222844. DOI: [10.1007/PL00006462](https://doi.org/10.1007/PL00006462).
- [182] Magnus Helgstrand y col. «Solution structure of the ribosomal protein S19 from *Thermus thermophilus*». En: *Journal of Molecular Biology* 292.5 (1999), págs. 1071-1081. ISSN: 00222836. DOI: [10.1006/jmbi.1999.3122](https://doi.org/10.1006/jmbi.1999.3122).
- [183] Joachim Marienfeld, Michael Unseld y Axel Brennicke. «The mitochondrial genome of *Arabidopsis* is composed of both native and immigrant information». En: *Trends in Plant Science* 4.12 (1999), págs. 495-502. ISSN: 13601385. DOI: [10.1016/S1360-1385\(99\)01502-2](https://doi.org/10.1016/S1360-1385(99)01502-2).
- [184] Atsushi Nakagawa y col. «The three-dimensional structure of the RNA-binding domain of ribosomal protein L2; a protein at the peptidyl transferase center of the ribosome». En: *EMBO Journal* 18.6 (1999), págs. 1459-1467. ISSN: 02614189. DOI: [10.1093/emboj/18.6.1459](https://doi.org/10.1093/emboj/18.6.1459).
- [185] Sidney K. Pierce y col. «Annual viral expression in a sea slug population: Life cycle control and symbiotic chloroplast maintenance». En: *Biological Bulletin* 197.1 (1999), págs. 1-6. ISSN: 00063185. DOI: [10.2307/1542990](https://doi.org/10.2307/1542990).
- [186] Robert E. Blankenship e Hyman Hertman. «The origin and evolution of oxygenic photosynthesis.» En: *Trends in biochemical sciences* 23.3 (1998), págs. 94-97.
- [187] Masahiro Sugiura, Tetsuro Hirose y Mamoru Sugita. «Evolution and mechanism of translation in chloroplasts». En: *Annual Review of Genetics* 32 (1998), págs. 437-459. ISSN: 00664197. DOI: [10.1146/annurev.genet.32.1.437](https://doi.org/10.1146/annurev.genet.32.1.437).
- [188] T. Suzuki, S. Takio y T. Satoh. «Light-dependent expression in liverwort cells of chlL/N and chlB identified as chloroplast genes involved in chlorophyll synthesis in the dark». En: *Journal of Plant Physiology* 152.1 (1998), págs. 31-37. ISSN: 01761617. DOI: [10.1016/S0176-1617\(98\)80098-9](https://doi.org/10.1016/S0176-1617(98)80098-9). URL: [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(98\)80098-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(98)80098-9).
- [189] J. Unge y col. «The crystal structure of ribosomal protein L22 from *Thermus thermophilus*: Insights into the mechanism of erythromycin resistance». En: *Structure* 6.12 (1998), págs. 1577-1586. ISSN: 09692126. DOI: [10.1016/S0969-2126\(98\)00155-5](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(98)00155-5).

- [190] Stephen F. Altschul y col. «Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs.» En: *Nucleic acids research* 25.17 (1997), págs. 3389-3402. ISSN: 1615-6110. DOI: [10.1093/oxfordjournals.molbev.a026201](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a026201).
- [191] Charles F. Delwiche y Jeffrey D. Palmer. «The origin of plastids and their spread via secondary symbiosis». En: *Origins of Algae and their Plastids*. Ed. por Debashish Bhattacharya. Vol. 11. Vienna: Springer, Vienna, 1997. Cap. 3, págs. 53-86. DOI: [10.1007/978-3-7091-6542-3_3](https://doi.org/10.1007/978-3-7091-6542-3_3).
- [192] Janet L. Gibson y F. Robert Tabita. «Analysis of the cbbXYZ operon in *Rhodobacter sphaeroides*». En: *Journal of Bacteriology* 179.3 (1997), págs. 663-669. ISSN: 00219193. DOI: [10.1128/jb.179.3.663-669.1997](https://doi.org/10.1128/jb.179.3.663-669.1997).
- [193] Niji Ohta y col. «Analysis of a plastid gene cluster reveals a close relationship between Cyanidioschyzon and Cyanidium». En: *Journal of Plant Research* 110.2 (1997), págs. 235-245. ISSN: 09189440. DOI: [10.1007/bf02509312](https://doi.org/10.1007/bf02509312).
- [194] Jean-David Rochaix. «Chloroplast reverse genetics: new insights into the function of plastid genes». En: *Trends in Plant Science* 2.11 (1997), págs. 419-425. ISSN: 13601385. DOI: [10.1016/s1360-1385\(97\)90025-x](https://doi.org/10.1016/s1360-1385(97)90025-x).
- [195] Naoki Sato, Klaus Kowallik y Jean Chang. «Analysis of the Cluster of Ribosomal Protein Genes in the Plastid Genome of a Unicellular Red Alga». En: *Journal of Molecular Evolution* 452 (1997), págs. 1-8.
- [196] Jyoti Sharma y col. «Characterization of the low molecular weight photosystem II reaction center subunits and their light-induced modifications by mass spectrometry». En: *Journal of Biological Chemistry* 272.7 (1997), págs. 3935-3943. ISSN: 00219258. DOI: [10.1074/jbc.272.7.3935](https://doi.org/10.1074/jbc.272.7.3935). URL: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.272.7.3935>.
- [197] J.M. Smith y E. Szathmary. *The Major Transitions in Evolution*. OUP Oxford, 1997. ISBN: 9780198502944. URL: <https://books.google.com.mx/books?id=Qts6FACGGaIC>.
- [198] Yuichi Fujita, Hidenori Takagi y Toshiharu Hase. «Identification of the chlB gene and the gene product essential for the light-independent chlorophyll biosynthesis in the cyanobacterium *Plectonema boryanum*». En: *Plant and Cell Physiology* 37.3 (1996), págs. 313-323. ISSN: 00320781. DOI: [10.1093/oxfordjournals.pcp.a028948](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a028948).
- [199] Kathe R. Jensen. «Phylogenetic systematics and classification of the Sacoglossa (Mollusca, Gastropoda, Opisthobranchia)». En: *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 351.1335 (1996), págs. 91-122. ISSN: 09628436. DOI: [10.1098/rstb.1996.0006](https://doi.org/10.1098/rstb.1996.0006).

- [200] Cesar V. Mújer y col. «Chloroplast genes are expressed during intracellular symbiotic association of *Vaucheria litorea* plastids with the sea slug *Elysia chlorotica*». En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 93.22 (1996), págs. 12333-12338. ISSN: 00278424. DOI: [10.1073/pnas.93.22.12333](https://doi.org/10.1073/pnas.93.22.12333).
- [201] Sidney K. Pierce, Rachel W. Biron y Mary E. Rumpho. «Endosymbiotic chloroplasts in molluscan cells contain proteins synthesized after plastid capture». En: *Journal of Experimental Biology* 199.10 (1996), págs. 2323-2330. ISSN: 00220949.
- [202] Masahiko Ikeuchi y col. «Directed inactivation of the psbl gene does not affect Photosystem II in the cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803». En: *MGG Molecular & General Genetics* 249.6 (1995), págs. 622-628. ISSN: 00268925. DOI: [10.1007/BF00418031](https://doi.org/10.1007/BF00418031).
- [203] Stephen F. Altschul y col. «Issues in searching molecular sequence databases». En: *Nature Genetics* 6 (1994), págs. 119-129.
- [204] M. G. Bubunenko, J. Schmidt y A. R. Subramanian. *Protein substitution in chloroplast ribosome evolution a eukaryotic cytosolic protein has replaced its organelle homologue (L23) in spinach*. 1994. DOI: [10.1006/jmbi.1994.1415](https://doi.org/10.1006/jmbi.1994.1415).
- [205] Elizabeth H. Harris, John E. Boynton y Nicholas W. Gillham. «Chloroplast ribosomes and protein synthesis». En: *Microbiological Reviews* 58.4 (1994), págs. 700-754. ISSN: 01460749. DOI: [10.1128/mmr.58.4.700-754.1994](https://doi.org/10.1128/mmr.58.4.700-754.1994).
- [206] Wolfgang R. Hess y col. «Inefficient rpl2 splicing in barley mutants with ribosome-deficient plastids». En: *Plant Cell* 6.10 (1994), págs. 1455-1465. ISSN: 10404651. DOI: [10.2307/3869981](https://doi.org/10.2307/3869981).
- [207] Warren Gish y David J States. «Identification of protein coding regions by database similarity search». En: *Nature Genetics* 3 (1993), págs. 266-272.
- [208] Kathe R. Jensen. «Morphological adaptations and plasticity of radular teeth of the Sacoglossa (= Ascoglossa) (Mollusca: Opisthobranchia) in relation to their food plants». En: *Biological Journal of the Linnean Society* 48.2 (1993), págs. 135-155. ISSN: 10958312. DOI: [10.1111/j.1095-8312.1993.tb00883.x](https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1993.tb00883.x).
- [209] Markus Kostrzewa y Klaus Zetsche. «Organization of plastid-encoded ATPase genes and flanking regions including homologues of infB and tsfin the thermophilic red alga *Galdieria sulphuraria*». En: *Plant Molecular Biology* 23 (1993), págs. 67-76.
- [210] Jianming Li, Michel Goldschmidt-Clermont y Michael P. Timko. «Chloroplast-encoded chlB is required for light-independent protochlorophyllide reductase activity in *Chlamydomonas reinhardtii*». En: *Plant Cell* 5.12 (1993), págs. 1817-1829. ISSN: 10404651. DOI: [10.2307/3869697](https://doi.org/10.2307/3869697).

- [211] Xiang Qin Liu, Hui Xu y Changzhi Huang. «Chloroplast chlB gene is required for light-independent chlorophyll accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii*». En: *Plant Molecular Biology* 23.2 (1993), págs. 297-308. ISSN: 01674412. DOI: [10.1007/BF00029006](https://doi.org/10.1007/BF00029006).
- [212] Michael Reith y Janet Munholland. «A high-resolution gene map of the chloroplast genome of the red alga *Porphyra purpurea*». En: *Plant Cell* 5.4 (1993), págs. 465-475. ISSN: 10404651. DOI: [10.2307/3869726](https://doi.org/10.2307/3869726).
- [213] Robert E. Blankenship. «Origin and early evolution of photosynthesis». En: *Photosynthesis Research* 33.2 (1992), págs. 91-111. ISSN: 01668595. DOI: [10.1007/BF00039173](https://doi.org/10.1007/BF00039173).
- [214] B. Kusian y col. «The Calvin cycle enzyme pentose-5-phosphate 3-epimerase is encoded within the cfx operons of the chemoautotroph *Alcaligenes eutrophus*». En: *Journal of Bacteriology* 174.22 (1992), págs. 7337-7344. ISSN: 00219193. DOI: [10.1128/jb.174.22.7337-7344.1992](https://doi.org/10.1128/jb.174.22.7337-7344.1992).
- [215] A. Marín y J. D. Ros. «Dynamics of a peculiar plant-herbivore relationship: the photosynthetic ascoglossan *Elysia timida* and the chlorophycean *Acetabularia acetabulum*». En: *Marine Biology* 112.4 (1992), págs. 677-682. ISSN: 00253162. DOI: [10.1007/BF00346186](https://doi.org/10.1007/BF00346186).
- [216] J. S. Gantt y col. «Transfer of rpl22 to the nucleus greatly preceded its loss from the chloroplast and involved the gain of an intron». En: *EMBO Journal* 10.10 (1991), págs. 3073-3078. ISSN: 02614189. DOI: [10.1002/j.1460-2075.1991.tb07859.x](https://doi.org/10.1002/j.1460-2075.1991.tb07859.x).
- [217] Kathe R. Jensen. «Comparison of Alimentary Systems in Shelled and Non-shelled Sacoglossa (Mollusca, Opisthobranchia)». En: *Acta Zoologica* 72.3 (1991), págs. 143-150. ISSN: 14636395. DOI: [10.1111/j.1463-6395.1991.tb00941.x](https://doi.org/10.1111/j.1463-6395.1991.tb00941.x).
- [218] Wim G. Meijer y col. «Identification and organization of carbon dioxide fixation genes in *Xanthobacter flavus* H4-14». En: *MGG Molecular & General Genetics* 225.2 (1991), págs. 320-330. ISSN: 00268925. DOI: [10.1007/BF00269865](https://doi.org/10.1007/BF00269865).
- [219] Stephen F. Altschul y col. «Basic local alignment search tool». En: *Journal of Molecular Biology* 215.3 (1990), págs. 403-410. ISSN: 00222836. DOI: [10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](https://doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2).
- [220] Kerry B. Clark, Kathe R. Jensen y Hugh M. Stirts. «SURVEY FOR FUNCTIONAL KLEPTOPLASTY AMONG WEST ATLANTIC ASCOGLOSSA (= SACOGLOSSA) (MOLLUSCA, OPISTHOBRANCHIA)». En: *The Veliger* 33.4 (1990), págs. 339-345.
- [221] A. N. Webber y col. «A fifth chloroplast-encoded polypeptide is present in the photosystem II reaction centre complex». En: *FEBS Letters* 242.2 (1989), págs. 259-262. ISSN: 00145793. DOI: [10.1016/0014-5793\(89\)80481-8](https://doi.org/10.1016/0014-5793(89)80481-8).

- [222] Masahiko Ikeuchi y Yorinao Inoue. «A new photosystem II reaction center component (4.8 kDa protein) encoded by chloroplast genome». En: *FEBS Letters* 241.1-2 (1988), págs. 99-104. ISSN: 00145793. DOI: [10.1016/0014-5793\(88\)81039-1](https://doi.org/10.1016/0014-5793(88)81039-1).
- [223] Frank Thomas y col. «Expression of the rpl23, rpl2 and rps19 genes in spinach chloroplasts». En: *Nucleic Acids Research* 16.6 (1988), págs. 2461-2472. ISSN: 03051048. DOI: [10.1093/nar/16.6.2461](https://doi.org/10.1093/nar/16.6.2461).
- [224] W. Gruissem y col. «A subpopulation of spinach chloroplast tRNA genes does not require upstream promoter elements for transcription». En: *Nucleic Acids Research* 14.19 (1986), págs. 7541-7556. ISSN: 03051048. DOI: [10.1093/nar/14.19.7541](https://doi.org/10.1093/nar/14.19.7541).
- [225] G. R. Waugh y K. B. Clark. «Seasonal and geographic variation in chlorophyll level of *Elysia tuca* (Ascoglossa: Opisthobranchia)». En: *Marine Biology: International Journal on Life in Oceans and Coastal Waters* 92.4 (1986), págs. 483-487. ISSN: 14321793. DOI: [10.1007/BF00392508](https://doi.org/10.1007/BF00392508).
- [226] Stephen Jefferson Sharp y Dieter Sol. «STRUCTURE AND TRANSCRIPTION OF EUKARYOTIC tRNA GENES I. INTRODUCTION A. Identification of tRNA Genes». En: *Critical Reviews in Biochemistry* 19.2 (1985), págs. 107-144.
- [227] Michael Syvanen. «Cross-species gene transfer; implications for a new theory of evolution». En: *Journal of Theoretical Biology* 112.2 (1985), págs. 333-343. ISSN: 10958541. DOI: [10.1016/S0022-5193\(85\)80291-5](https://doi.org/10.1016/S0022-5193(85)80291-5).
- [228] D. H. Gauss, F. Grüter y M. Sprinzl. «Compilation of tRNA sequences». En: *Nucleic Acids Research* 6.1 (1979), págs. 419. ISSN: 03051048. DOI: [10.1093/nar/6.1.419-a](https://doi.org/10.1093/nar/6.1.419-a).
- [229] Mathias Sprinzl y Friedrich Cramer. *The -C-C-A End of tRNA and Its Role in Protein Biosynthesis*. Vol. 22. C. 1979, págs. 1-69. ISBN: 0125400225. DOI: [10.1016/S0079-6603\(08\)60798-9](https://doi.org/10.1016/S0079-6603(08)60798-9).
- [230] P. Wrede, N. H. Woo y A. Rich. «Initiator tRNAs have a unique anticodon loop conformation.» En: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 76.7 (1979), págs. 3289-3293. ISSN: 00278424. DOI: [10.1073/pnas.76.7.3289](https://doi.org/10.1073/pnas.76.7.3289).
- [231] Kerry B. Clark y Mario Busacca. «Feeding specificity and chloroplast retention in four tropical ascoglossa, with a discussion of the extent of chloroplast symbiosis and the evolution of the order». En: *Journal of Molluscan Studies* 44.3 (1978), págs. 272-282. ISSN: 14643766. DOI: [10.1093/oxfordjournals.mollus.a065434](https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.mollus.a065434).
- [232] Dennis L. Taylor. «Chloroplasts as Symbiotic Organelles». En: *International Review of Cytology*. Ed. por G.H. Bourne, J.F. Danlelli y K.W. Jeon. Vol. 27. Academic Press, 1970, págs. 29-64. DOI: [10.1016/S0074-7696\(08\)61245-0](https://doi.org/10.1016/S0074-7696(08)61245-0).

- [233] Margit M.K. Nass. «Uptake of isolated chloroplasts by mammalian cells». En: *Science* 165.3898 (1969), págs. 1128-1131. ISSN: 00368075. DOI: [10 . 1126/science.165.3898.1128](https://doi.org/10.1126/science.165.3898.1128).
- [234] V. J. Freeman. «Studies on the virulence of bacteriophage-infected strains of *Corynebacterium diphtheriae*.» En: *Journal of bacteriology* 61.6 (1951), págs. 675-688. ISSN: 00219193. DOI: [10 . 1128 / jb . 61 . 6 . 675 - 688 . 1951](https://doi.org/10.1128/jb.61.6.675-688.1951).
- [235] E. L. Tatum y J. Lederberg. «Gene recombination in the bacterium *Escherichia coli*». En: *Journal of Bacteriology* 53.6 (1947), págs. 673-684.
- [236] Joshua Lederberg y E. L. Tatum. «Gene Recombination in *Escherichia coli*». En: *Nature* 158 (1946), pág. 558.
- [237] Oswald T. Avery, Colin M. Macleod y Maclyn McCarty. «Studies on the chemical nature of the substance inducing transformation of pneumococcal types: Induction of transformation by a desoxyribonucleic acid fraction isolated from pneumococcus type iii». En: *Journal of Experimental Medicine* 79.2 (1944), págs. 137-158. ISSN: 15409538. DOI: [10 . 1084 / jem . 79 . 2 . 137](https://doi.org/10.1084/jem.79.2.137).
- [238] Fred Griffith. «The significance of pneumococcal types». En: *Journal of Hygiene* XXVII.2 (1928), págs. 113-159. ISSN: 00221724. DOI: [10 . 1017 / S0022172400040420](https://doi.org/10.1017/S0022172400040420).

Apéndices

Apéndice A

Genes con soporte bibliográfico previo

Gen	Rango	Longitud (pb)	Fuente
<i>psaA</i>	105,489-107,738	2,250	Mujer y cols. 1996[200]; Green y cols. 2000[174]; Soule 2009[115]; Soule y Rumpho 2012[86]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psaB</i>	107,761-109,965	2,205	Mujer y cols. 1996[200]; Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psaC</i>	94,847-95,092	246	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psaD</i>	97,007-97,426	420	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]; Maeda y cols. 2020[26]
<i>psaE</i>	40,080-40,265	186	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psaF</i>	25,247-25,804	558	Pierce y cols. 2012[83]; Maeda y cols. 2020[26]

Cuadro A.1: Genes de origen plastidial reportados en estudios de transferencia horizontal

<i>psbA</i>	76,433-77,515	1,083	Mujer y cols. 1996[200]; Pierce, Biron y Rumpho 1996[201]; Green y cols. 2000[174]; Soule 2009[115]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbB</i>	42,451-43,980	1,530	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbC</i>	27,086-28,543	1,458	Mujer y cols. 1996[200]; Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbD</i>	26,125-27,180	1,056	Mujer y cols. 1996[200]; Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbE</i>	91,296-91,550	255	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbH</i>	44,371-44,571	201	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbJ</i>	91,866-91,985	120	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbN</i>	44,159-44,290	132	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbT</i>	44,017-44,115	99	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbV</i>	88,590-89,081	492	Pierce y cols. 2012[83]
<i>psbY</i>	103,934-104,050	117	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rbcL</i>	74,549-76,015	1,467	Mujer y cols. 1996[200]; Pierce, Biron y Rumpho 1996[201]; Green y cols. 2000[174]; Soule 2009[115]; Davis 2012[77]; Soule y Rumpho 2012[86]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>rbcS</i>	74,064-74,483	420	Mujer y cols. 1996[200]; Pierce y cols. 2012[83]; Maeda y cols. 2020[26]
<i>petA</i>	5,220-6,185	966	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>petB</i>	31,297-31,944	648	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>petD</i>	31,974-32,456	483	Pierce y cols. 2012[83]
<i>petF</i>	44,669-44,980	312	Pierce y cols. 2012[83]
<i>petJ</i>	88,184-88,525	342	Green y cols. 2000[174]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>petM</i>	98,418-98,516	99	Pierce y cols. 2012[83]

Cuadro A.2: Genes de origen plastidial reportados en estudios de transferencia horizontal (continuación)

<i>tufA</i>	45,402-46,634	1,233	Handeler y cols. 2011[102]; Wägele y cols. 2011[100]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>tsf</i>	13,706-14,323	618	Pierce y cols. 2012[83]
<i>chlB</i>	7,478-9,004	1,527	Pierce y cols. 2012[83]
<i>chlI</i>	245-1,273	1029	Pierce y cols. 2012[83]
<i>chlL</i>	79,006-79,878	873	Pierce y cols. 2012[83]
<i>chlN</i>	77,628-78,995	1,368	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf3</i>	1,834-2,355	522	Pierce y cols. 2012[83]; Mae- da y cols. 2020[26]
<i>ycf17</i>	28,533-28,739	207	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf24</i>	70,624-72,069	1,446	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf37</i>	72,979-73,521	543	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf39</i>	69,581-70,540	960	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf42</i>	68,881-69,480	600	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf60</i>	85,898-86,776	879	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ycf66</i>	89,147-89,473	327	Pierce y cols. 2012[83]
<i>atpA</i>	9,252-10,766	1515	Pierce y cols. 2012[83]
<i>atpB</i>	2,520-3,941	1,422	Pierce y cols. 2012[83]
<i>atpH</i>	12,547-12,795	249	Pierce y cols. 2012[83]
<i>atpI</i>	12,853-13,650	798	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpoA</i>	48,833-49,525	693	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpoB</i>	20,956-24,234	3,279	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpoC1</i>	19,098-20,933	1,836	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpoC2</i>	15,247-19,074	3,828	Pierce y cols. 2012[83]
<i>secA</i>	100,474-103,074	2,601	Pierce y cols. 2012[83]
<i>secY</i>	50,661-51,971	1,311	Pierce y cols. 2012[83]
<i>dnaB</i>	36,808-38,151	1,344	Pierce y cols. 2012[83]
<i>dnaK</i>	60,158-62,032	1,875	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ilvB</i>	32,741-34,513	1,773	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ilvH</i>	67,590-68,216	627	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rrs.2</i>	113,685-115,171	1,487	Mujer y cols. 1996[200]; Pier- ce y cols. 2012[83]
<i>cfxQ</i>	81,120-82,019	900	Pierce y cols. 2012[83]
<i>acpP</i>	104,864-105,136	273	Pierce y cols. 2012[83]
<i>ccsA</i>	80,140-81,051	912	Pierce y cols. 2012[83]
<i>clpC</i>	83,238-85,826	2,589	Pierce y cols. 2012[83]
<i>frC</i>	92,236-92,586	351	Pierce y cols. 2012[83]

Cuadro A.3: Genes de origen plastidial reportados en estudios de transferencia horizontal (continuación)

<i>ftsH</i>	40,427-42,361	1,935	Pierce y cols. 2012[83]
<i>thiG</i>	93,943-94,770	828	Pierce y cols. 2012[83]
<i>Urf-1</i>	6,379-7,236	858	Pierce y cols. 2012[83]
<i>trnA</i> (UGC)	63,789-63,861	73	Filip y Skuza 2021[22]
	113,484-113,556	73	
<i>rps2</i>	14,366-15,076	711	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps3</i>	56,110-56,760	651	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps4</i>	30,526-31,140	615	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps5</i>	52,038-52,607	570	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps7</i>	46,698-47,174	477	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps8</i>	53,528-53,926	399	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps9</i>	47,835-48,257	423	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps11</i>	49,679-50,059	381	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps12</i>	47,186-47,566	381	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps13</i>	50,088-50,468	381	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps14</i>	109,991-110,293	303	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps16</i>	29,605-29,856	252	Pierce y cols. 2012[83]; Filip y Skuza 2021[22]
<i>rps18</i>	1,502-1,780	279	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rps19</i>	57,131-57,421	291	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl1</i>	38,902-39,588	687	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl2</i>	57,456-58,283	828	Wägele y cols. 2011[100]; Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl3</i>	59,295-59,885	591	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl4</i>	58,607-59,269	663	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl5</i>	53,941-54,498	558	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl6</i>	52,976-53,512	537	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl9</i>	36,326-36,796	471	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl11</i>	38,446-38,868	423	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl12</i>	39,665-40,051	387	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl13</i>	48,267-48,692	426	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl14</i>	54,757-55,122	366	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl16</i>	55,640-56,062	423	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl18</i>	52,643-52,972	330	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl19</i>	82,461-82,835	375	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl20</i>	68,276-68,623	348	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl21</i>	104,421-104,735	315	Pierce y cols. 2012[83]

Cuadro A.4: Genes de origen plastidial reportados en estudios de transferencia horizontal (continuación)

<i>rpl22</i>	56,774-57,121	348	Pierce y cols. 2012[83]; Filip y Skuza 2021[22]
<i>rpl24</i>	54,505-54,756	252	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl27</i>	104,160-104,405	246	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl31</i>	47,588-47,806	219	Pierce y cols. 2012[83]
<i>rpl32</i>	103,672-103,851	180	Pierce y cols. 2012[83]; Filip y Skuza 2021[22]
<i>rpl33</i>	1,299-1,493	195	Pierce y cols. 2012[83]

Cuadro A.5: Genes de origen plastidial reportados en estudios de transferencia horizontal (continuación)

Apéndice B

BLAST del gen *chlB*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are buttons for '< Edit Search', 'Save Search', and 'Search Summary'. A search ID 'Z1467PR3013' is displayed with a 'Download All' link. The search parameters are listed on the left: Job Title (NC_011600.1:c9004-7478 Vaucheria litorea chloroplast...), Program (BLASTN), Database (genomic/188477/GCA_003991915.1), Query ID (Ic|Query_48857), Description (NC_011600.1:c9004-7478 Vaucheria litorea chloroplast, c...), Molecule type (dna), and Query Length (1527). On the right, there is a 'Filter Results' section with input fields for Percent Identity, E value, and Query Coverage, and buttons for 'Filter' and 'Reset'.

Figura B.1: Encabezado del BLAST de *chlB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the BLAST results table. The table has columns for Description, Max Score, Total Score, Query Cover, E value, Per. Ident, Acc. Len, and Accession. A single row is shown with a checkmark in the first column, indicating a significant alignment.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Elysia chlorotica isolate_EC2010 scaffold004186_whole genome shotgun sequence	2318	2318	92%	0.0	96.13%	1480	ROTK01004186.1

Figura B.2: Descripción del BLAST de *chlB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

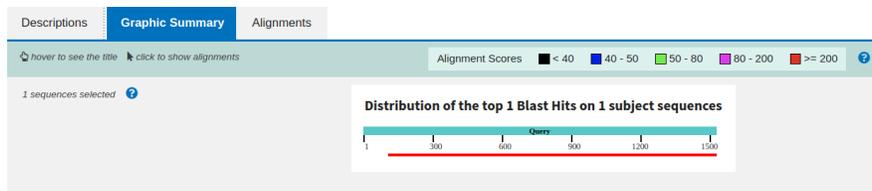


Figura B.3: Resumen gráfico del BLAST de *chlB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	28
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-2
Gapcosts	0,0
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 188477;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.33271	1.28
K	0.620991	0.46
H	1.12409	0.85

Results Statistics	
Length adjustment	29
Effective length of query	1498
Effective length of database	557190622
Effective search space	834671551756
Effective search space used	834671551756

Figura B.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *chlB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

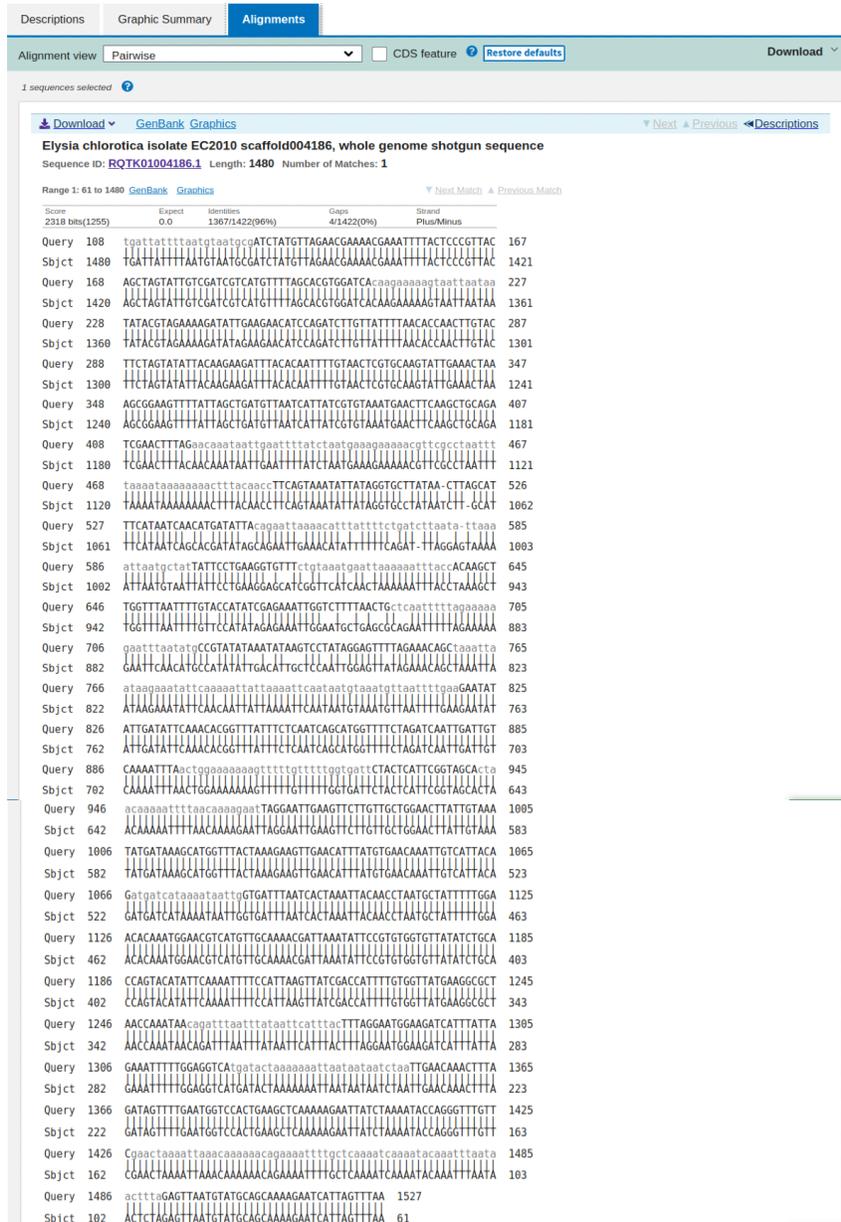


Figura B.5: Alineamiento del BLAST de *h1b* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elaysia chlorotica*

Apéndice C

BLAST del gen *rpl2*

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary ▾ How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title NC_011600.1:c58283-57456 *Vaucheria litorea*...

RID FVZ037G1013 Search expires on 07-27 08:04 am Download All ▾

Program BLASTN Citation ▾

Database genomic/188477/GCA_003991915.1 See details ▾

Query ID lc|Query_18489

Description NC_011600.1:c58283-57456 *Vaucheria litorea* chloroplast ...

Molecule type dna

Query Length 828

Other reports Distance tree of results MSA viewer ⓘ

Filter Results

Percent Identity to E value to Query Coverage to

Filter Reset

Figura C.1: Encabezado del BLAST de *rpl2* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Descriptions Graphic Summary Alignments

Sequences producing significant alignments Download ▾ Select columns ▾ Show 100 ⓘ

select all 1 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003255_whole genome shotgun sequence	1641	1641	100%

Figura C.2: Descripción del BLAST de *rpl2* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

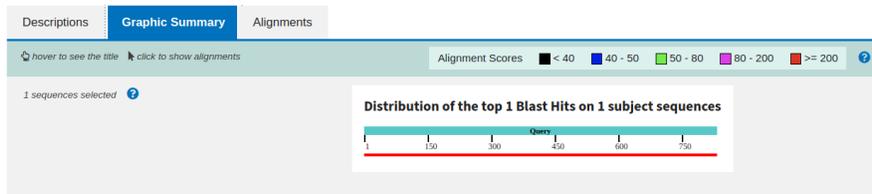


Figura C.3: Resumen gráfico del BLAST de *rpl2* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	20
Effective length of query	808
Effective length of database	557280523
Effective search space	450282662584
Effective search space used	450282662584

Figura C.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *rpl2* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

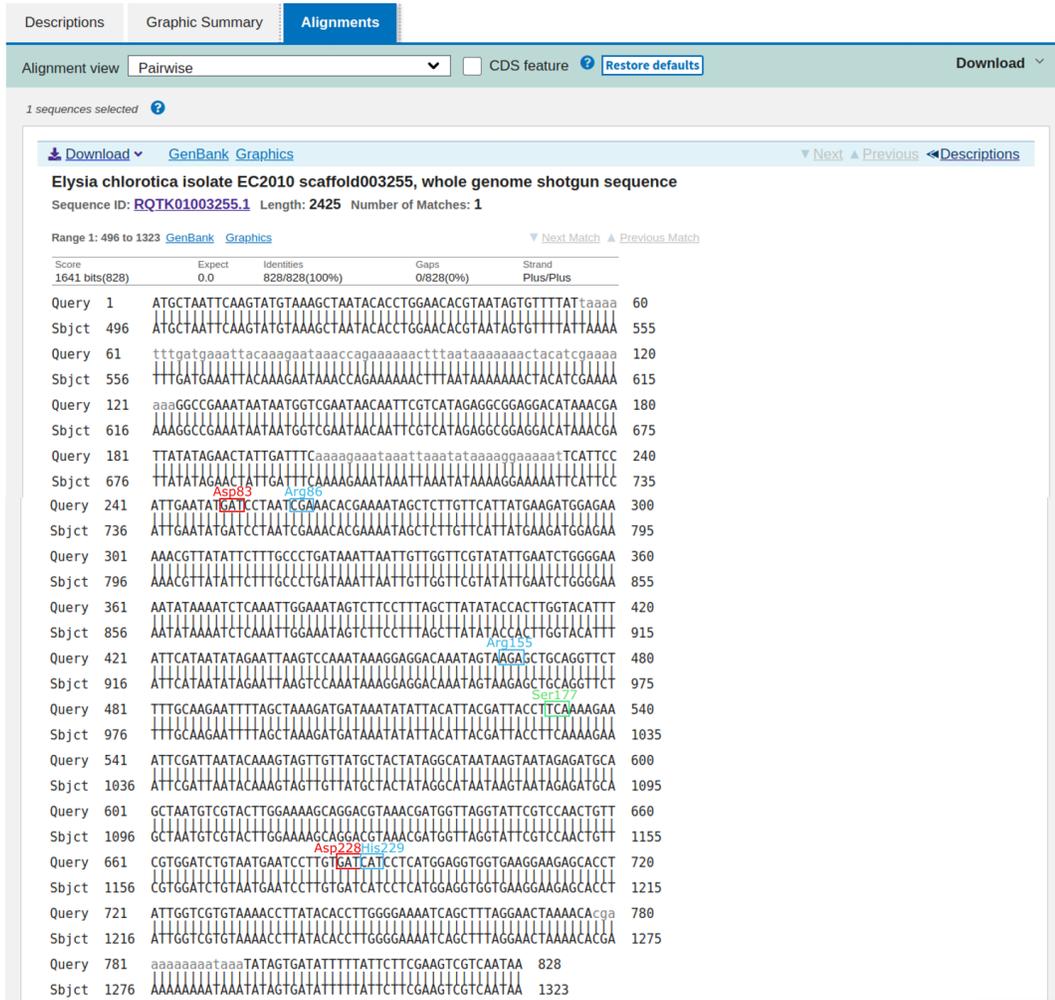


Figura C.5: Alineamiento del BLAST de *rpl2* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resaltan los codones correspondientes a los a.a. clave según Nakagawa y cols.[184], Diedrich y cols.[172] y Aseev & Boni[88]

Apéndice D

BLAST del gen *rps19*

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title NC_011600.1:c57421-57131 *Vaucheria litorea*...

RID G4BP2Z98016 Search expires on 07-30 12:29 pm Download All

Program BLASTN Citation

Database genomic/188477/GCA_003991915.1 See details

Query ID lcl|Query_60177

Description NC_011600.1:c57421-57131 *Vaucheria litorea* chloroplas! ...

Molecule type dna

Query Length 291

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Percent Identity [] to [] E value [] to [] Query Coverage [] to []

Filter Reset

Figura D.1: Encabezado del BLAST de *rps19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Descriptions Graphic Summary Alignments

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 1 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
Elysia chlorotica isolate EC2010_scaffold003255_whole genome shotgun sequence	577	577	100%

Figura D.2: Descripción del BLAST de *rps19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

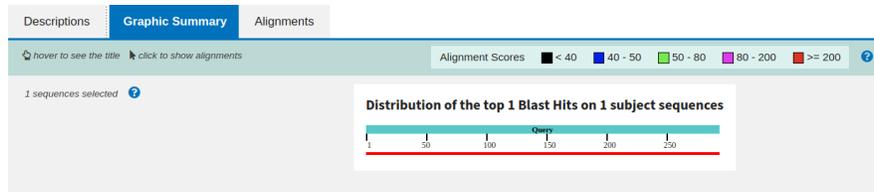


Figura D.3: Resumen gráfico del BLAST de *rps19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	19
Effective length of query	272
Effective length of database	557290512
Effective search space	151583019264
Effective search space used	151583019264

Figura D.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *rps19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

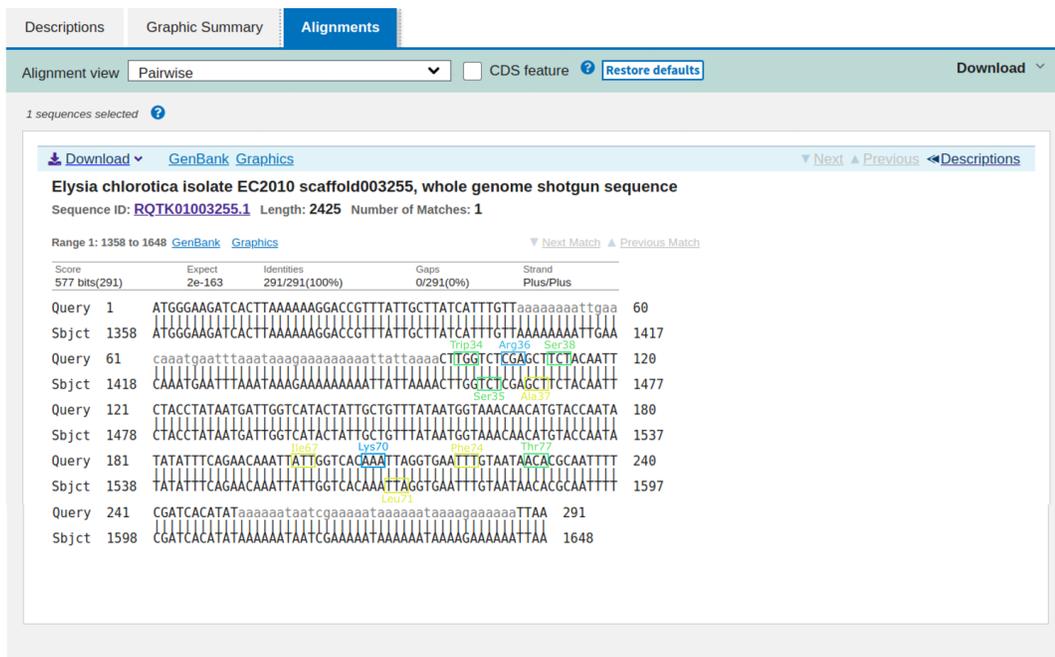


Figura D.5: Alineamiento del BLAST de *rps19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resaltan los codones correspondientes a los a.a. clave según Helgstrand y cols. [182]

Apéndice E

BLAST del gen *rpl22*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are buttons for '< Edit Search', 'Save Search', and 'Search Summary'. A 'Filter Results' section is visible on the right, with input fields for 'Percent Identity', 'E value', and 'Query Coverage', and 'Filter' and 'Reset' buttons. On the left, job details are listed: Job Title (NC_011600.1:c57121-56774 Vaucheria litorea...), RID (25PGK2G401R), Program (BLASTN), Database (genomic/188477/GCA_003991915.1), Query ID (Ic|Query_411571), Description (NC_011600.1:c57121-56774 Vaucheria litorea chloroplast ...), Molecule type (dna), and Query Length (348). There are also links for 'Distance tree of results' and 'MSA viewer'.

Figura E.1: Encabezado del BLAST de *rpl22* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the BLAST results table. The table has columns for 'Description', 'Max Score', 'Total Score', 'Query Cover', 'E value', 'Per. Ident', 'Acc. Len', and 'Accession'. A single row is visible, representing a significant alignment from *Elysia chlorotica* isolate_EC2010 scaffold003255_whole genome shotgun sequence, with a Max Score of 643, Total Score of 643, Query Cover of 100%, E value of 0.0, Per. Ident of 100.00%, Acc. Len of 2425, and Accession number ROTIK01003255.1.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
Elysia chlorotica isolate_EC2010 scaffold003255_whole genome shotgun sequence	643	643	100%	0.0	100.00%	2425	ROTIK01003255.1

Figura E.2: Descripción del BLAST de *rpl22* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

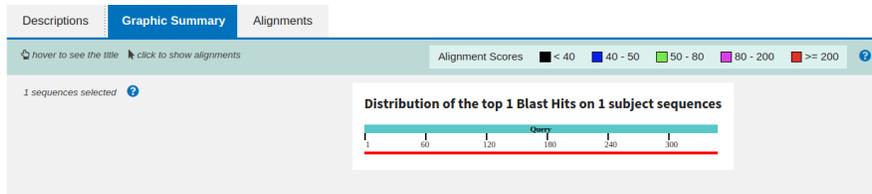


Figura E.3: Resumen gráfico del BLAST de *rpl22* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	28
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-2
Gapcosts	0,0
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.33271	1.28
K	0.620991	0.46
H	1.12409	0.85

Results Statistics	
Length adjustment	27
Effective length of query	321
Effective length of database	557210600
Effective search space	178864602600
Effective search space used	178864602600

Figura E.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *rpl22* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

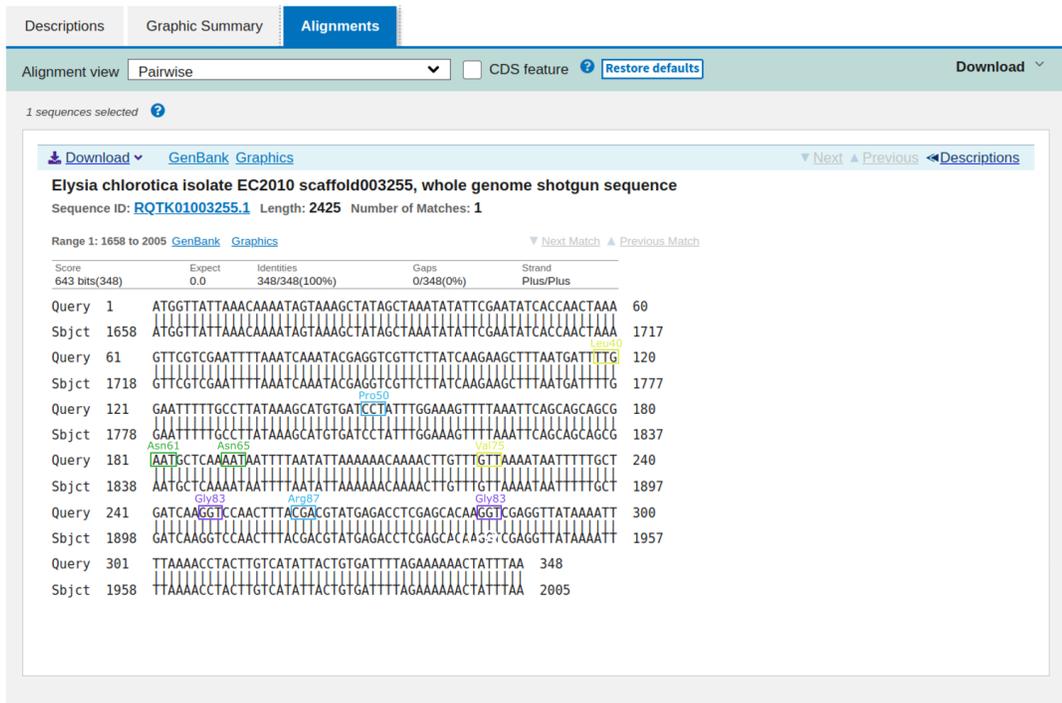


Figura E.5: Alineamiento del BLAST de *rpl22* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resaltan los codones correspondientes a los a.a. clave según Unge y cols.[189]

Apéndice F

BLAST del gen *rpl23*

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title NC_011600.1:c58614-58312 Vaucheria litorea...
RID HP85B7K0016 Search expires on 08-18 10:36 am Download All
Program BLASTN Citation
Database genomic/188477/GCA_003991915.1 See details
Query ID Icl|Query_62369
Description NC_011600.1:c58614-58312 Vaucheria litorea chloroplas! ...
Molecule type dna
Query Length 303
Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Percent Identity	E value	Query Coverage
<input type="text"/> to <input type="text"/>	<input type="text"/> to <input type="text"/>	<input type="text"/> to <input type="text"/>
<input type="button" value="Filter"/> <input type="button" value="Reset"/>		

Figura F.1: Encabezado del BLAST de *rpl23* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Descriptions Graphic Summary Alignments

Sequences producing significant alignments Download Select columns Show 100

select all 1 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003255_whole genome shotgun sequence	278	278	100%

Figura F.2: Descripción del BLAST de *rpl23* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

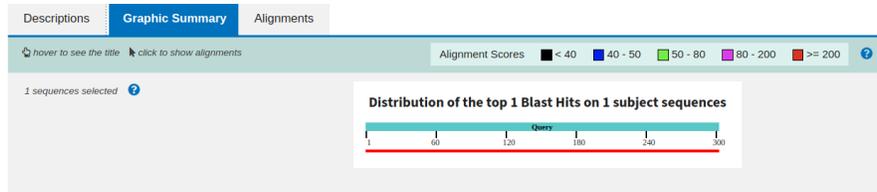


Figura F.3: Resumen gráfico del BLAST de *rpl23* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	19
Effective length of query	284
Effective length of database	557290512
Effective search space	158270505408
Effective search space used	158270505408

Figura F.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *rpl23* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

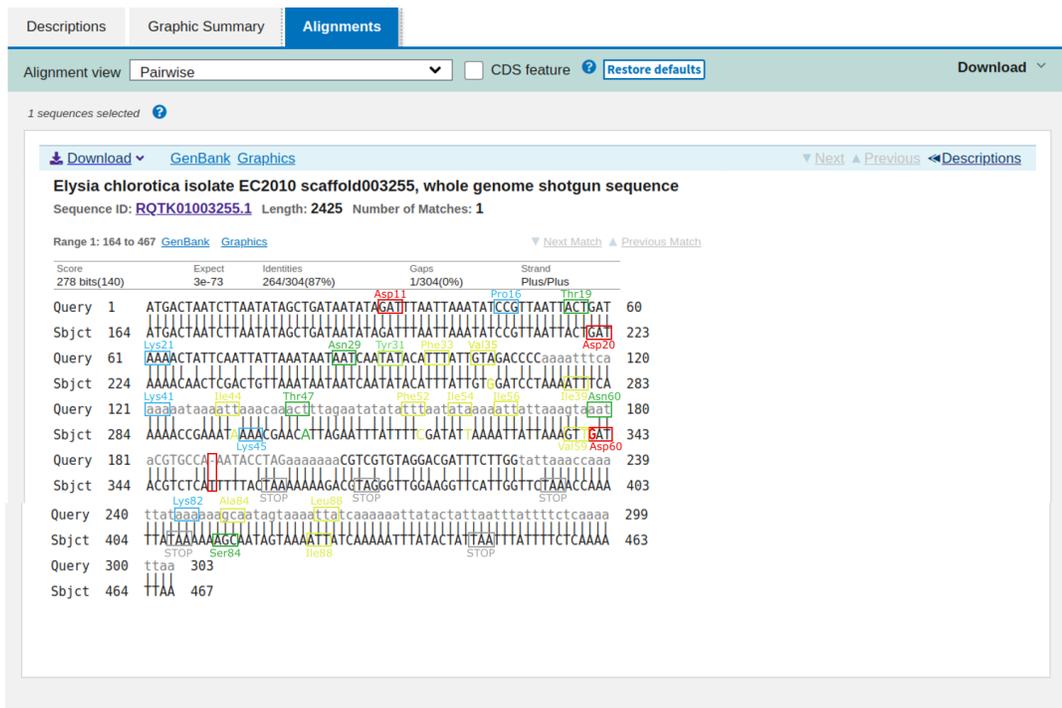


Figura F.5: Alineamiento del BLAST de *rpl23* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resaltan los codones correspondientes a los a.a. clave según Öhman y cols.[160], así como las sustituciones en la secuencia de *E.chlorotica* en tales codones, la inserción en la posición 189 y los codones STOP ocasionados a raíz de la inserción

Apéndice G

BLAST del gen *rpl19*

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title NC_011600.1:c82835-82461 *Vaucheria litorea*...

RID 1K4A4HXM01R Search expires on 02-27 09:32 am Download All

Program BLASTN Citation

Database genomic/188477/GCA_003991915.1 See details

Query ID lc|Query_553501

Description NC_011600.1:c82835-82461 *Vaucheria litorea* chloroplast ...

Molecule type dna

Query Length 375

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Percent Identity [] to [] E value [] to [] Query Coverage [] to []

Filter Reset

Figura G.1: Encabezado del BLAST de *rpl19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Descriptions Graphic Summary Alignments

Sequences producing significant alignments Download Manage columns Show 100

select all 1 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> <i>Elysia chlorotica</i> isolate_EC2010 scaffold003420_whole genome shotgun sequence	540	540	99%	4e-152	92.41%	2163	BQTK01003420.1

Figura G.2: Descripción del BLAST de *rpl19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

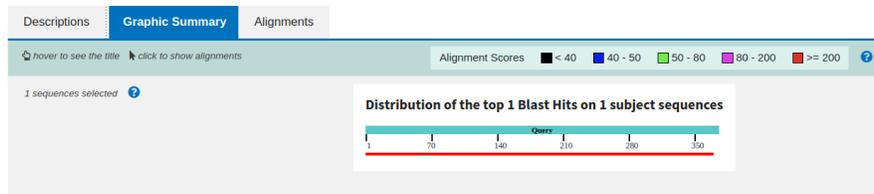


Figura G.3: Resumen gráfico del BLAST de *rpl19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	2,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 188477;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	0.633731	0.625
K	0.408146	0.41
H	0.912438	0.78

Results Statistics	
Length adjustment	30
Effective length of query	345
Effective length of database	557180633
Effective search space	192227318385
Effective search space used	192227318385

Figura G.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *rpl19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

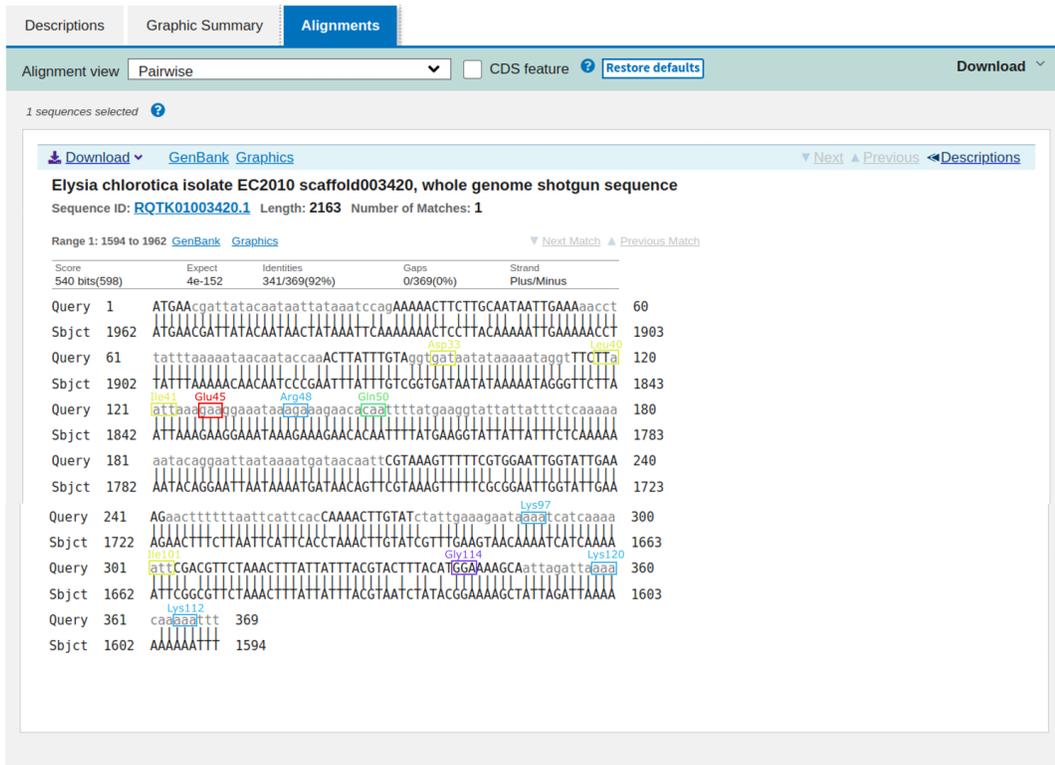


Figura G.5: Alineamiento del BLAST de *rpl19* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resaltan los codones correspondientes a los a.a. clave según Maisnier-Patin y cols.[136] y VanNice y cols.[52]



Figura G.6: Segmento final del alineamiento múltiple realizado en MEGA entre la secuencia *derpl19* de *V. litorea*, la secuencia homóloga a *rpl19* encontrada por medio de BLAST en el genoma de *E. chlorotica* y el *scaffold* RQTK01003420.1, igualmente de *E. chlorotica*. En amarillo se señalan los seis nucleótidos no rescatables por medio de BLAST

GenBank Send to: ▾

Vaucheria litorea chloroplast, complete genome

NCBI Reference Sequence: NC_011600.1
[FASTA](#) [Graphics](#)

Go to: ▾

LOCUS NC_011600 375 bp DNA linear PLN 26-MAR-2010
 DEFINITION Vaucheria litorea chloroplast, complete genome.
 ACCESSION [NC_011600](#) REGION: complement(82461..82835)
 VERSION NC_011600.1
 DBLINK Project: [32989](#)
 BioProject: [PRJNA32989](#)
 KEYWORDS RefSeq.
 SOURCE chloroplast Vaucheria litorea
 ORGANISM [Vaucheria litorea](#)
 Eukaryota; Sar; Stramenopiles; Ochrophyta; PX clade; Xanthophyceae;
 Vaucheriales; Vaucheriaceae; Vaucheria.

REFERENCE 1 (bases 1 to 375)
 AUTHORS Rumpho,M.E., Morful,J.M., Lee,J., Kannan,K., Tyler,M.S.,
 Bhattacharya,D., Moustafa,A. and Manhart,J.R.
 TITLE Horizontal gene transfer of the algal nuclear gene psb0 to the
 photosynthetic sea slug Elysia chlorotica
 JOURNAL Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 105 (46), 17867-17871 (2008)
 PUBMED [19084888](#)

REFERENCE 2 (bases 1 to 375)
 CONSRM NCBI Genome Project
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (26-NOV-2008) National Center for Biotechnology
 Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA

REFERENCE 3 (bases 1 to 375)
 AUTHORS Lee,J.
 TITLE Direct Submission
 JOURNAL Submitted (21-JUL-2008) Green Plant Institute, Bio Valley, Seoul
 National University, 103-2 Seodun, Gwonseon, Suwon, Gyeonggi
 441-853, Korea

COMMENT PROVISIONAL [REFSEQ](#): This record has not yet been subject to final
 NCBI review. The reference sequence was derived from [EU912438](#).
 COMPLETENESS: full length.

FEATURES
 Location/Qualifiers
 source 1..375
 /organism="Vaucheria litorea"
 /organelle="plastid:chloroplast"
 /mol_type="genomic DNA"
 /db_xref="taxon:109269"
 misc_feature complement(<1..>375)
 /note="small single copy; SSC"
 gene 1..375
 /gene="rpl19"
 /locus_tag="ValiC_p098"
 /db_xref="GeneID:7056121"
 CDS 1..375
 /gene="rpl19"
 /locus_tag="ValiC_p098"
 /codon_start=1
 /transl_table=11
 /product="ribosomal protein L19"
 /protein_id="YP_002327551.1"
 /db_xref="GeneID:7056121"
 /translation="MNDVTIINPEKLLAIEKPYLKITIPNLVFGDNKIKIGFLIKEG
 NKERTQFYEGIIISQKNTGINKMITIRKVFRRGIERTFLIHSPLVSIERIKSSKIR
 RSKLYLRLTHGKAIRLKQKFN"

ORIGIN
 1 atgaacgatt atacaataat tataaatcca gaaaaactc ttgcaataat tgaaaaacct
 61 tatttaaaaa taacaatacc aaacttattt gtaggatgata atataaaaat aggtttctta
 121 attaagaaga gaataaaga aagaacacaa tttatgaag gtattattat ttctcaaaaa
 181 aatacaggaa ttaataaat gataacaatt cgtaaaagtt ttctggaaat tggatttgaa
 241 agaacttttt taattcattc accaaaactt gtatctatg aaagaataaa atcatcaaaa
 301 attcgacggt ctaaaactta ttatttctgt actttcatg gaaaagcaat tagattaaaa
 361 caaaaattta actaa

//

Change region shown

Whole sequence
 Selected region

from: to:

Customize view

Basic Features

All features
 Gene, RNA, and CDS features only

Display options

Show reverse complement
 Show gap features

Figura G.7: Captura de pantalla de la entrada del GenBank correspondiente a la gen *rpl19* de *V. litorea*[19]. En verde se señalan los seis nucleótidos no rescatables por medio de BLAST

GenBank

Showing 375 bp region from base 1588 to 1962.

Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003420, whole genome shotgun sequence

GenBank: RQTK01003420.1

[FASTA](#) [Graphics](#)

LOCUS RQTK01003420 375 bp DNA linear INV 04-JAN-2019

DEFINITION Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003420, whole genome shotgun sequence.

ACCESSION [RQTK01003420](#) REGION: complement(1588..1962)

VERSION RQTK01003420.1

DBLINK BioProject: [PRJNA484060](#)
BioSample: [SAMN09762595](#)

KEYWORDS WGS.

SOURCE Elysia chlorotica (eastern emerald elysia)

ORGANISM [Elysia chlorotica](#)
Eukaryota; Metazoa; Lophotrochozoa; Mollusca; Gastropoda; Heterobranchia; Euthyneura; Panpulmonata; Sacoglossa; Placobranchoidea; Placobranchiidae; Elysia.

REFERENCE 1 (bases 1 to 375)

AUTHORS Cai,H., Li,O., Fang,X., Li,J., Curtis,N.E., Altenburger,A., Shibata,T., Feng,M., Maeda,T., Schwartz,J.A., Shigenobu,S., Lundholm,N., Nishiyama,T., Yang,H., Hasebe,M., Li,S., Pierce,S.K. and Wang,J.

TITLE A draft genome assembly of the solar-powered sea slug Elysia chlorotica

JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 375)

AUTHORS Cai,H., Li,O., Fang,X., Li,J., Curtis,N.E., Altenburger,A., Shibata,T., Feng,M., Maeda,T., Schwartz,J.A., Shigenobu,S., Lundholm,N., Nishiyama,T., Yang,H., Hasebe,M., Li,S., Pierce,S.K. and Wang,J.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (02-JAN-2019) BGI-CNGB, BGI, No. 11, Beishan IZ., Yantian Dist., Shenzhen, Guangdong 518083, China

COMMENT ##Genome-Assembly-Data-START##
Assembly Method :: AllPaths v. 52488; Canu v. 1.4
Assembly Name :: ElyChl2.0
Genome Representation :: Full
Expected Final Version :: Yes
Genome Coverage :: 307.0x
Sequencing Technology :: Illumina; PacBio
##Genome-Assembly-Data-END##

FEATURES

source Location/Qualifiers
1..375
/organism="Elysia chlorotica"
/mol_type="genomic DNA"
/submitter_seqid="scaffold003420"
/isolate="EC2010"
/isolation_source="salt marsh near Menemsha"
/db_xref="taxon:188477"
/tissue_type="whole organism of an adult"
/dev_stage="adult"
/country="USA: Martha's Vineyard, Massachusetts"
/collection_date="2010"

ORIGIN

```

1 atgaacgatt atacaatac tataaattca aaaaaactc ttacaaaaat tgaaaaacct
61 tatttaaaaa caacaatccc gaatttattt gtcggtgata atataaaaat aggtttctta
121 ataaagaag gaataaaga aagaacacaa ttttatgaag gtattattat ttccaacaaa
181 aatacaggaa ttaataaat gataacagtt cgtaaaagtt ttcgcggaat tggattgaa
241 agaactttct taattcattc acctaaactt gtatcgtttg aagtaacaaa atcatcaaaa
301 attcggcgtt ctaaacctta ttattacgt aatctatagc gaaaagctat tagattaaaa
361 aaaaaattt ttttaa
//

```

Send to: ▾

Change region shown

Whole sequence

Selected region

from: 1588 to: 1962

Customize view

Basic Features

All features

Gene, RNA, and CDS features only

Display options

Show reverse complement

Show gap features

Figura G.8: Captura de pantalla de la entrada del GenBank correspondiente al complemento de la región 1,588-1,962 del *scaffold* RQTK01003420 del genoma nuclear de *E. chlorotica*[2], homóloga al gen *rpl19* de *V. litorea*. En verde se señalan los seis nucleótidos no rescatables por medio de BLAST

Apéndice H

BLAST del gen *trnM*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are buttons for '< Edit Search', 'Save Search', and 'Search Summary'. A search ID 'H9371AJY016' is displayed with a 'Download All' link. The job title is 'NC_011600.1:82367-82451 Vaucheria litorea...'. The program used is 'BLASTN'. The database is 'genomic/188477/GCA_003991915.1'. The query ID is 'lc|Query_6121'. The description is 'NC_011600.1:82367-82451 Vaucheria litorea chloroplast, ...'. The molecule type is 'dna' and the query length is '85'. There are also links for 'Distance tree of results' and 'MSA viewer'. On the right, there is a 'Filter Results' section with input fields for 'Percent Identity', 'E value', and 'Query Coverage', along with 'Filter' and 'Reset' buttons.

Figura H.1: Encabezado del BLAST de *trnM* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the 'Descriptions' tab of the BLAST results. It displays a table of sequences producing significant alignments. The table has columns for 'Description', 'Max Score', 'Total Score', and 'Query Cover'. A single row is shown with a checkmark in the selection column, indicating it is selected. The description is 'Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003420_whole genome shotgun sequence'. The Max Score is 161, the Total Score is 161, and the Query Cover is 100%.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
<input checked="" type="checkbox"/> Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold003420_whole genome shotgun sequence	161	161	100%

Figura H.2: Descripción del BLAST de *trnM* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

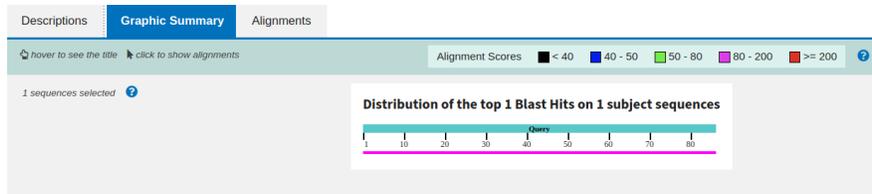


Figura H.3: Resumen gráfico del BLAST de *trnM* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	18
Effective length of query	67
Effective length of database	557300501
Effective search space	37339133567
Effective search space used	37339133567

Figura H.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *trnM* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

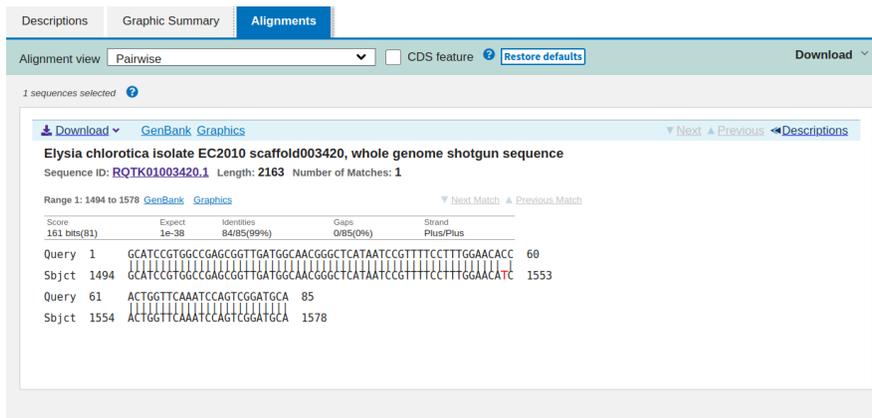


Figura H.5: Alineamiento del BLAST de *trnM* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resalta la sustitución en la posición 59

Apéndice I

BLAST del gen *trnR*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are buttons for '< Edit Search', 'Save Search', and 'Search Summary'. A search summary box contains the following information:

- Job Title: NC_011600.1:82251-82323 *Vaucheria litorea*...
- RID: H92UE3DF016 (Search expires on 08-13 10:45 am, Download All)
- Program: BLASTN (Citation)
- Database: genomic/188477/GCA_003991915.1 (See details)
- Query ID: lcl|Query_7005
- Description: NC_011600.1:82251-82323 *Vaucheria litorea* chloroplast, ...
- Molecule type: dna
- Query Length: 73
- Other reports: Distance tree of results, MSA viewer

To the right of the search summary is the 'Filter Results' section, which includes input fields for Percent Identity, E value, and Query Coverage, along with 'Filter' and 'Reset' buttons.

Figura I.1: Encabezado del BLAST de *trnR* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the 'Sequences producing significant alignments' table. The table has columns for 'Description', 'Max Score', 'Total Score', and 'Query Cover'. A single alignment is shown with a checkmark in the 'select all' column.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
Elysia chlorotica isolate EC2010 scaffold002420_whole genome shotgun sequence	137	137	100%

Figura I.2: Descripción del BLAST de *trnR* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

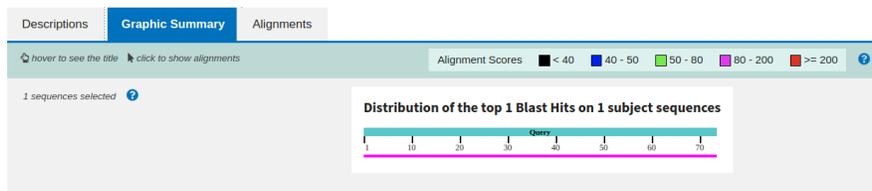


Figura I.3: Resumen gráfico del BLAST de *trnR* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	18
Effective length of query	55
Effective length of database	557300501
Effective search space	30651527555
Effective search space used	30651527555

Figura I.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *trnR* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

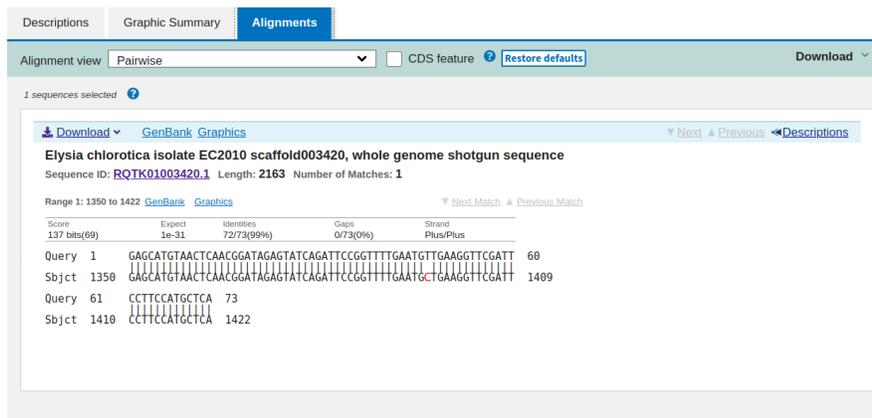


Figura I.5: Alineamiento del BLAST de *trnR* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. Se resalta la sustitución en la posición 59

Apéndice J

BLAST del gen *cfxQ*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are search management options: < Edit Search, Save Search, and Search Summary. A help section includes links for 'How to read this report?', 'BLAST Help Videos', and 'Back to Traditional Results Page'. The main job details are as follows:

Job Title	NC_011600.1:81120-82019 Vaucheria litorea...
RID	ZVUR73TF013 <small>Search expires on 02-06 10:11 am</small> Download All
Program	BLASTN Citation
Database	genomic/188477/GCA_003991915.1 See details
Query ID	Ic Query_7049
Description	NC_011600.1:81120-82019 Vaucheria litorea chloroplast, ...
Molecule type	dna
Query Length	900
Other reports	Distance tree of results MSA viewer

Filter Results section:

Percent Identity	E value	Query Coverage
<input type="text"/> to <input type="text"/>	<input type="text"/> to <input type="text"/>	<input type="text"/> to <input type="text"/>
<input type="button" value="Filter"/> <input type="button" value="Reset"/>		

Figura J.1: Encabezado del BLAST de *cfxQ* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the 'Sequences producing significant alignments' table. The table has columns for Description, Max Score, Total Score, Query Cover, E value, Per. Ident, Acc. Len, and Accession. A single row is visible, representing a hit from *Elysia chlorotica*.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Elysia chlorotica isolate_EC2010_scaffold003420_whole genome shotgun sequence	1640	1640	100%	0.0	99.56%	2163	ROTK01003420.1

Figura J.2: Descripción del BLAST de *cfxQ* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

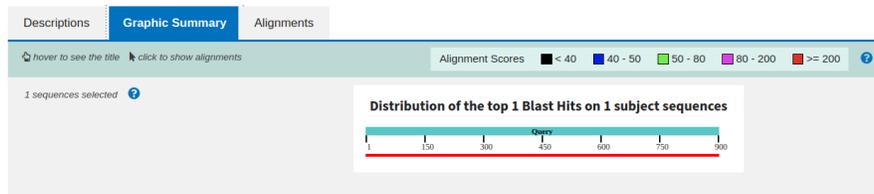


Figura J.3: Resumen gráfico del BLAST de *cfxQ* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	28
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-2
Gapcosts	0,0
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 188477;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.33271	1.28
K	0.620991	0.46
H	1.12409	0.85

Results Statistics	
Length adjustment	28
Effective length of query	872
Effective length of database	557200611
Effective search space	485878932792
Effective search space used	485878932792

Figura J.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *cfxQ* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

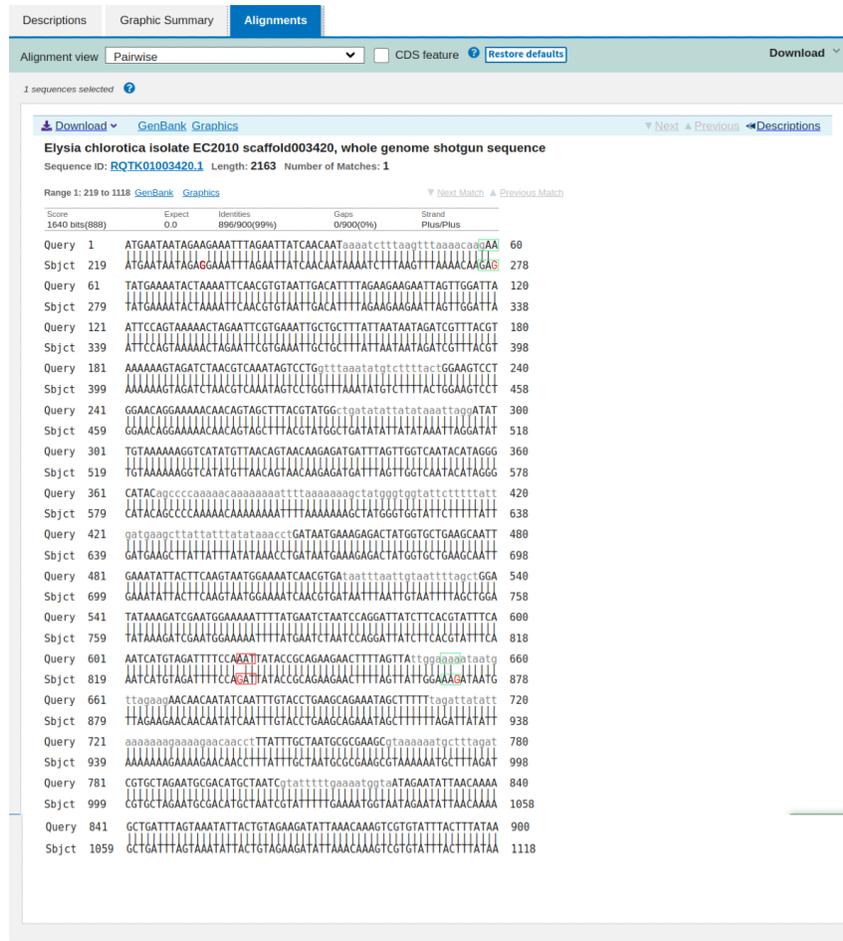


Figura J.5: Alineamiento del BLAST de *cfxQ* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*. En texto de color rojo se señalan las transiciones. En recuadro rojo: codones que generan sustitución de a.a. En recuadro verde: codones que generan sinonimias

Apéndice K

BLAST del gen *psbI*

The screenshot shows the BLAST search interface. At the top, there are navigation links: Home, Recent Results, Saved Strategies, and Help. Below this, there are buttons for '< Edit Search', 'Save Search', and 'Search Summary'. A search status message indicates 'Search expires on 08-12 10:26 am' and a 'Download All' link. The search parameters are listed on the left: Job Title (NC_011600.1:82090-82206 Vaucheria litorea...), RID (H6DB7YPR013), Program (BLASTN), Database (genomic/188477/GCA_003991915.1), Query ID (Ic|Query_41735), Description (NC_011600.1:82090-82206 Vaucheria litorea chloroplast. ...), Molecule type (dna), and Query Length (117). On the right, the 'Filter Results' section includes input fields for Percent Identity, E value, and Query Coverage, along with 'Filter' and 'Reset' buttons.

Figura K.1: Encabezado del BLAST de *psbI* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

The screenshot shows the 'Sequences producing significant alignments' table. The table has columns for 'Description', 'Max Score', 'Total Score', and 'Query Cover'. A single row is visible, representing the alignment with the *Elysia chlorotica* isolate. The table also includes a 'Download' button, a 'Select columns' dropdown, and a 'Show' dropdown set to '100'. There are also links for 'GenBank', 'Graphics', 'Distance tree of results', and 'MSA Viewer'.

Description	Max Score	Total Score	Query Cover
Elysia chlorotica isolate_EC2010_scaffold003420_whole_genome_shotgun_sequence	216	216	100%

Figura K.2: Descripción del BLAST de *psbI* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

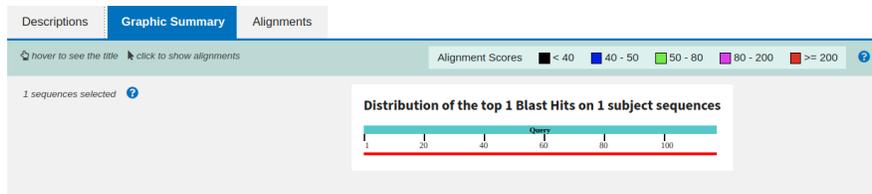


Figura K.3: Resumen gráfico del BLAST de *psbI* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	11
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-3
Gapcosts	5,2
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 566037;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.37406	1.37406
K	0.710603	0.710603
H	1.30725	1.30725

Results Statistics	
Length adjustment	18
Effective length of query	99
Effective length of database	557300501
Effective search space	55172749599
Effective search space used	55172749599

Figura K.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *psbI* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Apéndice L

BLAST del gen *atpB*

BLAST® Home Recent Results Saved Strategies Help

< Edit Search Save Search Search Summary How to read this report? BLAST Help Videos Back to Traditional Results Page

Job Title NC_011600.1:2520-3941 *Vaucheria litorea* chloroplast,...

RID 619JWR9201R Search expires on 04-22 08:33 am Download All

Program BLASTN Citation

Database genomic/188477/GCA_003991915.1 See details

Query ID lc|Query_518155

Description NC_011600.1:2520-3941 *Vaucheria litorea* chloroplast, co ...

Molecule type dna

Query Length 1422

Other reports Distance tree of results MSA viewer

Filter Results

Percent Identity [] to [] E value [] to [] Query Coverage [] to []

Filter Reset

Figura L.1: Encabezado del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Descriptions Graphic Summary Alignments

Sequences producing significant alignments Download Manage columns Show 100

select all 2 sequences selected GenBank Graphics Distance tree of results MSA Viewer

Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident	Acc. Len	Accession
<input checked="" type="checkbox"/> Elysia chlorotica isolate_EC2010 scaffold003942_whole genome shotgun sequence	1844	1844	90%	0.0	92.44%	1640	ROTK01003942.1
<input checked="" type="checkbox"/> Elysia chlorotica isolate_EC2010 scaffold000269_whole genome shotgun sequence	171	171	6%	3e-40	100.00%	554669	ROTK01000269.1

Figura L.2: Descripción del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

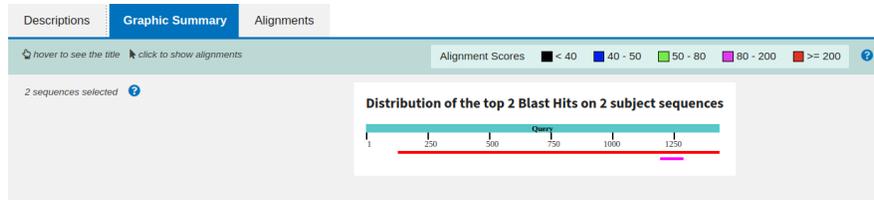


Figura L.3: Resumen gráfico del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

Search Parameters	
Program	blastn
Word size	28
Expect value	0.05
Hitlist size	100
Match/Mismatch scores	1,-2
Gapcosts	0,0
Low Complexity Filter	Yes
Filter string	L;W -t 188477;m;
Genetic Code	1

Database	
Posted date	
Number of letters	557,480,303
Number of sequences	9,989
Entrez query	None

Karlin-Altschul statistics		
Lambda	1.33271	1.28
K	0.620991	0.46
H	1.12409	0.85

Results Statistics	
Length adjustment	29
Effective length of query	1393
Effective length of database	557190622
Effective search space	776166536446
Effective search space used	776166536446

Figura L.4: Resumen de la búsqueda del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica*

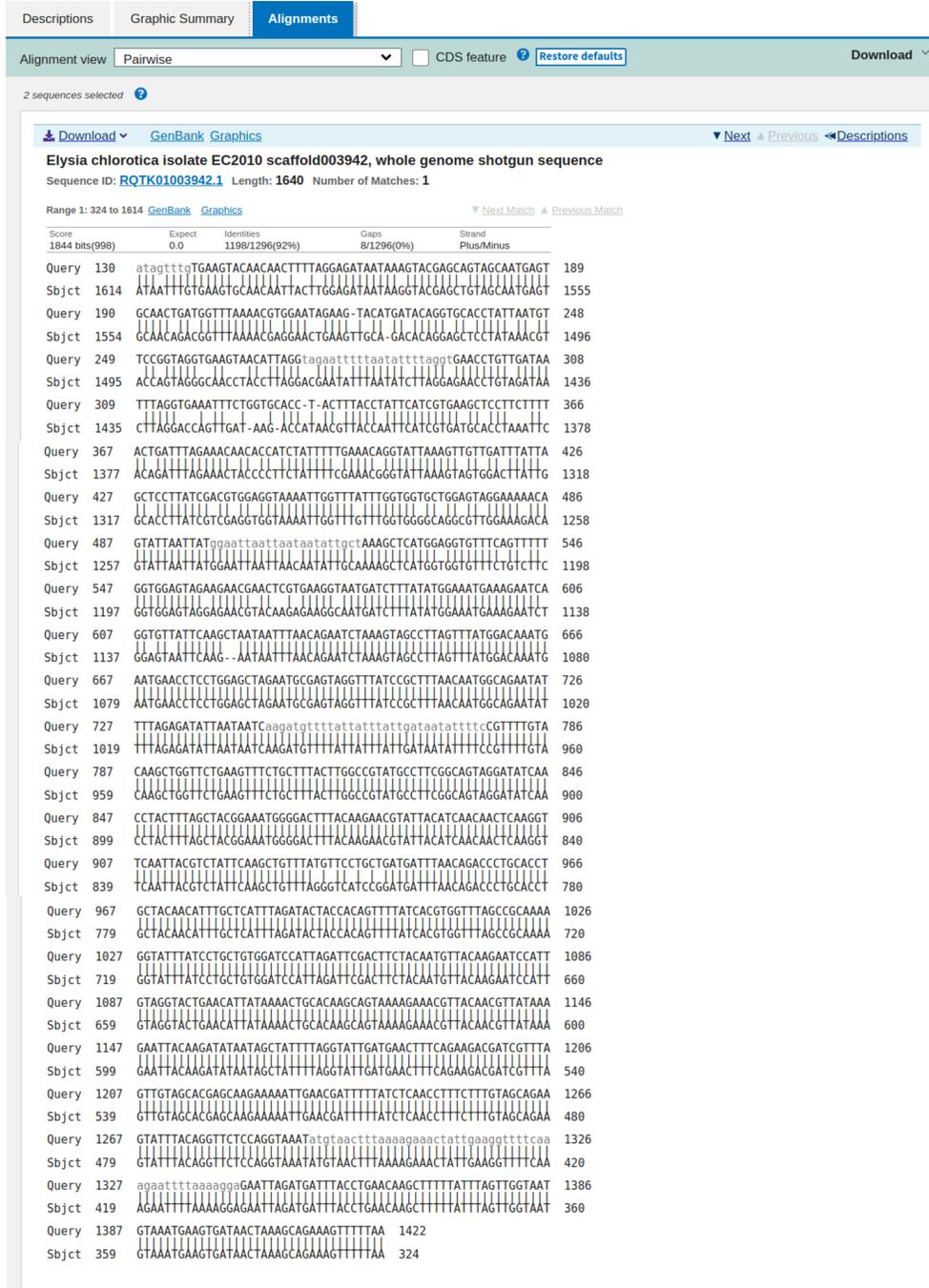


Figura L.5: Alineamiento del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica* con mayor cobertura.

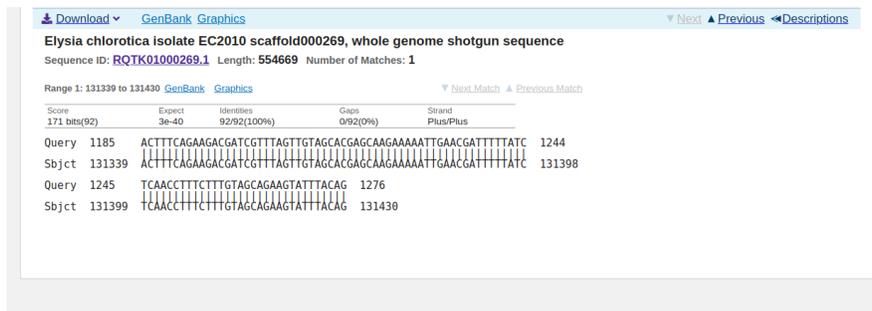


Figura L.6: Alineamiento del BLAST de *atpB* de *Vaucheria litorea* contra el genoma nuclear de *Elysia chlorotica* con menor cobertura.