



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

**Aislamiento, identificación, clonación y análisis
filogenético de la microalga *Prorocentrum minimum*
(Pavillard) Schiller 1933 aislada de la bahía del Callao
– Perú**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Biotecnología

AUTOR

Carmen Milagros RUIZ HUAMÁN

ASESOR

Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2013

RESUMEN

Las Floraciones Algales Nocivas (FAN) o Mareas Rojas son decoloraciones del agua visible a simple vista debido a la proliferación de uno o más microorganismos planctónicos como las microalgas, estas pueden alcanzar niveles altos y producir efectos adversos a la salud humana, como también, causar daños a otros organismos marinos cercanos a la costa. Por tal motivo, existió el interés de aislar, identificar y hacer un estudio filogenético de la especie *Prorocentrum minimum* encontrada en la Bahía del Callao- Perú. Se realizaron varias tomas de muestras de agua de mar para su posterior identificación morfológica, se les efectuó la técnica de purificación de la microalga, y a su vez, se adquirió un estándar de *Prorocentrum minimum* del Instituto Provasoli-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP), USA. Se realizó la curva de crecimiento para la concentración de la densidad microalgal, posteriormente se efectuó la extracción de ADN y la filogenia molecular a partir de las secuencias de las subunidades del ribosoma LSU rRNA de la especie *Prorocentrum minimum*. Se identificó *P. minimum* y *P. gracile*, que fueron especies epibentónicas cercanas por ser más recientes evolutivamente.

Para la confirmación de la presencia ausencia de alguna biotoxina marina en el cultivo de *Prorocentrum minimum*, se estableció un análisis cuantitativo de la dosis respuesta del animal en el bioensayo en ratón. Se logró obtener la purificación de cultivo de *Prorocentrum minimum* y estandarizar el protocolo de trabajo, se confirmó la filogenia de la especie de microalgas. No se logró obtener la toxina DSP del cultivo de la microalga.

Palabras claves: *Prorocentrum minimum*, filogenia molecular, Bahía del Callao.

SUMMARY

Harmful algal blooms (HABs) or red tides are water discolorations visible to the naked eye because of the proliferation of one or more planktonic microorganisms such as microalgae, can reach high levels, adverse effects to human health and harm other marine near shore. Why the interest to isolate, identify and phylogenetic study of the species *Prorocentrum minimum* found in the Bay of Callao, Peru. There were several shots of seawater samples for subsequent morphological identification, were made purification technique microalgae, in turn, was acquired *Prorocentrum minimum* standard Provasoli Institute-Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton (CCMP), USA. We performed the growth curve for the concentration of microalgal density, subsequently effected DNA extraction and molecular phylogeny of the sequences from the ribosomal subunits LSU rRNA of the species *Prorocentrum minimum*. *Prorocentrum minimum* and *Prorocentrum gracile*, were identified which were close by epibenthic species be more evolutionarily recent. For verification of the presence biotoxins absence of any present in the culture of *Prorocentrum minimum*, quantitative analysis for the dose response observed animal was performed using the mouse bioassay. For confirmation of the presence or absence of any marine biotoxin *Prorocentrum minimum* cultivation, established a quantitative analysis using the mouse bioassay for the dose response observed animal.

Keywords: *Prorocentrum minimum*, Molecular Phylogeny, Callao Bay.