

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
**MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**



**Análisis transcriptómico y proteómico de la biosíntesis de glucósidos esteviol y perfil metabolómico en *Stevia rebaudiana***

**TESIS**

**Para optar el grado académico de Maestra en ciencias con  
mención en:**

**Biología Molecular**

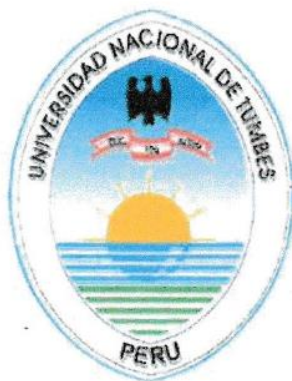
**Autora: Blga. Pilar Del Milagro Bazán Sernaqué**

**Tumbes, 2020**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

## ESCUELA DE POSGRADO

### MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



**Análisis transcriptómico y proteómico de la biosíntesis de glucósidos esteviol y perfil metabolómico en *Stevia rebaudiana***

**Tesis aprobada en forma y estilo por:**

**Dr. Deza Navarrete, Carlos Alberto (Presidente)**

**Mg. Bermejo Requena, Luis Alberto (Miembro)**

**PhD. Cedeño Escobar, Virna Alexia (Miembro)**

**Tumbes, 2020**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**MAESTRÍA EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**



**Análisis transcriptómico y proteómico de la biosíntesis de glucósidos esteviol y perfil metabolómico en *Stevia rebaudiana***

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido y forma.**

**Blga. Bazán Sernaqué, Pilar Del Milagro (Autora)** .....

**Ph.D. Mialhe Matonnier, Eric Louis (Asesor)** .....

**Tumbes, 2020**




## ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS


En Tumbes, a los veintisiete días del mes de febrero del año dos mil veinte, a las 11.00 horas, en el aula N°1 de la Escuela de Posgrado de la UNTumbes, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 022-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Mg. Luis Alberto Bermejo Requena - Secretario; Ph.D. Virna Alexia Cedeño Escobar – Vocal y con Resolución Directoral N° 044-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: **Análisis transcriptómico y proteómico de la biosíntesis de glucósidos esteviol y perfil metabolómico en *Stevia rebaudiana***, presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Pilar Del Milagro Bazán Sernaqué, asesorada por el Ph.D. Eric Louis Mialhe Matonnier.


Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: SOBRESALIENTE, dando cumplimiento al Art. 29° del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 11:40 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

Tumbes, 27 de febrero de 2020.

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete  
Presidente

  
\_\_\_\_\_  
Mg. Luis Alberto Bermejo Requena  
Secretario

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. Virna Alexia Cedeño Escobar  
Vocal

C.c. Jurado de Proyecto de Tesis (3), Asesor (1), sustentante (1), UI (2)

## DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, **PILAR DEL MILAGRO BAZÁN SERNAQUÉ**, declaro que los resultados reportados en la tesis denominada **Análisis transcriptómico y proteómico de la biosíntesis de glucósidos esteviol y perfil metabólico en *Stevia rebaudiana***, son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo, declaro (hasta donde tengo conocimiento) no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona excepto al que se reconoce como tal a través de citas bibliográficas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de autoría propia. Declaro, también que, en cuanto a la concepción y al estilo de la presentación o a la expresión escrita, la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mis asesores de tesis y jurado calificador.

Atentamente



---

**Blga. Pilar Del Milagro Bazán Sernaqué**

## DEDICATORIA

**A Dios**, por siempre mostrarme líneas no rectas pero si satisfactorias al terminar el recorrido.

**A mamá** por siempre brindarme sus sabios consejos y enseñarme que con esfuerzo y perseverancia todo es posible.

**A cada persona** que hizo posible esta investigación, siendo elemento importante para su desarrollo.

**A mis amigos** los cuales son considerados familia, por seguir conmigo este camino de investigación.

**Pilar Del Milagro Bazán Sernaqué**

## AGRADECIMIENTO

**A Dios**, por siempre poner la energía necesaria para superar cada obstáculo en el camino de la investigación. Ciencia sin Dios no es Ciencia.

**A mi madre María Regina**, por ser motivo principal de superación y perseverancia, por enseñarme que en la vida cada logro se disfruta cuando se realiza con amor y mucho sacrificio.

**A mi familia**, por siempre creer en mis posibilidades, por sentir mis logros como si fueran suyos.

**A los científicos** que imparten verdadera ciencia, por esos años dedicados a la innovación misma que ayuda en el desarrollo de posteriores investigaciones. A toda la comunidad científica ¡Muchas Gracias!

**A la Universidad Nacional De Tumbes e Incabiotec SAC** por permitir ser parte de su casa de estudios y por el asesoramiento científico.

**A nuestros Maestros**, elemento indispensables en este proceso de aprendizaje, de ellos aprendimos una manera diferente de llegar a las personas lo que hoy podemos llamar Aprender a Aprender.

**A Concytec-Fondecyt** por co-financiar el programa de maestría y permitirme ser becaria. Gracias por generar programas en ciencia, mismos que ayudarán a nuestro país pertenecer a una nueva era biotecnológica.

**A Eric Mialhe**, por el asesoramiento durante este proceso, por ser un amigo con quien siempre se pudo y podrá contar. Gracias por impartir en nosotros que la ciencia es compartida y no egoísta.

**Al equipo de Incabiotec SAC**, Cesar Chanta, Pedro Masías y Stalyn Córdova por su apoyo incondicional en el desarrollo de esta investigación. Gracias por sus “Si se puede”, “Si no es hoy será mañana”, “Si se pudo”.

**A las pocas pero buenas amistades** generadas durante este proceso, amistades que estoy segura perdurarán en el tiempo.

**A Todos Ustedes, Muchas Gracias**

## RESUMEN

*Stevia rebaudiana* es un arbusto herbáceo perenne, pertenece a la familia Asteraceae, nativo del sur de América endémica de Amambay – Paraguay. Su importancia en el mercado radica por presentar edulcorantes no calóricos 200 a 300 veces más dulce que la sacarosa, importante en el campo médico e industrial. El objetivo de la investigación fue integrar tecnologías omicas (Transcriptómica, proteómica y metabolómica) en plántulas de *Stevia rebaudiana*. Nuestros resultados mostraron a nivel de transcriptoma la expresión de tres genes de interés en la síntesis de glucósidos esteviol UGT74G1, UGT76G1 y UGT85C2, teniendo una mayor expresión UGT76G1 el cual particularmente participa en la síntesis de Rebaudiosido A; así también la EM-MALDI TOF/TOF permitió la identificación de secuencias peptídicas de enzimas UGT76G1, UGT85C2, UGT71E1 y UGT73E1 mismas que participan en la síntesis de glucósidos esteviol. Finalmente el análisis metabolómico mediante Cromatografía de capa fina acoplada a EM-MALDITOF/TOF a partir de hojas frescas mostró diversos metabolitos como flavonoide, diterpenos, triterpenos y alcaloides. Pocos son los estudios de integración de tecnologías modernas en plantas no modelo como en *Stevia rebaudiana* siendo de importancia para programas futuros de mejoramiento en esta especie.

**Palabras Claves:** Transcripción, cuantificación relativa, metabolitos secundarios, Proteómica

## ABSTRACT

*Stevia rebaudiana* is a perennial herbaceous shrub, it belongs to the Asteraceae family, native to southern America endemic to Amambay - Paraguay. Its importance in the market lies in presenting non-caloric sweeteners 200 to 300 times sweeter than sucrose, important in the medical and industrial field. The objective of the research was to integrate omic technologies (Transcriptomics, proteomics and metabolomics) in *Stevia rebaudiana* seedlings. Our results showed at the transcriptome level the expression of three genes of interest in the synthesis of steviol glycosides UGT74G1, UGT76G1 and UGT85C2, having a higher expression UGT76G1 which particularly participates in the synthesis of Rebaudioside A; likewise, MS-MALDI TOF / TOF allowed the identification of peptide sequences of enzymes UGT76G1, UGT85C2, UGT71E1 and UGT73E1 themselves that participate in the synthesis of steviol glycosides. Finally, the metabolomic analysis by thin layer chromatography coupled to MS-MALDITOF / TOF from fresh leaves shows various metabolites such as flavonoid, diterpenes, triterpenes and alkaloids. Few are the studies of integration of modern technologies in non-model plants as in *Stevia rebaudiana* being of importance for future breeding programs in this species.

**Keywords:** Transcription, relative quantification, secondary metabolites, Proteomics