

Abstract of thesis presented to the Senate of Universiti Malaysia Terengganu in fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy

**HEAT SHOCK PROTEIN 70 KNOCKDOWN IN THE BRINE SHRIMP
Artemia franciscana: IMPLICATION ON REPRODUCTION, IMMUNE
RESPONSE, AND EMBRYONIC CUTICULAR STRUCTURE**

IRENE TIONG KAI RU

JUNE 2024

Main Supervisor : Professor Yeong Yik Sung, Ph.D

**Co-Supervisors : Mimi Iryani Mat Taib, Ph.D
Associate Professor Muhd Danish Daniel Abdullah,
Ph.D**

**School/Institute : Institute of Climate Adaptation and Marine
Biotechnology**

The functional role(s) of heat shock protein 70 (Hsp70) in the brine shrimp *Artemia franciscana*, an important crustacean species for aquaculture, were investigated in this study. Using RNAi, we further demonstrated that Hsp70 knockdown influence the gestational survival and number of offspring released by adult *Artemia* females. As revealed by transcriptomic analysis, the expression of several cuticle and chitin synthetic genes were reduced, and carbohydrate metabolic genes expression affected upon Hsp70 knockdown. A comprehensive microscopic examination on Hsp70-deficient adult females revealed moderate to severe exoskeleton structure destruction, and abnormal eye lens features. Cysts produced by these Hsp70-deficient broods had a defective shell and were smaller in size, whereas nauplii had shorter first antennae and a rougher body epicuticle surface. Changes in carbohydrate metabolism caused by Hsp70 knockdown affected glycogen levels in adult *Artemia* females, as well as trehalose in cysts released from these broods,

indicating that Hsp70 may play a role in energy storage preservation. Outcomes from this work provided novel insights into the roles of Hsp70 in *Artemia* reproduction performance, cyst formation and exoskeleton structure preservation. The findings also support previous study that Hsp70 knockdown reduced *Artemia* nauplii tolerance to bacterial pathogens, which could be explained by the fact that loss of Hsp70 downregulated several Toll receptor genes (*NT1* and *Spaetzle*) and reduced the integrity of the exoskeleton, allowing pathogens to enter and cause infection, ultimately resulting in mortality.

Abstrak tesis yang dikemukakan kepada Senat Universiti Malaysia Terengganu sebagai memenuhi keperluan untuk Ijazah Doktor Falsafah

**PENYAHFUNGSIAN PROTEIN RENJATAN HABA 70 DALAM UDANG
Artemia franciscana: IMPLIKASI TERHADAP PEMBIAKAN, TINDAK
BALAS IMUN DAN STRUKTUR KUTIKEL EMBRIONIK**

IRENE TIONG KAI RU

JUN 2024

Penyelia : Professor Yeong Yik Sung, Ph.D

**Penyelia Bersama : Mimi Iryani Mat Taib, Ph.D
Associate Professor Muhd Danish Daniel
Abdullah, Ph.D**

**Pusat Pengajian/Institut : Institut Penyesuaian Iklim dan Bioteknologi
Marin**

Peranan fungsi protein renjatan haba 70 (Hsp70) dalam udang air gaaram *Artemia franciscana*, spesies krustasea penting untuk kajian akuakultur, telah disiasat dalam kajian ini. Melalui RNAi selanjutnya menunjukkan bahawa penyahfungsian Hsp70 boleh mempengaruhi kemandirian gestasi dan bilangan anak benih yang dihasilkan oleh *Artemia* betina dewasa. Seperti yang didedahkan oleh analisis transkriptom, ekspresi beberapa gen sintetik kutikel dan kitin telah dikurangkan, dan ekspresi gen metabolik karbohidrat juga terjejas dalam individu kekurangan Hsp70. Pemeriksaan mikroskopik yang komprehensif terhadap *Artemia* betina dewasa yang kekurangan Hsp70 mendedahkan kemusnahan struktur eksoskeleton yang sederhana hingga teruk, dan ciri-ciri kanta mata yang tidak normal. Sista yang dihasilkan oleh induk kekurangan Hsp70 mempunyai kerosakan pada cangkerang dan bersaiz lebih kecil, manakala nauplii kekurangan Hsp70 mempunyai antena pertama yang lebih pendek dan permukaan epikutikel badan yang lebih kasar. Perubahan dalam metabolisme karbohidrat yang disebabkan oleh pengurangan Hsp70 menjejaskan tahap glikogen dalam *Artemia* betina dewasa, serta trehalosa dalam sista yang dikeluarkan daripada induk ini, menunjukkan bahawa Hsp70 mungkin memainkan

peranan dalam pemeliharaan simpanan tenaga. Hasil daripada kajian ini memberikan pandangan baru tentang peranan Hsp70 dalam prestasi pembiakan *Artemia*, pembentukan sista dan pemeliharaan struktur eksoskeleton. Penemuan ini juga menyokong kajian lepas bahawa penyahfungsian Hsp70 mengurangkan toleransi nauplii *Artemia* terhadap patogen bakteria, yang dijelaskan oleh fakta bahawa kehilangan Hsp70 merendahkan beberapa gen reseptor Tol (NT1 dan Spaetzle), serta mengurangkan integriti eksoskeleton, membolehkan patogen untuk menyerang, menyebabkan jangkitan, dan akhirnya mengakibatkan kematian.