

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**



**Aplicación de técnicas ómicas en la evaluación de cepas
probióticas en el cultivo de *Thalassiosira weissflogii* para mejorar el
cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei***

TESIS

**Para optar el grado académico de Maestra en Ciencias con
Mención en Biotecnología Molecular**

Autora: Verónica Inés Sernaqué De La Cruz

Tumbes, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



**Aplicación de técnicas ómicas en la evaluación de cepas
probióticas en el cultivo de *Thalassiosira weissflogii* para mejorar el
cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei***

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Saldarriaga Yacila David Edilberto (Presidente) _____

Mg. Saldoya Tinedo Ricardo Williams (Secretario) _____

PhD. Diringer Benoit Mathieu (Vocal) _____

Tumbes, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



**Aplicación de técnicas ómicas en la evaluación de cepas
probióticas en el cultivo de *Thalassiosira weissflogii* para mejorar el
cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei***

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

Br. Sernaqué De la Cruz Verónica Inés (Autora)

MsC. Quimi Mujica Juan Gerardo (Asesor)

Tumbes, 2020



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
Licenciada
Resolución del Consejo Directivo N° 155-2019-SUNEDU/CD
ESCUELA DE POSGRADO
Tumbes - Perú

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En Tumbes, a los veintiséis 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 UNTUMBES se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 020-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila - Presidente; Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo - Secretario; Ph. D. Benoit Mathieu Diringier - Vocal y con Resolución Directoral N° 033-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: **Aplicación de técnicas ómicas en la evaluación de cepas probióticas en el cultivo de *Thalassiosira weissflogii* para mejorar el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei***, presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Verónica Inés Sernaqué de la Cruz, asesorada por el M.Sc. Juan Gerardo Quimi Mujica

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, 26 de febrero de 2020.

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila
Presidente

Mg. Ricardo Williams Saldoya Tinedo
Secretario

Ph. D. Benoit Mathieu Diringier
Vocal

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

RESUMEN

La biotecnología de microalgas recientemente ha obtenido gran impacto, por sus valiosos componentes como lípidos y metabolitos; y su aplicación como fuente de alimento en la larvicultura. El cultivo de microalgas, así como de rotíferos y artemia, pueden albergar altas concentraciones de bacterias patógenas causando severas pérdidas en el sector langostinero. En la presente investigación se utilizó un consorcio de cepas probióticas inoculadas al cultivo de *Thalassiosira weissflogii*, se evaluó la concentración celular mediante curva de crecimiento (cel/ml); al consorcio de cepas probióticas se realizó análisis proteómico y metabolómico mediante espectrometría de masas-MALDI TOF TOF. Para el cultivo de *Thalassiosira* se realizó análisis metagenómico por la técnica de secuenciamiento PGM ion Torrent, proteómico y lipidómico; y para el cultivo larvario de *Litopenaeus vannamei* se aplicó metagenómica y análisis de producción del ciclo larvario alimentado con el cultivo de *Thalassiosira* enriquecida con el consorcio de cepas probióticas (Th-Cp). Los resultados obtenidos en la concentración celular del cultivo Th-Cp, fue mayor en comparación al control ThC, además la prueba de producción del ciclo larvario demostró un mayor porcentaje de sobrevivencia del 58.5% en tanques alimentados con Th-Cp con respecto al control 43%; además se encontró péptidos antimicrobianos presentes en el consorcio como son bacilysin, subtilyn y surfactin y metabolitos como bacitracin que ayudan a proteger el cultivo de microalgas y por ende al cultivo larvario; el análisis proteómico de Th-C detecto secuencias peptídicas para el género *Vibrio*, y el análisis metagenómico confirmo la presencia *Vibrio* en el cultivo masivo CM-Th-C en un 49.1% en comparación con 0.3% de CM-ThCp, en el análisis lipidómico se detectó ácidos grasos de cadena larga y corta en ambos cultivos Th-C y Th-Cp. Por lo tanto, las aplicaciones tecnológicas en la interacción bacteria-microalga es un paso importante en el desarrollo futuro de la acuicultura sostenible.

Palabras claves: consorcio probiótico, *Thalassiosira*, ómicas, cultivo larvario

ABSTRACT

The biotechnology of microalgae has recently obtained great impact, due to its valuable components such as lipids and metabolites; and its application as a food source in larviculture. The culture of microalgae, as well as rotifers and brine shrimp, can harbor high concentrations of pathogenic bacteria causing severe losses in the shrimp sector. In the present investigation, a consortium of probiotic strains inoculated to the *Thalassiosira weissflogii* culture was used, the cell concentration was evaluated by means of a growth curve (cell / ml); The consortium of probiotic strains underwent proteomic and metabolomic analysis by mass spectrometry-MALDI TOF TOF. For the *Thalassiosira* culture, metagenomic analysis was performed using the PGM ion Torrent, proteomic and lipidomic sequencing technique; and for the larval culture of *Litopenaeus vannamei*, metagenomics and production analysis of the larval cycle fed with the *Thalassiosira* culture enriched with the consortium of probiotic strains (Th-Cp) was applied. The results obtained in the cell concentration of the Th-Cp culture was higher compared to the ThC control, in addition, the larval cycle production test showed a higher survival percentage of 58.5% in tanks fed with Th-Cp compared to the control 43%; Furthermore, it was found antimicrobial peptides present in the consortium such as bacilysin, subtilyn and surfactin and metabolites such as bacitracin that help to protect the microalgae culture and therefore the larval culture; The proteomic analysis of Th-C detected peptide sequences for the genus *Vibrio*, and the metagenomic analysis confirmed the presence of *Vibrio* in the massive CM-Th-C culture by 49.1% compared to 0.3% of CM-ThCp, in the lipid analysis Long and short chain fatty acids were detected in both Th-C and Th-Cp cultures. Therefore, technological applications in the bacteria-microalgae interaction is an important step in the future development of sustainable aquaculture.

Keywords: probiotic consortium, *Thalassiosira*, omics, larval culture