

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN

BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

TESIS:

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR INDEPENDIENTE Y
DEPENDIENTE DE CULTIVO DE LA MICROBIOTA
BACTERIANA Y FÚNGICA DE LA CASCARILLA DE ARROZ Y
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA**

JIMMY BREITNER LÓPEZ PÉREZ

TUMBES, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO



MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN

BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

TESIS:

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR INDEPENDIENTE Y
DEPENDIENTE DE CULTIVO DE LA MICROBIOTA
BACTERIANA Y FÚNGICA DE LA CASCARILLA DE ARROZ Y
EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA**

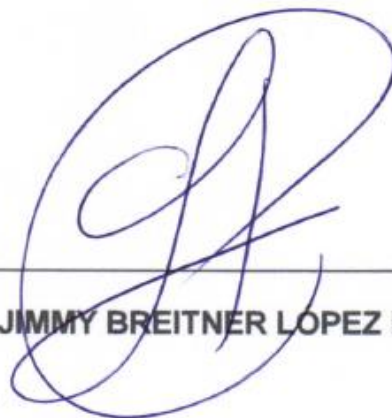
JIMMY BREITNER LÓPEZ PÉREZ

TUMBES, PERÚ

2019

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, JIMMY BREITNER LÓPEZ PÉREZ, declaro que los resultados reportados en esta tesis son producto de mi trabajo con el apoyo permitido de terceros en cuanto a su concepción y análisis. Asimismo, declaro que hasta donde sé no contiene material previamente publicado o escrito por otra persona, excepto donde se reconoce como tal a través de citas y con propósitos exclusivos de ilustración o comparación. En este sentido, afirmo que cualquier información presentada sin citar a un tercero es de mi propia autoría. Declaro, finalmente, que la redacción de esta tesis es producto de mi propio trabajo con la dirección y apoyo de mi asesor de tesis y mi jurado calificador, en cuanto a la concepción y al estilo de la presentación o a la expresión escrita.



Br. JIMMY BREITNER LOPEZ PÉREZ

ACTA DE REVISIÓN Y DEFENSA DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
Tumbes - Perú

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En Tumbes, a los diecisiete días del mes de noviembre del año dos mil dieciocho, a las 18:15 horas, en LA SALA DE SESIONES DE LA ESCUELA DE POSGRADO, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 090-2018/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Dr. José Modesto Carrillo Sarango - Secretario; Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar – Vocal y con Resolución Directoral N° 0170-2018/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Caracterización molecular independiente y dependiente de cultivo de la microbiota bacteriana y fúngica de la cascarilla de arroz y evaluación de la actividad celulolítica, presentada por el egresado del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular Br. Jimmy Breitner López Pérez, asesorado por el Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier.

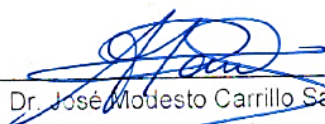
Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: SOBRESALIENTE, dando cumplimiento al Art. 29º del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 18:45 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

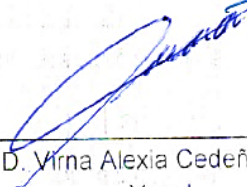
Tumbes, 17 de noviembre de 2018.



Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete
Presidente



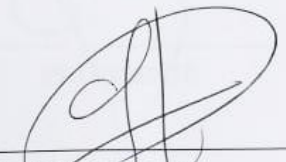
Dr. José Modesto Carrillo Sarango
Secretario



Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar
Vocal

Dr. Carlos Alberto Ortiz Novales

Br. Jimmy Breitner López Pérez



EJECUTOR

Dr. José Máximo Carillo Serrano

Ph.D. Eric Louis Mialhe Matonnier



ASESOR

Ph. D. Yvira Arocha Cedeño Escobar



ASESOR

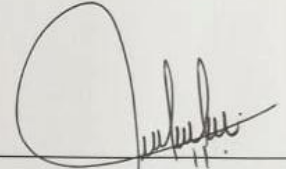
Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete


PRESIDENTE

Dr. José Modesto Carrillo Sarango


SECRETARIO

Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar


VOCAL

AFILIACIÓN INSTITUCIONAL DE LOS AUTORES

CARACTERIZACIÓN MOLECULAR INDEPENDIENTE Y DEPENDIENTE DE CULTIVO DE LA MICROBIOTA BACTERIANA Y FÚNGICA DE LA CASCARILLA DE ARROZ Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD CELULOLÍTICA

INDEPENDENT AND CULTURE-DEPENDENT MOLECULAR CHARACTERIZATION OF THE BACTERIAL AND FUNGAL MICROBIOTA OF RICE HUSK AND EVALUATION OF CELLULOLYTIC ACTIVITY

Jimmy López Pérez ^{1*}, Melitza Cornejo La Torre ² y Eric Mialhe Matonnier ³

1 Universidad Nacional de Tumbes. Escuela de postgrado. Tumbes, Perú.

2 Biotecoop. Departamento de biotecnología ambiental. Tumbes, Perú.

3 INCABIOTEC S.A.C. Tumbes, Perú.

*Autor para correspondencia

Email Jimmy López Pérez: jimmylopez128@gmail.com

Email Melitza Cornejo La Torre: melitzacornejo01@gmail.com

Email Eric Mialhe Matonnier: ericmialhe@yahoo.fr

Información sobre los autores

JL, MC y EM diseñaron el estudio. JL y MC recolectaron las muestras. MC y EM asesoraron con el análisis de datos y metodología en laboratorio. JL realizó las pruebas de laboratorio, análisis bioinformático y la redacción del trabajo. JL, MC y EM revisaron y aprobaron el manuscrito.

Los autores no incurren en conflictos de intereses.

Financiamiento

El presente estudio fue posible gracias al financiamiento del programa de maestría en biotecnología molecular, convenio N° 000190-2015-FONDECYT y de la Universidad Nacional de Tumbes.

RESUMEN

La cascarilla de arroz es uno de los subproductos agrícolas más abundantes en el Perú y en el mundo; sin embargo, a pesar de su abundancia y composición, gran parte es quemada y dejada en vertederos generando contaminación y la necesidad de brindarle un mejor uso. En este estudio se caracterizó molecularmente la microbiota bacteriana y fúngica de muestras de cascarilla seca de arroz (CSA), cascarilla en descomposición de arroz (CDA) y suelo de pilas de cascarilla de arroz (SPCA) a nivel de filo, clase, orden, familia y género mediante método independiente de cultivo. Los géneros bacterianos *Sphingomonas* (13.1 %), *Streptomyces* (15.1 %), *Dokdonella* (10.1 %) y los géneros fúngicos *Curvularia* (16.5 %), *Tritirachium* (26.7 %), *Fibulochlamys* (20.4 %) fueron los más abundantes en las muestras de CSA, CDA y SPCA, respectivamente. Mediante método dependiente de cultivo, se aislaron 46 cepas bacterianas (géneros *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Kosakonia*, *Lysinibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Raoultella* y *Staphylococcus*) y 36 hongos filamentosos (géneros *Aspergillus*, *Hypoxylon*, *Lichtheimia*, *Microdochium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sarocladium* y *Trichoderma*) a partir de CSA, CDA y SPCA. También se evaluaron las actividades β -glucosidasa, endoglucanasa, exoglucanasa y degradación de cascarilla de arroz molido, donde las bacterias *Pantoea dispersa* BCS11, BSP21, *Pantoea dispersa* BCD07y BSP24, obtuvieron los mayores índices de actividad enzimática (IAE), respectivamente. Los hongos HSP03, HSP04 y *Sarocladium oryzae* HCD13 obtuvieron los mayores IAE en las tres últimas actividades, respectivamente. Este estudio presenta una descripción detallada de la microbiota bacteriana y fúngica de muestras de cascarilla de arroz y de suelo, y cuales tienen el potencial de degradar este subproducto y la celulosa.

Palabras clave: actividad celulolítica, ARNr16S, cascarilla de arroz, metagenómica, región ITS.

ABSTRACT

Rice husk is one of the most abundant agricultural by-products in Peru and in the world; however, despite its abundance and composition, much of it is burned and left in landfills generating pollution and the need to provide better use. In this study, the bacterial and fungal microbiota of dry rice husk (DrRH), decaying rice husk (DRH) and rice husk piles soil (RHPS) were molecularly characterized at the phylum, class, order, family and genus level by means of culture-independent method. The bacterial genera *Sphingomonas* (13.1 %), *Streptomyces* (15.1 %), *Dokdonella* (10.1 %) and the fungal genera *Curvularia* (16.5 %), *Tritirachium* (26.7 %), *Fibulochlamys* (20.4 %) were the most abundant in DrRH, DRH and RHPS samples, respectively. By culture-dependent method, 46 bacterial strains (genera *Acinetobacter*, *Enterobacter*, *Kosakonia*, *Lysinibacillus*, *Pantoea*, *Pseudomonas*, *Raoultella* and *Staphylococcus*) and 36 filamentous fungi (genera *Aspergillus*, *Hypoxylon*, *Lichtheimia*, *Microdochium*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Sarocladium* and *Trichoderma*) were isolated from DrRH, DRH and RHPS. The β -glucosidase, endoglucanase, exoglucanase and rice husk milled degradation activities were also evaluated, where the bacteria *Pantoea dispersa* BCS11, BSP21, *Pantoea dispersa* BCD07 and BSP24, obtained the highest enzymatic activity index (EAI), respectively. Fungi HSP03, HSP04 and *Sarocladium oryzae* HCD13 obtained the highest EAI in the last three activities, respectively. This study presents a detailed description of the bacterial and fungal microbiota of rice husk and soil samples, and which have the potential to degrade this byproduct and cellulose.

Keywords: cellulolytic activity, 16S rRNA, rice husk, metagenomic; ITS region.