

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO



TESIS DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN:

BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR

TESIS:

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR ÓMICA DE UNA CEPA
DE *Bacillus amyloliquefaciens* AISLADA DE LA
MICROBIOTA DEL PAICHE *Arapaima gigas* CON
ACTIVIDAD ANTAGONISTA CONTRA BACTERIAS
PATÓGENAS DE PECES**

Br. MANUEL ALBERTO FERIA ZEVALLOS

TUMBES, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO



**TESIS DE MAESTRO EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
BIOTECNOLOGIA MOLECULAR**

TESIS:

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR ÓMICA DE UNA CEPA
DE *Bacillus amyloliquefaciens* AISLADA DE LA
MICROBIOTA DEL PAICHE *Arapaima gigas* CON
ACTIVIDAD ANTAGONISTA CONTRA BACTERIAS
PATÓGENAS DE PECES**

Br. MANUEL ALBERTO FERIA ZEVALLOS

TUMBES, PERÚ

2019

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, MANUEL ALBERTO FERIA ZEVALLOS, 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 (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 mi propia autoría. 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.



Br. Manuel Alberto Feria Zevallos

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 diecinueve días del mes de octubre del año dos mil dieciocho, a las 08:00 horas, en el auditorio de la Escuela de Posgrado, Ciudad Universitaria se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 085-2018/UNTUMBES-EPG-D; Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila - Presidente; Mg. Jorge Humberto Carrasco Casariego - Secretario; M. Sc. Juan Gerardo Quimi Mujica – Vocal y con Resolución Directoral N° 0141-2018/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Caracterización molecular ómica de una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* aislada de la microbiota del paiche *Arapaima gigas* con actividad antagonista contra bacterias patógenas de peces, presentada por el egresado del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular Br. Manuel Alberto Feria Zevallos, asesorado por la Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar.

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 09:10 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

Tumbes, 19 de octubre de 2018.

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila
Presidente

Mg. Jorge Humberto Carrasco Casariego
Secretario

M. Sc. Juan Gerardo Quimi Mujica
Vocal

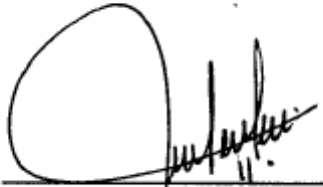
RESPONSABLES

Br. Manuel Alberto Fera Zevallos



EJECUTOR

Ph. D. Vima Alexia Cedeño Escobar



ASESOR

JURADO DICTAMINADOR

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila



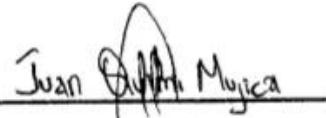
PRESIDENTE

Mg. Jorge Humberto Carrasco Casariego



SECRETARIO

Mg. Juan Gerardo Quimi Mujica



VOCAL

AFILIACIÓN INSTITUCIONAL DE LOS AUTORES

Caracterización molecular ómica de una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* aislada de la microbiota del paiche *Arapaima gigas* con actividad antagonista contra bacterias patógenas de peces

Omic molecular characterization of a *Bacillus amyloliquefaciens* strain isolated from the paiche *Arapaima gigas* microbiota with antagonistic activity against fish pathogenic bacteria

Manuel Feria¹, Arnaldo Castañeda¹, Odalis Toledo¹, Deysy Castillo³ Mario Cueva³, Virna Cedeño⁴

¹Programa de maestría de Ciencia Activa en Biotecnología Molecular. Universidad Nacional de Tumbes – Incabiotec SAC. Tumbes, Perú.

² Instituto de Investigación Inca'Biotech S.A.C Jr Filipinas N°212, Tumbes-Perú.

³ Cooperativa de Trabajadores BioteCoop Jr Filipinas N°212, Tumbes-Perú.

⁴ Concepto Azul, Circunvalación Norte 528B y Estero Salado, Urdesa Norte, Guayaquil-Ecuador

Autor Correspondencia: Manuel Feria-Zevallos

e-mail: manulfzevallos@gmail.com

Los autores declaran que no presentan conflicto de intereses.

Este Proyecto de investigación fue financiado por la empresa Incabiotec SAC, el programa de becas Ciencia Activa del CONCYTEC y la Universidad Nacional de Tumbes a través del convenio de gestión N° 000190-2015-FONDECYT-DE.

RESUMEN

En esta investigación se analizó mediante el uso de herramientas moleculares como PCR y espectrometría de masas-MALDI TOF/TOF, las características de una cepa de *Bacillus amyloliquefaciens* aislada del intestino de *Arapaima gigas*, que fue seleccionada por su capacidad para generar inhibición de múltiples bacterias patógenas de peces. Los resultados mostraron a través de PCR que esta cepa bacteriana cuenta con genes claves para la generación de péptidos antimicrobianos como bmyB (bacillomycin L synthetase B), fenD (fengycin sintetasa), srfAA (subunidad 1 surfactin sintetasa), bacA (proteína de biosíntesis de bacilysin) e iturin (iturin A). Además, mediante el análisis por espectrometría de masas, se pudo detectar bacteriocinas (plipastatin, gramicidin, fengycin, surfactin), proteínas de fijación al intestino (like-enolase), proteínas transportadoras de péptidos antimicrobianos (ABC-transporters), proteínas de estimulación del sistema inmunitario como flagelin; así también se detectaron proteínas tipo collagenasas, chitinasas, y xilosa-isomerasas que contribuyen con el proceso de digestión y asimilación. Todos estos resultados permiten considerar los múltiples beneficios de esta cepa para ser utilizada como probiótico en el cultivo de peces.

Palabras clave: *Bacillus amyloliquefaciens*, MALDI TOF, probióticos, *Arapaima gigas*

ABSTRACT

In this research we have analyzed, using molecular tools such as PCR and mass spectrometry - MALDI TOF / TOF, the characteristics of a strain of *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the intestine of *Arapaima gigas*, which was selected for its ability to generate inhibition of multiple bacteria Pathogenic fish. The results showed through PCR that this bacterial strain has key genes for the generation of antimicrobial peptides such as bmyB (bacillomycin L synthetase B), fenD (fengycin synthetase), srfAA (subunit 1 surfactin synthetase), bacA (protein biosynthesis of bacilysin) and iturin (iturin A). In addition, through mass spectrometry analysis, we were able to detect bacteriocins (plipastatin, gramicidin, fengycin, surfactin), intestine binding proteins (like-enolase), antimicrobial peptide transport proteins (ABC-transporters), protein stimulation of the system immune like flagellin; and also collagenases, chitinases, and xylose-isomerases proteins that contribute to the digestion and assimilation process were detected. All these results allow us to consider the multiple benefits of this strain to be used as a probiotic in fish culture.

Key words: *Bacillus amyloliquefaciens*, MALDI TOF, probiotic, *Arapaima gigas*