



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**ESCUELA DE POSGRADO**

**TESIS DE MAESTRO EN**  
**BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA MICROBIOTA**  
**ASOCIADA A LA SANGRE Y GÓNADAS DE LA CONCHA**  
**NEGRA *Anadara tuberculosa***

**KARINA YESENIA ZAPATA VIDAURRE**

**TUMBES, PERÚ**

**2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**

**ESCUELA DE POSGRADO**



**TESIS DE MAESTRO EN**

**BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR**

**CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA MICROBIOTA  
ASOCIADA A LA SANGRE Y GÓNADAS DE LA CONCHA  
NEGRA *Anadara tuberculosa***

**KARINA YESENIA ZAPATA VIDAURRE**

**TUMBES, PERÚ**

**2017**

## **DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD**

Yo KARINA YESENIA ZAPATA VIDAURRE 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.

KARINA YESENIA ZAPATA VIDAURRE

## ACTA DE REVISIÓN Y DEFENSA DE TESIS

En Tumbes, a los 27 días del mes de julio del dos mil diecisiete, a las 15:00 horas, en la sala de sesiones de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, se reunieron los miembros del Jurado designados con Resolución Directoral N° 004-2017/UNT-EPG-D:

En mérito al Acta de Revisión de Informe Final de Tesis, en la cual se fijó la fecha de sustentación y defensa del informe final de tesis de maestría, denominado **CARACTERIZACIÓN MOLECULAR DE LA MICROBIOTA ASOCIADA A LA SANGRE Y GÓNADAS DE LA CONCHA NEGRA *Anadara tuberculosa***; presentado por la estudiante del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular, **KARINA YESENIA ZAPATA VIDAURRE**, asesorada (o) por el Dr. **BENOIT DIRINGER**.

Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran Aprobada por Mayoría, 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 18:30 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 27 de julio de 2017

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila

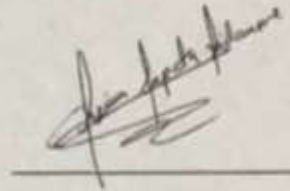
Presidente

Ph.D. Eric Louis Mialhe

Vicepresidente

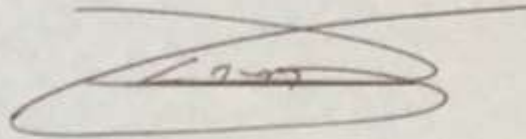
## RESPONSABLES

Bach. Karina Yesenia Zapata Vidaurre



EJECUTORA

M. Sc. Benoit Diringer



ASESOR

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila



PRESIDENTE

Dr. Cesar Arturo Mantilla Ávalos

SECRETARIO

Dr. Eric Mialhe Matonnier



## RESUMEN

La concha negra *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1833) es una especie emblemática del ecosistema manglar de Latinoamérica occidental y su extracción es de alta importancia económica y social. El reciente desarrollo de su acuicultura requiere caracterizar su microbiota para desarrollar estrategias de prevención de bacteriosis y mejorar su productividad. En este estudio, se ha analizado la microbiota bacteriana nativa presente en muestras de sangre y gónadas extraídas de adultos sanos recolectados a tres meses de intervalo mediante técnicas independiente y dependiente de cultivo. Además, se exploró el potencial probiótico y patógeno de la flora cultivable mediante técnicas de microbiología clásica y de co-cultivo soportado por caracterización molecular. Los análisis taxonómicos dirigidos al gen 16S ARNr de las bacterias presentes en la sangre y gónadas revelaron una importante diversidad microbiana, siendo esta más elevada en sangre que en gónadas. El filo Proteobacteria (56,3%) y la clase Gammaproteobacteria (35,1%) predominaron entre ambas muestras, con una mayor representatividad de géneros pocos comunes como *Rubritepida*, *Proteus*, *Keistobacter*, *Mycoplasma*, y géneros clásicos como *Pseudomonas* y *Vibrio*. Varios de los géneros con mayor representatividad mostraron fluctuaciones en el tiempo, mientras que géneros más discretos como *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Actinomyces* o *Corynebacterium* fueron encontrados en todas las muestras en ambos muestreos y fueron considerados como microbiota núcleo. Dentro de las 13 cepas aisladas de gónadas, *Vibrio* fue el más prevalente, seguido por *Bacillus*, *Enterobacter* y *Staphylococcus*. A partir de estas cepas se pudo seleccionar *in vitro* un *Bacillus* nativo antagónico frente a cepas patogénicas de *Pseudomonas* y *Vibrio* mientras que el co-cultivo de bacterias asociadas a las gónadas favoreció la multiplicación de *Vibrio* descartando así su uso como posible probiótico. Finalmente, la presencia de bacterias quimio-autotróficas (*Rubritepida*, *Proteus*, *Keistobacter*) en muestras de sangre y gónadas permite sugerir la continuación de la investigación sobre la simbiosis de este bivalvo con bacterias sulfato-oxidantes.

**Palabras clave:** metagenómica, bacteriosis, bivalvo, co-cultivo, manglar

## ABSTRACT

The pustulose ark *Anadara tuberculosa* (Sowerby 1833) is an emblematic species of the mangrove ecosystem of western Latin America and its extraction is of high economic and social importance. The recent development of its aquaculture requires characterizing its microbiota to develop strategies to prevent bacteriosis and improve its productivity. In this study, we analyzed the native bacterial microbiota present in blood samples and gonads extracted from healthy adults collected at three months intervals using independent and culture-dependent techniques. In addition, we explore the probiotic and pathogenic potential of the cultivable flora through techniques of classic microbiology and co-culture supported by the molecular characterization. 16S rRNA targeted metagenomic analyzes of blood and gonads revealed an important microbial diversity, being higher in bloods than in gonads. The proteobacteria phylum (56,3%) and the Gammaproteobacteria class (35,1%) predominated between both samples, with a greater representativeness of uncommon genera such as *Rubritepida*, *Proteus*, *Keistobacter*, *Mycoplasma*, and more classic genera such as *Pseudomonas* and *Vibrio*. Several of the genera with greater representativity showed fluctuations over time, whereas more discrete genera like *Vibrio*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Actinomyces* or *Corynebacterium* were found in all the samples in both sampling and are considered as core microbiota. Within the 13 isolated strains of gonads, *Vibrio* was the most prevalent, followed by *Bacillus*, *Enterobacter*, and *Staphylococcus*. From these strains, an antagonistic native *Bacillus* could be selected *in vitro* against pathogenic *Pseudomonas* and *Vibrio* strains whereas the co-culture of bacteria associated with the gonads favors the multiplication of *Vibrio* thus discarding its use as a possible probiotic. Finally, the presence of chemo-autotrophic bacteria in blood and gonad samples allows us to suggest the continuation of the research on the symbiosis of this bivalve with sulphate-oxidising bacteria.

Keywords: metagenomic, bacteriosis, bivalve, co-cultivation, mangrove