



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Ciencias Biológicas

Unidad de Posgrado

**Caracterización molecular de bacterias patógenas
causantes de enfermedades en cultivo de tilapia
Oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758) en un sistema
intensivo en el departamento de Lima**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Doctor en Ciencias Biológicas

AUTOR

Verónica Anamaría SIERRALTA CHICHIZOLA

ASESOR

Dra. Egma Marcelina MAYTA HUATUCO

Lima, Perú

2019

RESUMEN

Las enfermedades bacterianas que afectan el cultivo de tilapia durante las distintas etapas productivas acuícolas pueden disminuir la producción y por ende provocar sustanciales pérdidas económicas.

El objetivo fue caracterizar molecularmente las bacterias patógenas causantes de enfermedades en cultivo intensivo cerrado de tilapia *Oreochromis niloticus* con sistema Biofloc de una piscigranja del departamento de Lima durante los años 2013, 2014 y 2015.

Se aislaron 28 cepas bacterianas de órganos internos, siendo identificadas bioquímicamente por técnicas habituales y el uso de sistemas miniaturizados API 20 E y NE. Las pruebas de sensibilidad antimicrobiana se realizaron empleando el método de Kirby-Bauer. La confirmación diagnóstica se determinó por la Reacción en Cadena de Polimerasa (PCR) y secuenciamiento del gen 16S ARNr.

Se logró identificar y caracterizar molecularmente las cepas bacterianas siguientes: *Edwardsiella tarda* en número de seis (6), *Citrobacter freundii* (2), *Aeromonas caviae* (5), *V. cholerae* (1), *Vibrio alginolyticus* (1), *Plesiomonas shigelloides* (5), *Shewanella algae* (5) y *S. putrefaciens* (1). Se determinó el perfil filogenético de ocho especies bacterianas, las cuales se encuentran en su respectivo clado. El 100% de las cepas de *E. tarda*, *V. alginolyticus* y *V. cholerae* fueron sensibles a la totalidad de antibióticos evaluados. Algunas bacterias presentaron resistencia a oxitetraciclina y ácido nalidíxico como *C. freundii* (50%), *P. shigelloides* (80 y 60%), *S. putrefaciens* (100%) y *A. caviae* (40 y 60%).

Los signos externos frecuentemente observados en peces de las fases de crecimiento y comercial fueron: eritema en aletas pectorales, vientre y alrededor del ano, siendo provocados por *E. tarda*, *C. freundii*, *P. shigelloides*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *S. putrefaciens*, *S. algae* y *A. caviae*. Entre los signos internos se presentó el hígado congestivo cuyos agentes causales fueron *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *S. putrefaciens* y *A. caviae*.

El estudio histopatológico reveló necrosis caseosa en el ventrículo cardiaco, hígado, bazo, riñón posterior y gónadas de peces afectados por *E. tarda*. En ejemplares sintomáticos, de los cuales se aislaron *P. shigelloides* y *A. caviae* se observaron lesiones en el tracto gastrointestinal. Asimismo, en individuos

afectados por *S. putrefaciens*, *S. algae* y *V. alginolyticus* se apreció congestión de capilares sinusoides y necrosis de hepatocitos.

Existe una gran diversidad de géneros bacterianos que afectan a las tilapias bajo sistema biofloc durante la fase productiva de crecimiento y comercial.

Palabras clave: Bacterias, PCR, filogenia, sensibilidad antibiótica, histopatología, tilapia.

ABSTRACT

Bacterial diseases affect tilapia culture during different productive stages, which decrease the production and thus cause substantial economic losses.

The aim of the present study was the molecular characterization of bacterial pathogens that cause diseases on intensive tilapia culture *Oreochromis niloticus* in closed water flow with biofloc system in a fish farm from Lima region during the years 2013, 2014 and 2015.

From the cultivation of internal organs, 28 bacterial strains were isolated and characterized by usual methods as biochemical tests and miniaturized systems like API 20E and NE. The antibiotic sensitivity assays were performed using the Kirby - Bauer technique. The bacterial identification were confirmed by Polymerase Chain Reaction (PCR) and 16S ARNr gene sequencing.

Strains of *Edwardsiella tarda* (6), *Citrobacter freundii* (2), *Aeromonas caviae* (5), *Vibrio cholerae* (1), *V. alginolyticus* (1) *Plesiomonas shigelloides* (5), *Shewanella algae* (5), *S. putrefaciens* (1) were identified and molecularly characterized.

The phylogenetic profile was determine with 8 bacterial species, which are found in their respective clade. 100% of strains of *E. tarda*, *V. alginolyticus* and *V. cholerae* were sensitive to the total of the antibiotics evaluated. Some bacterias showed resistance to oxitetracycline and nalidixic acid such as *C. freundii* (50%), *P. shigelloides* (80 ad 60%), *S. putrefaciens* (100%) and *A. caviae* (40 and 60%).

The most common external sign in fishes of pre-fattening and fattening phase was: erythema in pectoral fins, belly and around the anus, provoked by *E. tarda*, *C. freundii*, *P. shigelloides*, *V. alginolyticus*, *V. cholerae*, *S. putrefaciens*, *S. algae* and *A. caviae*.

The histopathology study revealed caseous necrosis on the cardiac ventricle, liver, spleen, kidney and gonads of sick fishes by *E. tarda*. In symptomatic specimens where *P. shigelloides* and *A. caviae* were isolated, injuries in the gastrointestinal were observed. Also, sinusoid capillaries and hepatocytes necrosis, was evidenced in affected specimens by *S. putrefaciens*, *S. algae* and *V. alginolyticus*.

There is a great diversity of bacterial genera, which affect tilapias in biofloc system during pre-fattening and fattening productive phase.

Keywords: Bacterias, PCR, phylogeny, antibiotic sensitivity, histopathology, tilapia.