

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

**MAESTRÍA EN CIENCIA CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA
MOLECULAR**



**Análisis metagenómico para la identificación de marcadores
moleculares en genes de interés y el microbioma intestinal
mediante dietas basadas en salicornia y cactus en *Capra hircus*.**

TESIS

**Para optar el grado académico de Maestra en ciencias con
mención en:
Biotecnología Molecular**

Autora: Bach. Gabriela Raquel Sucapuca Santos

Tumbes, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIA CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Análisis metagenómico para la identificación de marcadores moleculares en genes de interés y el microbioma intestinal mediante dietas basadas en salicornia y cactus en *Capra hircus*

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Deza Navarrete, Carlos Alberto (Presidente)

Dr. Sánchez Suarez, Héctor Alfredo. (Miembro)

PhD. Cedeño Escobar, Virna Alexia (Miembro)

Tumbes, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIA CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Análisis metagenómico para la identificación de marcadores moleculares en genes de interés y el microbioma intestinal mediante dietas basadas en salicornia y cactus en *Capra hircus*.

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

Bach. Sucapuca Santos Gabriela Raquel (Autora)

Ph.D. Mialhe Matonnier, Eric Louis (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 veintisiete días del mes de febrero del año dos mil veinte, a las 16.30 horas, en AULA 1 DE LA ESCUELA DE POSGRADO DE LA UNTUMBES, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 042-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Dr. Héctor Alfredo Sánchez Suarez - Secretario; Ph.D Virna Alexia Cedeño Escobar – Vocal y con Resolución Directoral N° 037-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: **Análisis matagenómico para la identificación de marcadores moleculares en genes de interés y el microbioma intestinal mediante dietas basadas en salicornia y cactus en *Capra hircus***, presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Gabriela Raquel Sucapuca Santos, asesorada 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. 29° del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 17.10 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

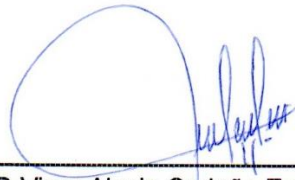
Tumbes, 27 de febrero de 2020.



Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete
Presidente



Dr. Héctor Alfredo Sánchez Suarez
Secretario



Ph.D Virna Alexia Cedeño Escobar
Vocal

DEDICATORIA

A mi Madre Antolina Juliana Santos Cornelio, por su comprensión, paciencia y confianza, en todos estos años, gracias a ella eh logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Ha sido un orgullo y privilegio de ser su hija, es la mejor madre.

A mi querido esposo Cesar Augusto Solano Curay, por su gran apoyo incondicional durante este periodo y porque nunca dejo de creer en mí, siempre serás mi inspiración; a mi Hermosa hija; Karely Gabriela Solano Sucapuca; ya que se ha convertido en mi motor y motivo para seguir cumpliendo mis metas.

A mis hermanas; Olivia, Esther, Edith, Beatriz, Gladys y hermano; Luis Carlos por su apoyo, amor y comprensión en todo momento de mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por bendecirme y guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

Mi agradecimiento al financiamiento de CONCYTEC mediante FONDECYT- , por darme esta gran oportunidad de fortalecer y enriquecer mis conocimientos y así cumplir una de mis metas.

Al equipo de Inca' Biotec SAC. (Eric Mialhe, Virna Cedeño, Emmerik Motte, Cesar Chanta, Pedro Masías, Jesica Infante, Yessica Alvarado), por todo su apoyo brindado para que esta investigación sea posible de realizar.

Mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Tumbes

Al Instituto Superior Tecnológico Público 24 de Julio y al PINIA por confiar y hacer posible esta investigación

A Fredy Fabián, por ser mi guía e inspiración durante toda esta etapa; y al equipo veterinaria: Vannesa Baylon, Lourdes Vasques, Milly Vega, Rosa Morocho e Ivan Alama por su constante apoyo.

RESUMEN

La metagenómica es una nueva tecnología de la ciencia del sistema ómico, además tiene amplias aplicaciones. El objetivo de este estudio es identificar el polimorfismo de nucleótido simple (SNP) en el gen cárnico, Diacylglycerol Acyltransferase (DGATP), gen responsable de la conformidad cárnica en caprinos. Por otro lado, la identificación del microbioma intestinal de cabras y cabritos alimentados con dietas basadas en salicornia y cactus; utilizando la técnica de Secuenciación de próxima generación(NGS). El primer componente se trabajó con 70 animales, las muestras de sangre fueron tomadas de la vena yugular posteriormente se realizó la extracción de ADN, seguido de la reacción en cadena de la polimerasa con primers específicos para el gen DGATP; luego el NGS para la identificación de SPNs, utilizando la plataforma online CRISPRESSO 2. El segundo componente se trabajó con tres tratamientos, cada uno conformado por dos animales (cabra y cabrito); estos fueron alimentados 30 días con cactus, salicornia y alimento tradicional, se realizó la extracción del ADN metagenómico a partir de muestras de heces, utilizando el kit Quick-DNA TM Fecal/Soil Microbe Miniprep. La secuencia NGS fue procesada con el software bioinformático QIIME versión 1.9.1. Lográndose identificar 13 lecturas con variación A/G en la secuencia CCC**AG**GAA en hembras y 24 lecturas con la misma variación en machos. Por otra parte en el análisis metagenómico de la microbiota intestinal se logró identificar a nivel de *Phylum* a *Firmicutes*, y a nivel de Orden *Clostridiales* con una abundancia de 62.5% y 60.8% respectivamente en cabritos alimentados con cactus; a nivel de Genero *Ruminococcaceae* en cabras alimentados con salicornia. Nuestros resultados indican que la técnica NGS, es una alternativa para identificación de SNP, así como también la caracterización taxonómica y funcional de las comunidades microbianas en la ganadería caprina.

Palabras clave: Secuenciación de próxima generación, polimorfismo nucleotido único, Diacylglycerol Acyltransferase, microbiota.

ABSTRACT

Metagenomics is a new technology of the science of the omic system, it also has wide applications. The aim of this study is to identify the simple nucleotide polymorphism (SNP) in the meat gene, Diacylglycerol Acyltransferase (DGATP), gene responsible for meat compliance in goats. On the other hand, the identification of the intestinal myriobioma of goats and kids fed diets based on salicornia and cacti; using the next generation sequencing technique (NGS). The first component was worked with 70 animals, blood samples were taken from the jugular vein, DNA was subsequently extracted, followed by polymerase chain reaction with specific primers for the DGATP gene; then the NGS for the identification of SPNs, using the CRISPRESSO 2 online platform. The second component worked with three treatments, each consisting of two animals (goat and kid); these were fed 30 days with cactus, salicornia and traditional food, the extraction of the metagenomic DNA from stool samples was performed, using the Quick-DNA™ Fecal / Soil Microbe Miniprep kit. The NGS sequence was processed with the QIIME bioinformatic software version 1.9.1. Being able to identify 13 readings with A / G variation in the CCCAGGAA sequence in females and 24 readings with the same variation in males. On the other hand, in the metagenomic analysis of the intestinal microbiota it was possible to identify at the Phylum level Firmicutes, and at the level of the Clostridial Order with an abundance of 62.5% and 60.8% respectively in cacti-fed kids; at the level of Genus Ruminococcaceae in goats fed with salicornia. Our results indicate that the NGS technique is an alternative for the identification of SNPs, as well as the taxonomic and functional characterization of microbial communities in goats.

Keywords: Next generation sequencing, single nucleotide polymorphism, Diacylglycerol Acyltransferase, microbiota.