

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO



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

**CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA BACTERIANA
BASADA EN EL SECUENCIAMIENTO DE PRÓXIMA
GENERACIÓN DE METAGENOMA DIRIGIDO AL GEN 16S
ADNr Y MÉTODO CULTIVO DEPENDIENTE DE DIFERENTES
ÓRGANOS Y ESTADIOS DE *Aedes aegypti***

Br. OMAR GREGORY MELO CALERO

TUMBES, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO



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

**CARACTERIZACIÓN DE LA MICROBIOTA BACTERIANA
BASADA EN EL SECUENCIAMIENTO DE PRÓXIMA
GENERACIÓN DE METAGENOMA DIRIGIDO AL GEN 16S
ADNr Y MÉTODO CULTIVO DEPENDIENTE DE DIFERENTES
ÓRGANOS Y ESTADIOS DE *Aedes aegypti***

Br. OMAR GREGORY MELO CALERO

TUMBES, PERÚ

2019

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, OMAR GREGORY MELO CALERO, 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. Omar Gregory Melo Calero

ACTA DE REVISIÓN Y DEFENSA DE TESIS



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES
ESCUELA DE POSGRADO
Tumbes - Perú

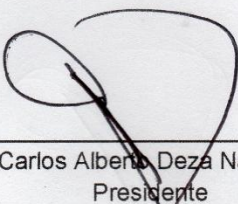
ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En Tumbes, a los diecisiete días del mes de noviembre del año dos mil dieciocho, a las 18:55 horas, en LA SALA DE SESIONES DE LA ESCUELA DE POSGRADO, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 084-2018/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Mg. Pedro Gonzalo Labán Labán - Secretario; Ph. D. Emmerik Motte Darricau – Vocal y con Resolución Directoral N° 0173-2018/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Caracterización de la microbiota bacteriana basada en el secuenciamiento de próxima generación de metagenoma dirigido al gen 16s ADNr y método cultivo dependiente de diferentes órganos y estadios de *Aedes aegypti*, presentada por el egresado del Programa de Maestría en Biotecnología Molecular Br. Omar Gregory Melo Calero, asesorado por el Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier.

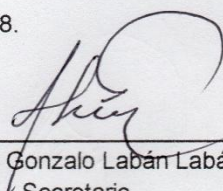
Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: SOBRESALIENTE, dando cumplimiento al Art. 29° del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 19:31 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



Mg. Pedro Gonzalo Labán Labán
Secretario



Ph. D. Emmerik Motte Darricau
Vocal

RESPONSABLES

Br. Omar Gregory Melo Calero

EJECUTOR

Ph. D. Eric Louis MialheMatonnier

ASESOR

JURADO DICTAMINADOR

Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete

PRESIDENTE

Mg. Pedro Gonzalo LabánLabán

SECRETARIO

Ph. D. EmmerikMotteDarricau_____

VOCAL

AFILIACIÓN INSTITUCIONAL DE LOS AUTORES

Caracterización de la microbiota bacteriana basada en el secuenciamiento de próxima generación de metagenoma dirigido al gen 16S ADNr y método cultivo dependiente de diferentes órganos y estadios de *Aedes aegypti*.

Characterization of bacterial microbiota using next-generation sequencing of metagenome targeting the 16S rDNA gene and culture-dependent method of different organs and stages of *Aedes aegypti*.

Omar Gregory Melo Calero^{1*}, Max Salvatierra Alor², Louis Mialhe Matonnier³.

¹ Universidad Nacional de Tumbes, Tumbes, Perú.

² Cooperativa de trabajadores BIOTECOOP, Tumbes, Perú.

³ INCA BIOTEC S.A.C, Tumbes, Perú.

*Autor para correspondencia

Email Omar Gregory Melo Calero: omar.melo.calero@gmail.com

Email Max Salvatierra Alor: maxsa1002@gmail.com

Email Eric Louis MialheMatonnier: ericmialhe@yahoo.fr

Los autores declaran que no presentan conflicto de intereses.

Proyecto de investigación fue financiado por la empresa INCA BIOTEC SAC, el programa de maestría en Biotecnología Molecular, convenio N° 000190-2015-FONDECYT DE y de la Universidad Nacional de Tumbes.

RESUMEN

Aedes aegypti es un zancudo vector transmisor de los virus dengue, chikungunya y zika, todos ellos de preocupación mundial. La caracterización de la composición de la microbiota asociada al zancudo es importante por su implicancia en varios aspectos biológicos del vector, como la sensibilidad a infecciones virales, pudiéndose usar a estos microorganismos como método alternativo de control del vector. En el presente estudio se caracterizó la microbiota presente en el intestino medio de larvas silvestres y de criadero, así como intestino medio y ovarios de hembras adultas alimentadas con sangre mediante el uso de la metagenómica. También se aislaron bacterias con un método cultivo dependiente usando medio BHI. Los intestinos medio de larvas silvestres y de criadero presentaron mayormente las clases *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria* y *Gammaproteobacteria*, mientras que los intestinos medio y ovarios de hembras adultas presentaron mayormente las clases *Betaproteobacteria* y *Bacilli*, respectivamente. Se encontró una posible microbiota núcleo conformada por los géneros *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Stenotrophomonas* y *Bacillus*. Mientras que por el método cultivo dependiente se aisló la especie *Chryseobacterium cucumeris*. Se concluyó que estructura de las comunidades microbianas presente en los órganos de *Aedes aegypti* estaban asociadas a la localidad y estadio de vida.

Palabras clave: Diversidad microbiana, estructura microbiana, microbiota núcleo.

ABSTRACT

Aedes aegypti is a mosquito vector of dengue, chikungunya and zika viruses, all of world concern. The characterization of the composition of the microbiota associated with the mosquito is relevant because the microbiota is involved in several biological aspects of the vector, such as the sensitivity to viral infections, being able to use these microorganisms as an alternative method of vector control. In the present study, the microbiota present in the midgut of wild and hatchery larvae was characterized, as well as the midgut and ovaries of adult females fed with blood, by metagenomics analysis. Bacteria were also isolated with a culture dependent method using BHI medium. Wild and hatchery larvae midguts presented mainly the classes *Alphaproteobacteria*, *Actinobacteria* and *Gammaproteobacteria*, whereas the midguts and ovaries of adult females presented mostly the classes *Betaproteobacteria* and *Bacilli*, respectively. A possible core microbiota was found, comprising the genera *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Chryseobacterium*, *Stenotrophomonas* and *Bacillus*. While *Chryseobacterium cucumeris* was isolated by culture-dependent method. It was concluded that structure of the microbial communities present in the organs of *Aedes aegypti* were associated to the locality and life stage.

Keywords: Microbial diversity, microbial structure, core microbiota.