

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Identificación molecular de la nutria de río (*Lontra longicaudis* - Sub familia: Lutrinae) y caracterización metagenómica/metaproteómica de su microbiota fecal y dieta en la Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes-Manglares.

TESIS

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

AUTOR: Br. LAURA YADDIRA SANJINEZ NOBLECILLA

TUMBES, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Identificación molecular de la nutria de río (*Lontra longicaudis* - Sub familia: Lutrinae) y caracterización metagenómica/metaproteómica de su microbiota fecal y dieta en la Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes-Manglares.

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Saldarriaga Yacila David Edilberto:
(Presidente)

Dr. Malca Acuña Leocadio :
(Secretario)

Ph. D. Emmerik Motte Darricau :
(Vocal)

TUMBES, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Identificación molecular de la nutria de río (*Lontra longicaudis* - Sub familia: Lutrinae) y caracterización metagenómica/metaproteómica de su microbiota fecal y dieta en la Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes-Manglares.

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

Br. Sanjinez Noblecilla Laura Yaddira:

(Autora)

Ph. D. Cedeño Escobar Virna Alexia :

(Asesora)

Ph. D. Mialhe Matonnier Eric Louis :

(Co asesor)

TUMBES, 2020

DEDICATORIA

A mi madre, por ella y para ella cada logro y esfuerzo tanto en mi vida personal como profesional, por ser la persona más preciada en mi vida.

A mi hermano, a Arturito y a mis abuelos Arturo y Yolanda por ser el motivo que impulsan mi vida.

A Luis Aldo por todo el amor, cariño y comprensión, el respeto mutuo y el apoyo incondicional, por ser mi compañero de ciencia y de amor.

AGRADECIMIENTO

A los docentes del programa de Maestría en Biotecnología Molecular: Ph.D. Eric Mialhe, Ph.D. Virna Cedeño y Ph.D. Emmerik Motte por la oportunidad brindada y por ser nuestros guías en el camino de la ciencia.

A la Universidad Nacional de Tumbes y los coordinadores del programa de Maestría: Dr. David Saldarriaga y Dr. Carlos Deza.

A Carlo Elías quién me brindo conocimiento y apoyo en toma de muestras y laboratorio, gracias por las enseñanzas y la amistad.

Al equipo técnico de INCA BIOTEC' S. A. C.: Téc. Pedro Masías, Téc. César Chanta.

Al Concejo Nacional de Ciencia Tecnología e Innovación Tecnológica, CONCYTEC, por las becas de estudios otorgadas en favor de la ciencia.

Al Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado, SERNANP a través de la jefatura del Parque Nacional Cerros de Amotape por permiso otorgado.

Acta de sustentación de tesis:



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 veintiséis días del mes de febrero del año dos mil veinte, a las 10:00 horas, en el auditorio de la Escuela de Posgrado (Aula 1), se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 052-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila - Presidente; Dr. Leocadio Malca Acuña - Secretario; Ph.D. Emmerick Motte Darricau – Vocal y con Resolución Directoral N° 032-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: **Identificación molecular de la nutria de río (*Lontra longicaudis* - Subfamilia: Lutrinae) y caracterización metagenómica/metaproteómica de su microbiota fecal y dieta en la Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes – Manglares**, presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Laura Yaddira Sanjinez Noblecilla, asesorada por la Ph. D. Ph.D Vima Alexia Cedeño Escobar y coasesorada 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 10:45 horas, se dio por concluido el acto académico, y dando conformidad se procedió a firmar la presente acta en presencia del público.

Tumbes, 26 de febrero de 2020.

Dr. David Edilberto Saldarriaga Yacila
Presidente

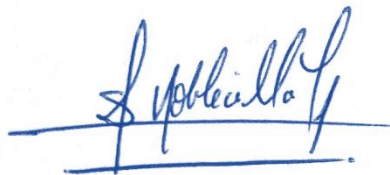
Dr. Leocadio Malca Acuña
Secretario

Ph.D. Emmerick Motte Darricau
Vocal

C.c. Jurado de Proyecto de Tesis (3), Asesor (1), sustentante (1), UI (2)

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, **LAURA YADDIRA SANJINEZ NOBLECILLA**, declaro que los resultados reportados en esta tesis denominada **“Identificación molecular de la nutria de río (*Lontra longicaudis* - Sub familia: Lutrinae) y caracterización metagenómica/metaproteómica de su microbiota fecal y dieta en la Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes-Manglares”** 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. Laura Yaddira Sanjinez Noblecilla

RESUMEN

La nutria de río (*Lontra longicaudis*) es considerada un componente importante para los ecosistemas acuáticos al ser un depredador tope, involucrada directamente en cascadas tróficas otorgando mayor complejidad al ecosistema, siendo bioindicadora del buen estado de los ecosistemas en los que habita. La identificación de especies silvestres mediante estudios moleculares es un aspecto importante, desplazando la determinación morfológica y convencional de identificación. Mediante análisis molecular de genes de la región control de ADN mitocondrial pudimos identificar la nutria de río con el 98 al 100% de confianza. La microbiota es esencial para dilucidar el estado salud de especies silvestres, esta se encuentra constituida por microorganismos patógenos y benéficos. La identificación de estos microorganismos asociados a intestino mediante el análisis de heces a través de metagenómica dirigidas al gen ADN ribosómico 16S y mediante la espectrometría de masas permitió conocer a nivel de phylum que los Firmicutes tuvieron mayor abundancia en las muestras QFM1, QFM2 y QAM2, Fusobacteria fue más abundante en QGM2, Proteobacteria estuvo presente mayormente en QGM1 y QAM1, confirmándolo con resultados metaproteómicos. Además, el conocimiento sobre la dieta es un aspecto importante de manejo estudiado para evaluar la disponibilidad de alimento ya que de eso depende su población y distribución geográfica. Para ello se realizó un análisis de la dieta mediante técnicas no invasivas como la metagenómica, dirigido al gen COI (citocromo oxidasa I) y metaproteómica como herramienta potencial para la identificación de dieta nuestros resultados reafirmando que *L. longicaudis* es una especie generalmente piscívora y generalista resaltando Phylum como Chordata, Artropoda, Ascomicota y Nemátoda y géneros representativos como Bricón, Paniluris, Leporinus, Macrobrachium y Oreochromis. Este estudio preliminar ha permitido caracterizar y mejorar el conocimiento biológico, microbiológico y ecológico de la nutria para contribuir al desarrollo de un plan de manejo para su conservación en el Perú.

Palabras clave: metagenómica, metaproteómica, ADN mitocondrial, región control

ABSTRACT

The river otter (*Lontra longicaudis*) is considered an important component for aquatic ecosystems as it is a top predator, directly involved in trophic waterfalls, giving greater complexity to the ecosystem, being a bioindicator of the good condition of the ecosystems in which it inhabits. The identification of wild species through molecular studies is an important aspect, displacing the morphological and conventional identification determination. Through molecular analysis of genes from the control region of mitochondrial DNA, we were able to identify the river otter with 98 to 100% confidence. The microbiota is essential to elucidate the health status of wild species, it is made up of pathogenic and beneficial microorganisms. The identification of these microorganisms associated with the intestine through the analysis of feces through metagenomics directed to the 16S ribosomal DNA gene and through mass spectrometry allowed to know at the phylum level that Firmicutes had greater abundance in the QFM1, QFM2 and QAM2 samples. Fusobacteria was more abundant in QGM2, Proteobacteria was present mostly in QGM1 and QAM1, confirming it with metaproteomic results. In addition, knowledge about diet is an important aspect of management studied to evaluate the availability of food since its population and geographic distribution depend on that. For this, a diet analysis was carried out using non-invasive techniques such as metagenomics, targeting the COI gene (cytochrome oxidase I) and metaproteomics as a potential tool for the identification of diet, our results reaffirming that *L. longicaudis* is a generally piscivorous and generalist species highlighting Phylum such as Chordata, Arthropoda, Ascomycotina and Nematoda and representative genera such as *Briccon*, *Paniluris*, *Leporinus*, *Macrobrachium* and *Oreochromis*. This preliminary study has made it possible to characterize and improve the biological, microbiological and ecological knowledge of the otter in order to contribute to the development of a management plan for its conservation in Peru.

Keywords: metagenomics, metaproteomics, mitochondrial DNA, control region