

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

## ESCUELA DE POSGRADO

### MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Caracterización genómica, proteómica y metabolómica de  
*Hylocereus spp* y *Echinopsis spp* (CACTACEAE).

## TESIS

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

Autor: Br. CC.BB. Rosita Mercedes Chang Coronado

**Tumbes, 2020**

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

## ESCUELA DE POSGRADO

### MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Caracterización genómica, proteómica y metabolómica de  
*Hylocereus spp* y *Echinopsis spp* (CACTACEAE).

#### Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Deza Navarrete Carlos Alberto (Presidente)

Dr. García Seminario Ramón (Secretario)

PhD. Cedeño Escobar Virna Alexa (Vocal)

Tumbes, 2020

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

## ESCUELA DE POSGRADO

### MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Caracterización genómica, proteómica y metabolómica de  
*Hylocereus spp* y *Echinopsis spp* (CACTACEAE).

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

Br. CC.BB Chang Coronado Rosita Mercedes (Autora)

Ph. D. Mialhe Matonnier Eric Louis (Asesor)

M Sc. Saucedo Bazalar Manuel Jesús (Co-Asesor)

**Tumbes, 2020**

## **DEDICATORIA**

Este trabajo va dedicado a la memoria de mi madre, que desde el cielo me acompaña y bendice en cada uno de mis logros. A mi padre y hermana por su apoyo incondicional en toda mi etapa de formación profesional.

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a CONCYTEC-FONDECYC por la beca integral de estudios en el Programa Magistral en Biotecnología Molecular.

A la Universidad Nacional de Tumbes porque abrió sus puertas para formar mi perfil profesional.

A mis asesores, a Ph D. Eric Mialhe Matonnier y a M Sc. Manuel Saucedo Bazalar, por la orientación y ayuda que me brindaron en la realización de esta tesis, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

A la Dr. Mónica Arakaki Makishi, docente e investigadora de la Facultad de Ciencias Biológicas y Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su guía desde su experiencia en Código de Barras de ADN en plantas, lo que permitió delimitar los componentes de esta tesis.

Al Técnico Pedro Masías Ramirez, especialista en proteómica, por su apoyo y guía en la realización de esta tesis, por su orientación en el aprendizaje en la espectrometría de masas MALDI TOF/TOF.

A M Sc. José Stalyn Códova Campos, por su orientación y ayuda que me brindó en la realización de esta tesis, por su apoyo, paciencia y amistad que me permitió aprender y entender la proteómica aplicada a cactus.

A QF. Kirianova Godoy Bautista, por la orientación y ayuda que me brindó en la realización del componente metabólico, por su apoyo y amistad que me permitieron aprender mucho más que lo estudiado en el proyecto.

A M Sc. Erick Antonio Suarez Peña, por su amistad y apoyo incondicional en mi formación académica.

Y a todas las personas que hicieron posible la realización de esta tesis por sus consejos, sugerencias, apoyo en la colecta de las muestras, su amistad y estima hacia mi persona.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
Licenciada  
Resolución del Consejo Directivo N° 155-2019-SUNEDU/CD  
**ESCUELA DE POSGRADO**  
Tumbes - Perú

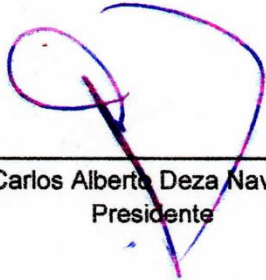
## ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

En Tumbes, a los veintisiete días del mes de febrero del año dos mil veinte, a las 09.05 horas, en EL AULA N°01 DE LA ESCUELA DE POSGRADO DE LA UNTUMBES, se reunieron los miembros del jurado designados con Resolución Directoral N° 025-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Dr. Ramón García Seminario - Secretario; Ph.D. Virna Alexia Cedeño Escobar - Vocal y con Resolución Directoral N° 040-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Caracterización genómica, proteómica y metabólicoma de *Hylocereus spp* y *Echinopsis spp* (CACTACEAE), presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Rosita Mercedes Chang Coronado, asesorada por el Ph.D. Eric Louis Mialhe Matonnier y coasesora al M.Sc. Manuel Jesus Saucedo Bazalar.

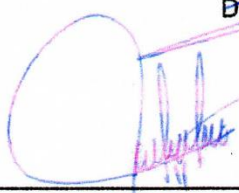
Concluida la exposición y sustentación, absueltas las preguntas y efectuadas las observaciones, lo declaran: SOBRESALIENTE, dando cumplimiento al Art. 29° del Reglamento de Investigación con fines de Graduación en la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 10.15 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. Ramón García Seminario  
Secretario

  
\_\_\_\_\_  
Ph.D. Virna Alexia Cedeño Escobar  
Vocal

## RESUMEN

La familia Cactaceae, es un gran grupo de plantas suculentas muy diversas y de amplia distribución en América. Tiene una gran importancia ambiental, socio-cultural y económica destacando los géneros *Hylocereus* y *Echinopsis*, como productores de flavonoides y alcaloides, respectivamente. En Perú, la identificación de Cactáceas se adjudica sólo a nivel taxonómico y la evaluación de sus compuestos bioactivos está limitado solo a conocimientos etnobotánicos y medicina tradicional. Por lo tanto, estudios locales a nivel genómico, proteómico y metabolómico en Cactáceas es poco conocido. Para el estudio genómico (código de barras de ADN) se diseñaron *primers* para amplificar la región ITS2. Para el estudio proteómico, se estandarizó un protocolo de extracción de proteínas totales para un análisis de *shotgun proteomics* y búsqueda de base de datos para el mapeo de péptidos por homología. Y para el estudio metabolómico, se estandarizó un protocolo de extracción de metabolitos incluyendo etapas de meceración/sonicación y separación mediante cromatografía de capa fina (CCF) para un análisis por espectrometría de doble masa (MALDI TOF/TOF). La secuenciación parial a partir de la región ITS2, se obtuvo una identidad del 100% en muestras de *Hylocereus monacanthus*, así como en especies de *Echinopsis*. El análisis *shotgun proteomics*, permitió identificar un total de 133 proteínas para *H. monacantus*, mientras que 19, 15, 37 y 64 proteínas fueron identificadas para *E. pachanoi*, *E. pachanoi var. cristata*, *E. peruvianus* y *E. santaensis*, respectivamente, Las proteínas identificadas en ambos géneros fueron clasificadas de acuerdo a sus procesos biológicos, conferidos principalmente a proteínas relacionadas con crecimiento y desarrollo, energía, metabolismo, respuestas de defensa abiótica y biótica, enzimas de biosíntesis de diversas sustancias, entre otras. En el análisis de metabolitos, se identificaron ácido glutámico, biotina y miricetina de extractos de pulpa y cáscara de frutos de pitahaya fucsia y amarilla. Además, se determinaron los primeros perfiles MS/MS de mescalina en cuatro especies de *Echinopsis*. En conclusión, mediante código de barras de ADN se logró identificar las especies del género *Hylocereus* y *Echinopsis* usando la región ITS2 como marcador para la identificación molecular, además el análisis proteómico y metabolómico, nos

mostró la complejidad de moléculas de los procesos interactivos planta-microbioma-ambiente de ambos géneros en estado silvestre.

*Palabras claves* : *Hylocereus*, *Echinopsis*, ITS2, proteínas, metabolitos, MALDI TOF/TOF.

## ABSTRACT

The Cactaceae family is a large group of succulent plants very diverse and widely distributed in America. It has a great environmental, socio-cultural and economic importance, highlighting the genera *Hylocereus* and *Echinopsis*, as producers of flavonoids and alkaloids, respectively. In Peru, the identification of Cactaceae is awarded only at the taxonomic level and the evaluation of their bioactive compounds is limited only to ethnobotanical knowledge and traditional medicine. Therefore, local studies at the genomic, proteomic and metabolomic levels in Cactaceae are poorly understood. For the genomic study (DNA barcode) primers were designed to amplify the ITS2 region. For the proteomic study, a total protein extraction protocol was standardized for a shotgun proteomics analysis and database search for peptide homology mapping. And for the metabolomic study, a metabolite extraction protocol was standardized including rocking / sonication steps and separation by Thin Layer Chromatography (TLC) for double mass spectrometry analysis (MALDI TOF / TOF). Partial sequencing from the ITS2 region, 100% identity was obtained in *Hylocereus monacanthus* samples, as well as in *Echinopsis* species. The shotgun proteomics analysis allowed the identification of a total of 133 proteins for *H. monacanthus*, while 19, 15, 37 and 64 proteins were identified for *E. pachanoi*, *E. pachanoi var. cristata*, *E. peruvianus* and *E. santaensis*, respectively. The proteins identified in both genera were classified according to their biological processes, conferred mainly on proteins related to growth and development, energy, metabolism, abiotic and biotic defense responses, enzymes of biosynthesis of various substances, among others. In the metabolite analysis, glutamic acid, biotin and myricetin were identified from extracts of pulp and peel of fuchsia and yellow pitahaya fruits. Furthermore, the first mescaline MS/MS profiles were determined in four *Echinopsis* species. In conclusion, by means of a DNA barcode it was possible to identify the species of the genus *Hylocereus* and *Echinopsis* using the ITS2 region as a marker for molecular identification, in addition to the proteomic and metabolomic analysis, it showed us the complexity of molecules of the interactive plant-microbiome processes -Environment of both genera in the wild.

**Keywords:** *Hylocereus*, *Echinopsis*, ITS2, proteins, metabolites, MALDI TOF/TOF.