

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Péptidos marcadores en pelo para determinación de especie y metagenómica fecal para la evaluación de dieta y microbiota de *Odocoileus virginianus* en el CCEA-RBNOAM

TESIS

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

AUTOR: Blga. Geyby Tatiana Carrillo Apolo

TUMBES, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Péptidos marcadores en pelo para determinación de especie y metagenómica fecal para la evaluación de dieta y microbiota de *Odocoileus virginianus* en el CCEA-RBNOAM

Tesis aprobada en forma y estilo por:

Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete
(Presidente)

:

Dr. Enrique Benites Juarez
(Secretario)

:

Ph.D. Eric Louis Mialhe Matonnier
(Vocal)

:

TUMBES, 2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN CIENCIAS CON MENCIÓN EN
BIOTECNOLOGÍA MOLECULAR



Péptidos marcadores en pelo para determinación de especie y metagenómica fecal para la evaluación de dieta y microbiota de *Odocoileus virginianus* en el CCEA-RBNOAM

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

Blga. Geyby Tatiana Carrillo Apolo:
(Autora)

Ph.D. Virna Alexia Cedeño Escobar:
(Asesora)

TUMBES, 2020

AGRADECIMIENTOS

De manera muy especial un agradecimiento a Virna Alexia Cedeño Escobar, Eric Louis Mialhe Matonnier y Benoit Diringier por su mentoría, asesoramiento y apoyo.

A CONCYTEC, por la oportunidad y el financiamiento para realizar la maestría en ciencias con mención en Biotecnología Molecular.

Al Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado (SERNANP) por la autorización y facilidades para realizar investigación en el ANP Coto de Caza El Angolo, en especial a Cynthia Vergaray, Marco Sánchez y Aldo Aguirre.

Al señor Santos Saldarriaga (representante del Club de Caza, Pesca y turismo - Piura), y a J. E. Fernando, Cerna M. por su apoyo para la obtención de muestras.

A Manuel Feria Zevallos, gracias por creer en mí y ser el mejor compañero de vida.

A mi hijo Gael, tu sonrisa es mi motor.



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 14.00 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° 043-2019/UNTUMBES-EPG-D; Dr. Carlos Alberto Deza Navarrete - Presidente; Dr. Enrique Benítez Juárez - Secretario; Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier - Vocal y con Resolución Directoral N° 038-2020/UNTUMBES-EPG-D, se fijó la fecha de sustentación y defensa de la tesis: Péptidos marcadores en pelo para determinación de especie y metagenómica fecal para la evaluación de dieta y microbiota de *Odocoileus virginianus* en el CCEA-RBNOAM, presentada por la estudiante del Programa de Maestría en Ciencias con mención en Biotecnología Molecular Geyby Tatiana Carrillo Apolo, asesorada por la Ph. D. Virna Alexia Cedeño Escobar.

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 14.45 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. Enrique Benítez Juárez
Secretario


Ph. D. Eric Louis Mialhe Matonnier
Vocal

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

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Yo, **GEYBY TATIANA CARRILLO APOLO**, declaro que los resultados reportados en esta tesis con el título **“Péptidos marcadores en pelo para determinación de especie y metagenómica fecal para la evaluación de dieta y microbiota de *Odocoileus virginianus* en el CCEA-RBNOAM”**, 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 autoría propia. 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.

Atentamente



Geyby Tatiana Carrillo Apolo

RESUMEN

La Reserva de Biósfera del Noroeste Amotapes-Manglares (RBNOAM), está localizada en los departamentos de Piura y Tumbes y alberga grandes mamíferos como *Odocoileus virginianus*, un determinante importante de la biodiversidad y una gran cantidad de servicios ecosistémicos. Los venados generalmente se ubican en áreas de difícil acceso y debido a su alto grado de estrés son difíciles de estudiar en estado silvestre, por lo que la aplicación de técnicas moleculares con uso de marcadores genéticos y proteómicos a partir de muestras no-invasivas surgen como una excelente alternativa, en ese sentido los objetivos de la presente investigación fueron obtener mediante espectrometría de masas MALDI TOF/TOF marcadores peptídicos de especie en pelo de *O. virginianus*, y por otro lado determinar su dieta y microbiota a través de metagenómica dirigida a 16S y RBCL en muestras fecales tomadas entre mayo (estación lluviosa) y noviembre (estación seca) del 2019.

Los resultados de shotgun proteomics mostraron que los péptidos de alfa-queratina fueron dominantes en el análisis, estas se compararon con secuencias de otros mamíferos depositadas en bases de datos disponibles online, hallándose dos péptidos específicos para *O. virginianus*, mientras que el resto complementa la identificación taxonómica. Por otro lado, la microbiota fecal mostró que proteobacteria, bacteroidetes y firmicutes fueron dominantes en ambas estaciones, con géneros relacionados con la capacidad de obtención de nutrientes de material vegetal consumido, así mismo, la evaluación de la dieta mostró que la familia fabaceae fue la más consumida, y se determinó una mayor diversidad de familias en la época lluviosa que en la seca. Estos resultados muestran la eficiencia del uso de muestras no invasivas, y las herramientas moleculares en la obtención de información que permita la gestión para la conservación no sólo de *O. virginianus*, sino del ecosistema en el que se encuentra dada su importancia en los procesos y vías sucesionales.

PALABRAS CLAVE

Odocoileus, Metagenómica, Proteómica, dieta, microbiota, MALDI TOF/TOF

ABSTRACT

The Amotapes-Manglares Northwest Biosphere Reserve (RBNOAM), is located in the departments of Piura and Tumbes and houses large mammals such as *Odocoileus virginianus*, an important determinant of biodiversity and a large number of ecosystem services. Deer are usually located in areas of difficult access and due to their high degree of stress they are difficult to study in the wild, so the application of molecular techniques using genetic and proteomic markers from non-invasive samples arise as an excellent alternative, in that sense the objectives of the present investigation were obtained by means of mass spectrometry MALDI TOF / TOF peptide markers of species in hair of *O. virginianus*, and on the other hand to determine their diet and microbiota through metagenomics directed at 16S and RBCL in faecal samples taken between May (rainy season) and November (dry season) -2019.

The results of the proteomic shotgun of the alpha-Queratina sequences were dominant in the analysis, these were compared with sequences from other mammals deposited in databases available online, with two specific ones for *O. virginianus*, while the rest complements the Taxonomic identification. On the other hand, the fecal microbiota showed that proteobacteria, bacteroidetes and firmicutes were dominant in both seasons, with genera related to the ability to obtain nutrients from consumed plant material, as well as the evaluation of the registered diet that the fabaceae family was the most consumed, and a greater diversity of families was determined in the rainy season than in the dry season. These results indicate the efficiency of the use of non-invasive samples, and the molecular tools in obtaining information that allow management for the conservation not only of *O. virginianus*, but of the ecosystem in which it is given its importance in the processes and succession paths.

KEYWORDS

Odocoileus, Metagenomics, Proteomics, diet, microbiota, MALDI TOF / TOF