TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA MARINA

"Caracterización del microbioma bacteriano cultivable asociado a la piel de *Telmatobius brachydactylus* en el lago Junín (mayo a julio del 2024)"

Tesis para optar el título profesional de:
BIÓLOGA MARINA

Presentado por:
Milagros Linnet Loza Diburga (0000-0002-1474-8496)

Asesor:
Joaquim Ruiz Blázquez (0000-0002-4431-2036)

Lima – Perú
2026

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 27 de abril de 2026

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: Mg. Milene Anita Villalobos Cachay
Miembro 1: Mg. Ulrike Inge Tarazona Janampa
Miembro 2: Blgo. Raul Mauricio Olaechea Alejo

Se reúnen para evaluar la tesis titulada: "Caracterización del microbioma bacteriano cultivable asociado a la piel de *Telmatobius brachydactylus* en el lago Junín (mayo a julio del 2024)" con código de proyecto: N° PRE-5-2023-00400.

Presentada por la tesista:

- Milagros Linnet Loza Diburga

Para optar el Título Profesional de Bióloga Marina.

Asesorada por: Dr. Joaquim Ruiz Blázquez

Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño del estudiante de la carrera de Biología Marina en la sustentación, se concluye de manera unánime ( ) por mayoría simple (X) calificar a:

Tesista: Milagros Linnet Loza Diburga			Nota (en letras): Catorce punto tres (14.3)
Aprobado (X)	Aprobado - Muy buena ( )	Aprobado - Sobresaliente ( )	Desaprobado ( )

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



_____

Mg. Milene Anita Villalobos Cachay
Presidente del Jurado



_____

Dr. Joaquim Ruiz Blázquez
Asesor



_____

Mg. Ulrike Inge Tarazona Janampa
Miembro 1



_____

Blgo. Raul Mauricio Olaechea Alejo
Miembro 2

ANEXO 21: DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE INFORME FINAL DE TESIS

UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD DE CONTENIDO DE INFORME FINAL DE TESIS / TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Lima, 13 de abril del 2026

Señor,
Dr. Percy Mayta Tristán
Vicerrectorado de Investigación
Universidad Científica del Sur
Presente. –

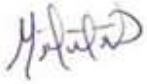
De nuestra consideración,

Yo: Milagros Linnet Loza Diburga; egresada de la carrera de Biología Marina de la Universidad Científica del Sur, en conjunto con el asesor Joaquim Ruiz Blázquez, declaramos que este informe final de tesis de investigación titulado: Caracterización del microbioma bacteriano cultivable asociado a la piel de *Telmatobius brachydactylus* en el lago Junín (mayo a julio del 2024), sustentado para obtener el Título Profesional de Biólogo Marino es original.

Es decir, no contiene plagio parcial ni total, cuando se utilizó información de fuentes externas se reconoció la autoría mediante la adecuada citación y los resultados obtenidos son producto entero de mi investigación y no han sido falseados ni fabricados. Todo esto en cumplimiento del Código de ética en la investigación, Reglamento del Comité de Integridad Científica, Reglamento de Propiedad Intelectual, Normas y procedimientos de los trabajos de investigación para la obtención de títulos profesionales y grados académicos[14], que afirmamos conocer en su totalidad.

Por ello, en caso de identificarse alguna situación de plagio, falsificación o fabricación de resultados, nos allanamos al proceso de investigación que establezca la Universidad y las posibles sanciones que pudieran surgir.

Firmamos en conformidad con lo declarado,



Firma tesista
DNI: 71318668



Firma del asesor de tesis
DNI:

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

INFORME DE REVISIÓN DE ORIGINALIDAD

Título del documento evaluado. Caracterización del microbioma bacteriano cultivable asociado a la piel de *Telmatobius brachydactylus* en el lago Junín (mayo a julio del 2024)

Autores. Milagros Linnet Loza Diburga

Mecanismo de revisión de originalidad. Evaluación con Turnitin (ID 2964477344).

Código de registro. PRE-5-2023-00400

Resultado de la evaluación. 8%

Revisado por. Magaly Kelly Guerrero Huaracallo.

Comentarios sobre la revisión. Filtros usados: excluir fuentes de menos de 12 palabras.



Caracterización de la microbiota

INFORME DE ORIGINALIDAD

8%	7%	4%	2%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.cientifica.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	1%
3	www.researchgate.net Fuente de Internet	<1%
4	Mabure Shille, Fitsum Dulo, Shubisa Abera, Seblewongel Ayechew. " Isolation, Identification, and Antibiogram Characteristics of From Dairy Cows Kept Under Extensive Management System, in the Uba DebreTsehay District of Southern Ethiopia ", Veterinary Medicine and Science, 2025 Publicación	<1%
5	docplayer.es Fuente de Internet	<1%

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

A mí misma.

Porque detrás de estas páginas existe una historia que nadie más conoce por completo.

La historia de todas las veces que tuve miedo y aun así seguí adelante. De los días en que el cansancio, la frustración y las dudas parecían más grandes que mis fuerzas. De las noches interminables, de las lágrimas silenciosas, de los momentos en que sentí que quizá no podría lograrlo… y aun así, aquí estoy. Gracias por no rendirte cuando hubiera sido más fácil hacerlo. Esta tesis es la prueba de todo lo que fui capaz de soportar, aprender y superar. Representa la persona en la que me convertí durante el proceso: más fuerte, más resiliente y valiente de lo que alguna vez imaginé. Si algún día vuelvo a leer estas palabras, espero recordar con amor a la persona que soy hoy. A la joven que siguió luchando incluso cuando se sentía perdida, que continuó trabajando aun con miedo al fracaso, que aprendió a levantarse una y otra vez sin perder la esperanza.

A mi asesor, Joaquim Ruiz, por el apoyo constante, la paciencia y todo el conocimiento compartido durante el desarrollo de este trabajo. Gracias por las enseñanzas, la orientación y la confianza brindada a lo largo de este camino. A todos los miembros del Laboratorio de Microbiología Molecular y Genómica Bacteriana, por compartir conmigo sus experiencias, consejos y conocimientos. Gracias por hacer de este proceso un espacio de aprendizaje y crecimiento tanto académico como personal.

Finalmente, a mi familia, por ser mi sostén incondicional durante tantos años. Gracias por acompañarme incluso en los momentos más difíciles, por creer en mí cuando yo misma dudaba y por recordarme siempre que nunca estuve sola.

La presente tesis fue financiada por CONCYTEC CONTRATO N° PE501090006-2024-PROCIENCIA y por la Beca Cabieses para proyectos de Tesis 2023-2 de la Universidad Científica del Sur.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ÍNDICE GENERAL

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 13

II. MARCO TEÓRICO 16

2.1. Los anfibios como fuente de microorganismos bioactivos 16

2.2. Potencial antimicrobiano de bacterias cutáneas de anfibios 18

2.3. Infecciones por patógenos humanos y resistencia antimicrobiana 21

2.4. *Telmatobius brachydactylus:* biología y potencial como reservorio microbiano 23

III. OBJETIVOS 26

3.1. Objetivo general 26

3.2. Objetivos específicos 26

IV. METODOLOGÍA 27

4.1. Obtención de muestras biológicas 27

4.2. Cultivo y aislamiento bacteriano 29

4.3. Caracterización bioquímica 31

4.4. Identificación molecular de cepas aisladas 32

4.4.1. Extracción de ADN 32

4.4.2. Amplificación del gen 16S rRNA 33

4.4.3. Secuenciación y análisis de secuencias 33

4.5 Ensayo de susceptibilidad antibiótica 35

4.6. Ensayo de actividad antimicrobiana y antimicótica 36

V. RESULTADOS 38

5.1. Obtención de muestras biológicas 38

5.2. Cultivo y aislamiento bacteriano 39

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

5.3. Caracterización bioquímica 40

5.4. Identificación molecular 41

5.5. Ensayo de susceptibilidad antibiótica 48

5.5.1. Ensayo de susceptibilidad antibiótica en el género *Pseudomonas sp.* ... 48

5.5.2. Ensayo de susceptibilidad antibiótica en el género *Acinetobacter sp.* ... 50

5.5.3. Ensayo de susceptibilidad antibiótica en el género *Aeromonas sp.* 52

5.5.4. Ensayo de susceptibilidad antibiótica en las cepas de la familia Enterobacteriacea (*Citrobacter sp.* y *Serratia sp.*) 54

5.6. Ensayo de actividad antimicrobiana 56

5.7. Ensayo de actividad antimicótica 57

VI. DISCUSIÓN 60

6.1 Obtención de muestras biológicas 60

6.2. Cultivo y aislamiento bacteriano 61

6.3. Pruebas bioquímicas 63

6.4. Identificación molecular 64

6.5. Susceptibilidad antibiótica 66

6.6. Actividad antimicrobiana y antimicótica 69

VII. CONCLUSIONES 72

VIII. RECOMENDACIONES 73

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 75

X. ANEXOS 88

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. *Componentes del medio de cultivo ACA.* ..... **¡Error! Marcador no definido.**

Tabla 2. *Datos biométricos de las ranas y zona donde fueron colectadas*. 38

Tabla 3. *Frecuencia de resultados de pruebas bioquímicas en 97 cepas bacterianas aisladas de T. brachydactylus.* 41

Tabla 4. *Resumen de comparación de secuencias de cepas aisladas en este estudio con secuencias contenidas en las bases de datos del NCBI.* 42

Tabla 5. *Porcentaje de sensibilidad, resistencia e intermedios de cepas del género Pseudomonas frente a diferentes antibióticos.* 49

Tabla 6. *Porcentaje de sensibilidad, resistencia e intermedios de cepas del género Acinetobacter frente a diferentes antibióticos* 51

Tabla 7. *Porcentaje de sensibilidad, resistencia e intermedios de cepas del género Aeromonas frente a diferentes antibióticos* 53

Tabla 8. *Porcentaje de sensibilidad, resistencia e intermedios de la familia Enterobacteriacea, géneros Citrobacter sp. y Serratia sp. frente a diferentes antibióticos* 55

Tabla 9. *Actividad antagonista de cepas bacterianas aisladas frente a Klebsiella pneumoniae (ATCC 13883).* 57

Tabla 10. *Resultados del ensayo de actividad antimicótica frente a Candida albicans (ATCC 2091)*..... 57

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. *Fotos de las diferentes etapas de Telmatobius brachydactylus. (A) Adulto, (B) metamorfo con cuatro patas y cola, (C) renacuajo con patas posteriores y (D) renacuajo.* 24

Figura 2. *Mapa del área de obtención de muestras. Escala 1:275 000* 27

Figura 3. *Proporción relativa de cepas bacterianas cultivadas*..... 40

Figura 4. *Amplicones producidos por PCR de las bacterias aisladas. A: RN93, B:RP22, C: AP117, D: GN24, E: TN40, F: GN14, G: 1kb Ladder* 42

Figura 5. *Porcentajes de cepas identificadas en cada filo*. 43

Figura 6. *Número de familias, géneros y especies identificadas por cada filo.* 44

Figura 7. Distribución porcentual de las especies bacterianas dentro de cada género identificado para *los filos, Proteobacteria, Firmicutes y Actinobacteria*..... 45

Figura 8. *Placa de difusión en agar mostrando el fenotipo β-lactamasa tipo AmpC en cepa AN110 (Pseudomonas protegens), evidenciando zona de inhibición reducida frente a ceftazidima (CAZ) e imipenem (IPM).*..... 50

Figura 9. *Placa de difusión en agar mostrando resistencia a múltiples antibióticos en cepa AP111 (A. baumannii).* 52

Figura 10. *Placa de difusión en agar mostrando detección fenotípica de β-lactamasa de espectro extendido (BLEE) en la cepa CN37 (Aeromonas sp.)* 54

Figura 11. *Placa de difusión en agar mostrando el fenotipo β-lactamasa tipo AmpC en cepa GN16 (Aeromonas sp.) evidenciando zona de inhibición reducida frente a ceftazidima (CAZ) e imipenem (IPM).*..... 54

Figura 12. *Placa de difusión en agar mostrando el fenotipo β-lactamasa tipo AmpC en cepa CN89 (Serratia fonticola) evidenciando distorsión en halo de inhibición de ceftazidima (CAZ) y cefepime (FEP).*..... 56

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

Figura 13. *Actividad antimicótica de la cepa RP22 (Pseudomonas vranovensis) frente a Candida albicans (ATCC 2091). Placa de difusión en agar donde se observa inhibición del crecimiento fúngico alrededor del punto de aplicación de la cepa RP22.* 58

Figura 14. *Ausencia de actividad antimicótica de la cepa AP117 (Acinetobacter baumannii) frente a Candida albicans (ATCC 2091). Placa de difusión en agar sin zonas de inhibición, indicando ausencia de efecto antifúngico.* 59

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Componentes del medio de cultivo ACA……..87

Anexo 2. Descripción de la morfología de las colonias y tipo celular de todas las cepas aisladas…….....87

Anexo 3. Tabla completa comparación de secuencias de cepas aisladas en este estudio con secuencias contenidas en las bases de datos del NCBI..... 91

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

RESUMEN

Este estudio caracteriza la microbiota bacteriana cultivable asociada a la piel de *Telmatobius brachydactylus* en afluentes del lago Junín, con el objetivo de establecer una línea base y realizar una evaluación funcional exploratoria. El muestreo se realizó entre mayo y julio de 2024 en los riachuelos Ayac y Paccha, donde se capturaron 16 individuos. Se efectuaron hisopados de las regiones dorsal y ventral, y las muestras fueron cultivadas en medios generales y selectivos (TSA, R2A, TCBS, GSP y agar caseína-almidón). Se aislaron 97 cepas, las cuales fueron agrupadas por morfotipos, caracterizadas mediante pruebas bioquímicas convencionales e identificadas por secuenciación del gen 16S rRNA y análisis BLAST. De manera exploratoria, se evaluó la susceptibilidad antibiótica mediante difusión en disco siguiendo criterios CLSI, así como la actividad antagonista in vitro frente a bacterias de referencia (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Acinetobacter baumannii*) y *Candida albicans*. La microbiota cultivable estuvo dominada por Proteobacteria (74%), seguida de Firmicutes (18%) y Actinobacteria (4%), con predominio del género *Pseudomonas*, siendo el medio GSP el más eficiente para la recuperación de aislamientos. Se identificaron perfiles de resistencia compatibles con mecanismos intrínsecos y adquiridos, así como actividad antagonista frente a *K. pneumoniae* y *C. albicans* en aislamientos puntuales. En conjunto, estos resultados constituyen la primera caracterización cultivable de la microbiota cutánea de *T. brachydactylus* y aportan información relevante sobre su diversidad bacteriana y rasgos funcionales preliminares en un contexto de conservación.

Telmatobius brachydactylus; microbiota cutánea; bacterias cultivables; 16S rRNA; antagonismo microbiano.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis

TESIS
UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR

ABSTRACT

This study characterizes the cultivable bacterial microbiota associated with the skin of *Telmatobius brachydactylus* in tributaries of Lake Junín, with the aim of establishing a baseline and conducting an exploratory functional assessment. Sampling was carried out between May and July 2024 in the Ayac and Paccha streams, where 16 individuals were captured. Swab samples were collected from dorsal and ventral skin regions, and the samples were cultured on general and selective media (TSA, R2A, TCBS, GSP, and casein–starch agar). A total of 97 bacterial isolates were obtained, grouped by morphotypes, characterized using conventional biochemical tests, and identified by sequencing of the 16S rRNA gene followed by BLAST analysis. In an exploratory approach, antibiotic susceptibility was assessed using disk diffusion according to CLSI guidelines, as well as in vitro antagonistic activity against reference bacteria (*Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Acinetobacter baumannii*) and *Candida albicans*. The cultivable microbiota was dominated by Proteobacteria (74%), followed by Firmicutes (18%) and Actinobacteria (4%), with a predominance of the genus *Pseudomonas*; GSP medium yielded the highest recovery of isolates. Resistance profiles compatible with intrinsic and acquired mechanisms were identified, as well as antagonistic activity against *K. pneumoniae* and *C. albicans* in selected isolates. Overall, these results represent the first cultivable characterization of the cutaneous microbiota of *T. brachydactylus* and provide relevant information on its bacterial diversity and preliminary functional traits within a conservation context.

Keywords:

Telmatobius brachydactylus; cutaneous microbiota; cultivable bacteria; 16S rRNA; microbial antagonism.

Tesis publicada con autorización del autor
No olvide citar esta tesis