ABSTRACT

Numerous researches on population genetics have been done assessing the genetic variation and population structure to understand the effect of evolutionary and environmental changes within a species. Such biological data is significant particularly to the species that are facing threats leading towards extinction. Likewise, the gut microbial composition within their gastrointestinal (GI) tract carries similar importance as much as their genetic variation, ensuring long-term fitness of the animals to better adapt and survive in changing environments. While discovering the gut bacterial diversity aids in the digestion processes, pathogenic bacteria may as well be found that probably harmful to the animals and humans. The information obtained will enlighten our interpretation over the human-animal conflicts. Hence, to assess those criteria, the endemic proboscis monkey, *Nasalis larvatus*, is an ideal species model for this research. *Nasalis larvatus* that are only confined to the island of Borneo, is listed in the IUCN Red List as Endangered with a decreasing population trend. Nevertheless, the biological information on their genetic diversity of the species and gut microbe composition are still incomplete. Its fragmented distribution poses difficulties in gathering genetic samples along with its widespread distribution across Borneo. This study aims to determine the genetic variation and structure of *N. larvatus* with an emphasis on Malaysian Borneo populations to elucidate its gene flow, and to discover the microbe diversity presence within the GI tract. For this purpose, genetic materials were obtained from faecal samples, collected across Sarawak and Sabah. The population genetics analyses of *N. larvatus* were examined using 50 sequences of the 1,434-bp COI gene region of mitochondrial DNA. The COI sequences revealed low genetic variation among *N. larvatus* populations in Malaysian Borneo, could be the result of inbreeding pressure that may have occurred due to the absence of population expansion

in this species over the last 30,000 years. This is supported in our analysis of molecular variance, which showed that groups of *N. larvatus* are significantly differentiated possibly due to natural geographic barriers. Whereas, the study on gut microbial composition was carried out using a metagenomics approach. The amplicon sequencing of 16S rRNA successfully generated over two million raw reads of bacteria (98%) and archaea (2%) which covers 4030 OTUs. The diversity and abundance of gut microbiota vary comparing different types of population, e.g.: wild, semi-wild and captive, proven to be affected mainly by their food resource availability, besides the environmental factors which contribute to the diversity. The shift in the microbe diversity observed between habitats becomes evidence of the effect of habitat alteration on the microbes found in the GI tract of *N. larvatus*. On the other hand, this study also discovered numerous pathogens from the proboscis' faecal samples and among the most significant findings are from genera *Campylobacter, Helicobacter,* and *Comamonas*. The prevalence of the pathogenic bacteria gives an insight into the risk of human interactions with primates which requires attentive management of public health. In brief, the study on population genetics provides baseline information on the genetic diversity among *N. larvatus* populations in Borneo for the future genetic assessment of the species, and the crucial information on gut microbiome determined the mutualistic relationship between the organisms and the gut microbes that helps the species in the adaptation process.

Keywords: 16S rRNA, cytochrome oxidase I, gut microbiota, *Nasalis larvatus*, population genetics.

Struktur Populasi Genetik dan Analisis Metagenomik Mikrobiota Usus Terhadap Haiwan Terancam Monyet Belanda* (Nasalis larvatus) *di Malaysia Borneo

ABSTRAK

Pelbagai penyelidikan tentang genetik populasi telah dijalankan bertujuan menilai variasi genetik dan struktur populasi untuk memahami kesan perubahan evolusi dan alam sekitar terhadap sesuatu spesies. Data biologi sedemikian penting terutamanya kepada spesies yang menghadapi ancaman kepupusan. Selain itu, komposisi mikrob dalam usus mereka juga penting bagi memastikan kemampuan jangka panjang haiwan tersebut untuk menyesuaikan diri dengan perubahan persekitaran. Dalam merekod data kepelbagaian mikrobiota, patogen mungkin ditemui dan boleh memberi kesan bahaya bukan sahaja kepada haiwan malahan manusia. Oleh itu, untuk menilai kriteria tersebut, Monyet Belanda yang hanya boleh dijumpai di Borneo adalah model spesies yang sesuai untuk penyelidikan ini. Spesies Monyet Belanda telah disenaraikan IUCN Red List *dalam kategori haiwan terancam dengan jumlah populasi yang semakin menurun. Walau bagaimanapun, maklumat biologi mengenai kepelbagaian genetik spesies dan komposisi mikrob usus masih tidak lengkap. Penyebaran populasi haiwan tersebut yang meluas di kepulauan Borneo namun terasing antara satu dengan yang lain menimbulkan kesukaran dalam mengumpul sampel genetik. Oleh itu, kajian ini bertujuan menentukan variasi dan struktur genetik spesies Monyet Belanda dengan penekanan kepada populasi di Sarawak dan Sabah, menjelaskan mengenai aliran genetik dan mengenal pasti mikrob di dalam saluran pencernaan mereka. Untuk tujuan ini, bahan-bahan genetik diperoleh daripada sampel najis Monyet Belanda dari Sarawak dan Sabah. Genetik populasi Monyet Belanda telah dianalisa menggunakan 50 jujukan asid dioksiribonukleik* (DNA) *sepanjang 1,134-bp daripada bahagian gen mitokondria* COI. *Jujukan* DNA COI *mendedahkan variasi*

genetik yang rendah dalam kalangan populasi Monyet Belanda di kepulauan Borneo. Keputusan variasi genetik yang rendah ini mungkin dipengaruhi oleh masalah pembiakan berbaka tunggal dalam kumpulan populasi yg sama dan fakta ini dibuktikan oleh ketiadaan perkembangan populasi spesies ini dalam tempoh 30,000 tahun yang lalu. Ia juga disokong oleh keputusan analisa variasi molekul yang menunjukkan bahawa kumpulan Monyet Belanda mempunyai perbezaan genetik mungkin disebabkan oleh halangan geografi semula jadi. Sebagai tambahan, kajian mengenai komposisi mikrob dalam sistem pencernaan dijalankan menggunakan kaedah metagenomik. Penjujukan 16S rRNA *berhasil memberikan bacaan lebih dua juta bakteria (98%) dan arkea (2%), meliputi 4030* OTU. *Perbandingan antara kumpulan populasi (liar, separa liar dan tawanan) terdapat variasi komposisi mikrobiota yang disebabkan oleh faktor sumber makanan dan keadaan persekitaran. Perubahan kepelbagaian mikrob yang antara habitat yang berbeza membuktikan kesan perubahan habitat ke atas komposisi mikrob yang terdapat dalam sistem pencernaan Monyet Belanda. Kajian ini juga manemui patogen dalam sampel najis Monyet Belanda dan antara penemuan penting adalah dari kumpulan* Campylobacter, Helicobacter dan Comamonas. *Kehadiran bakteria patogen memberikan amaran tentang bahaya interaksi manusia dengan primata yang memerlukan pengurusan awam yang baik. Kesimpulannya, kajian genetik populasi menyediakan maklumat asas mengenai kepelbagaian genetik Monyet Belanda dan penting untuk usaha konservasi. Manakala, maklumat mengenai mikrobiota usus pula menentukan hubungan mutualistik antara kumpulan populasi dan menjelaskan kepentingan kepelbagaian spesies mikrob bagi membantu haiwan tersebut menyesuaikan diri dengan keadaan persekitaran.*

Kata kunci: 16S rRNA, Cytochrome Oxidase I, *mikrobiota usus,* Nasalis larvatus*, genetik populasi.*