

Resumen de la continuidad del estudio genómico de perico/dorado

INFORME SOBRE EL DESARROLLO DE LAS LIBRERÍAS GENÓMICAS EN COLABORACIÓN CON IMARPE

Por este conducto, desgloso las actividades realizadas durante la estancia de investigación de la Dra. Giovanna Sotil Caycho, la cual abarco la semana del 9 al 13 de junio de 2025. Dicha estancia se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Genética de Organismos acuáticos, del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, Ciudad Universitaria.

Muestreo

Las muestras utilizadas correspondieron a una re-extracción de 58 tejidos de *Coryphaena hippurus* colectadas durante 2022, 2023 y 2024, que corresponden a distintas localidades de Perú y Ecuador (Tabla 1)

Tabla 1. Muestreo de organismos de *Coryphaena hippurus*, realizados durante diferentes años.

Localidad	Año	No. muestras	País
Esmeraldas	2023/2024	12/5	Ecuador
Manta	2022/2023/2024	1/5/3	Ecuador
Santa Rosa	2022/2023/2024	2/4/4	Ecuador
Tumbes	2023-2024	2	Perú
Paíta	2022/2023	7/2	Perú
Pucusana	2022	2	Perú
Matarani	2023	5	Perú
Ilo	2023/2024	3/1	Perú

Así mismo, se realizó la extracción de 32 tejidos de *Coryphaena hippurus* colectados durante el año 2025 los cuales corresponden a un muestreo realizado con la finalidad de complementar la base de datos con la que se cuenta (Tabla 2).

Tabla 2. Muestreo de organismos de *Coryphaena hippurus*, realizados durante 2025.

Localidad	Año	No. muestras	País
Esmeraldas	2025	13	Ecuador
Santa Rosa	2025	11	Ecuador
Tumbes	2025	2	Perú
Salaverry	2025	4	Perú
Huarmey	2025	2	Perú

Trabajo de Laboratorio

La extracción de ADN así como la digestión de las 90 muestras obtenidas se realizó en el IMAPRE. Las librerías genómicas se elaboraron siguiendo el protocolo 3RAD (Bayona-Vásquez et al., 2019). El primer paso consistió en normalizar las muestras de ADN a una concentración de 20 ng/μl, utilizando una concertación final para la fragmentación enzimática de 100 ng totales. Se utilizó una combinación de

las enzimas de restricción Clal, MspI y Bam-HI, para la digestión del material genómico, así como de la eliminación de quimeras y dímeros. Los fragmentos de ADN generados por la acción enzimática fueron ligados a adaptadores específicos para identificar entre individuos. Los productos de ligación fueron purificados utilizando perlas magnéticas y etanol al 80%, lo cual permite que se retengan fragmentos de ADN de mayor calidad. Los productos de ligación purificados fueron resuspendidos en 20 μ l de buffer TE. Para la elaboración final de las genotecas se utilizaron 5 μ l del producto de ligación, los cuales fueron amplificados utilizando una combinación de los primers iTru5 y iTru7 (Glenn et al., 2019), los productos finales fueron visualizados en un gel de agarosa al 1.5%, y se seleccionaron aquellas librerías que tuvieran una mayor concentración de fragmentos entre los 300 y 800 pb.

Desafortunadamente, en la visualización de los productos de PCR y de los productos Pos-PCR detectamos que las librerías genómicas estaban recuperando fragmentos de mayor tamaño (entre 600 y 1000 pb), esto con respecto a los productos obtenidos en general con el protocolo 3RAD (Fig. 1).

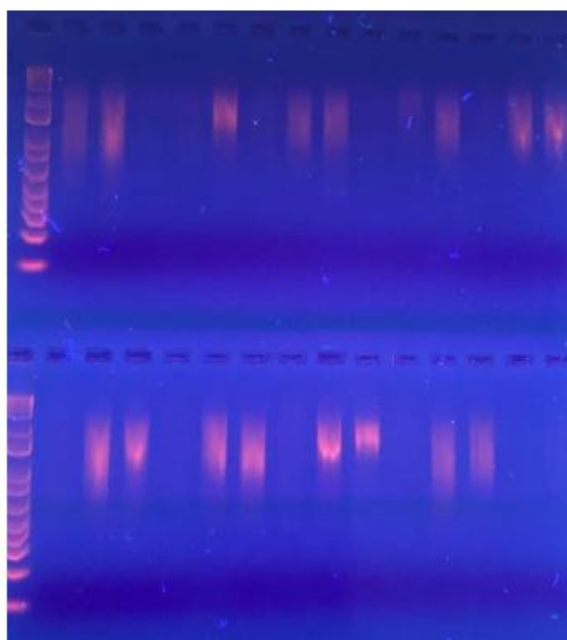


Fig.1 Librerías genómicas empleando perlas elaboradas con un tris mayor

En total se generaron las 90 librerías genómicas, las cuales presentaron tamaños de fragmentos muy por encima de 1000 pb (lo cual no es lo esperado), aunque las muestras parecían estar en buen estado. Una vez detectados los problemas en la recuperación de fragmentos más pequeños, se realizaron diversas pruebas con los diferentes reactivos, con el fin de detectar las posibles causas. Debido a lo anterior, se detectó que existió una alteración en el pH de uno del buffer que permiten la elaboración de las perlas magnéticas (Tris). Fue por esto que se realizó un stock nuevo empleando un reactivo que contara con el pH =8 y de esta forma realizar las genotecas. Actualmente, nos encontramos finalizando las librerías ya que se cuenta con ADN base que fue almacenado en el LABGEN. Los productos elaborados con este nuevo reactivo, mostraron una eficacia adecuada y se estima que sean enviados a su secuenciación a principios de agosto que es cuando regresan a las actividades la Universidad Nacional Autónoma de México.

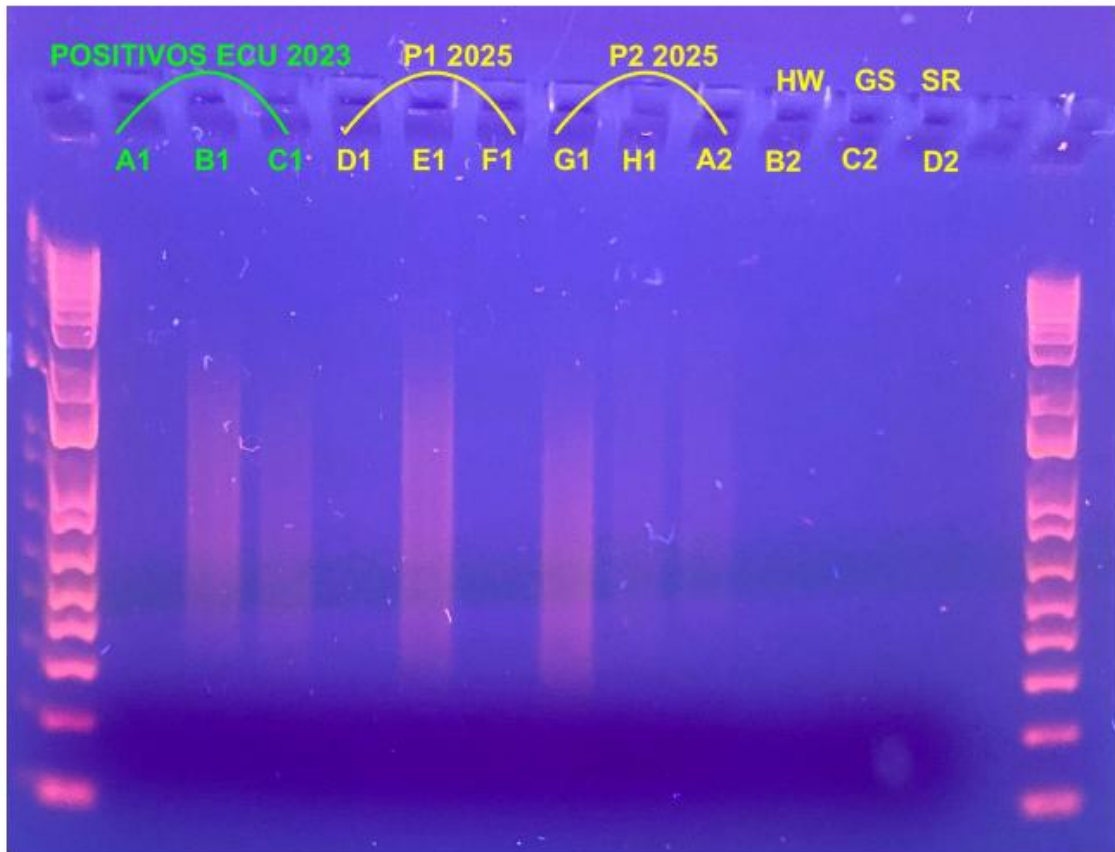


Fig. 2 Prueba del funcionamiento de las nuevas perlas magnéticas. En verde se señalan el control positivo, en amarillo las muestras que fueron utilizadas para las pruebas.