ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA
CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Evaluación de la heterocigosidad en *Cebus yuracus* mediante un set de microsatélites

TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR, PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERA BIOTECNÓLOGA

Elaborado por: *Alisson Camila Díaz Antun*
Directora: *Martin Solano Sarah, Ph.D.*

Sangolquí, 04 de agosto del 2026



INTRODUCCIÓN

Distribución

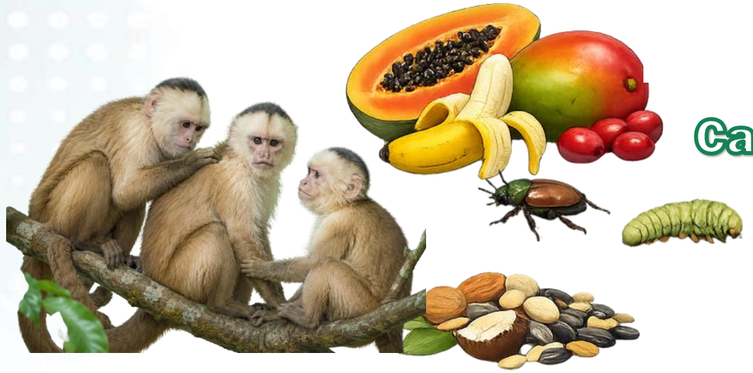


Cebus yuracus



CASI AMENAZADA
fauna web

Características



Omnívora, social, arborícola y diurno

Vacío de información





PELIGRO CRÍTICO
fauna web

Cebus aequatorialis

Problemas

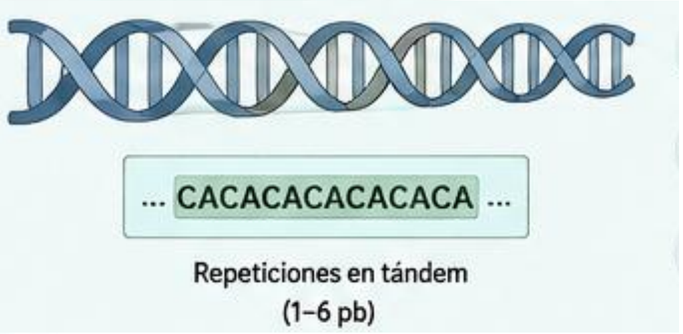


Fragmentación del hábitat

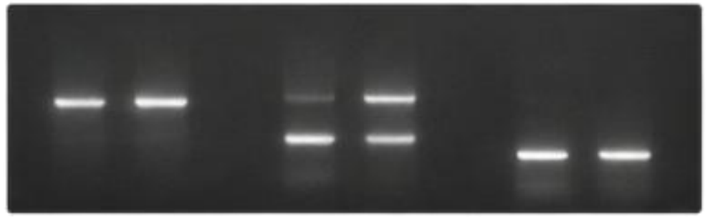
Cacería y trafico ilegal

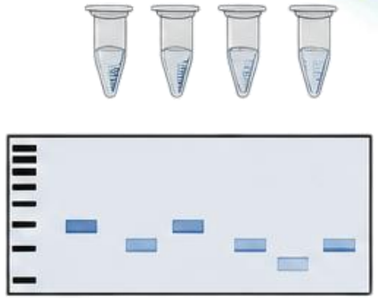
(Junker et al., 2020), (De la Torre, 2012), (Tirira, 2013)

Microsatélites



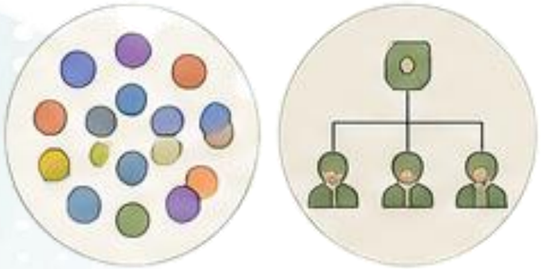
Codominante



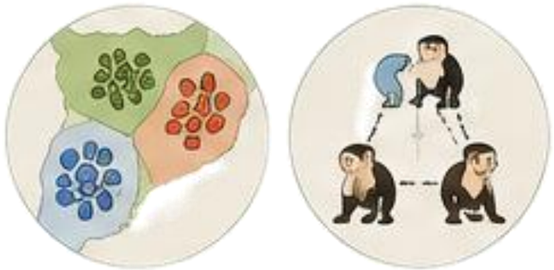


Polimórfico

Aplicaciones

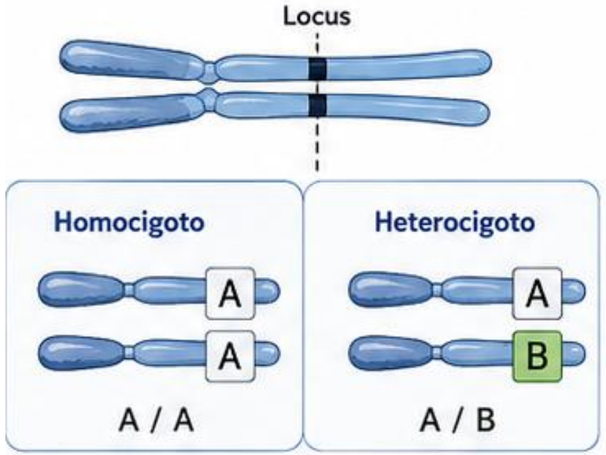


Diversidad y parentesco



Estructura y endogamia

Diversidad



Ho: proporción observada de heterocigotos

He: proporción esperada según frecuencias alélicas

Ho = heterocigotos / total

3 / 6 = 0,50

He = 1 – Σ pi^2

0,62

Ho < He déficit de heterocigotos

(Putman & Carbone, 2014), (Astorga, 2008), (García et al., 2021)

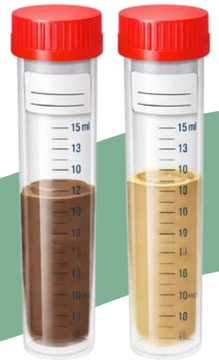
OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

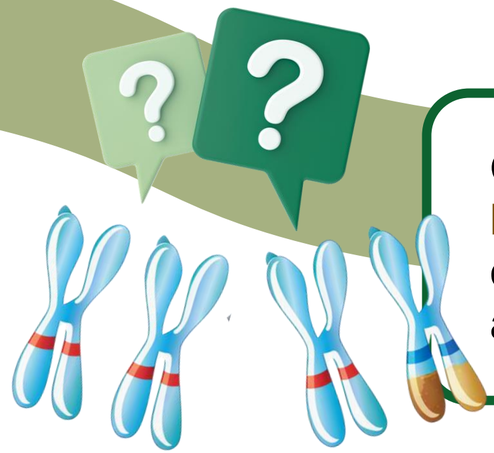
Evaluar la heterocigosidad en *Cebus yuracus* mediante un set de microsatélites



OBJETIVOS ESPECIFICOS



Establecer y **estandarizar** el protocolo de **amplificación** de **microsatélites** de *Cebus yuracus* procedentes de material no invasivo



Calcular los **niveles de heterocigosidad** observada y esperada en las poblaciones analizadas de *Cebus yuracus*

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS



Muestra Total: 29 muestras fecales no invasivas correspondientes a 20 individuos.

SELECCIÓN DE MICROSATELITES

Resultados previos



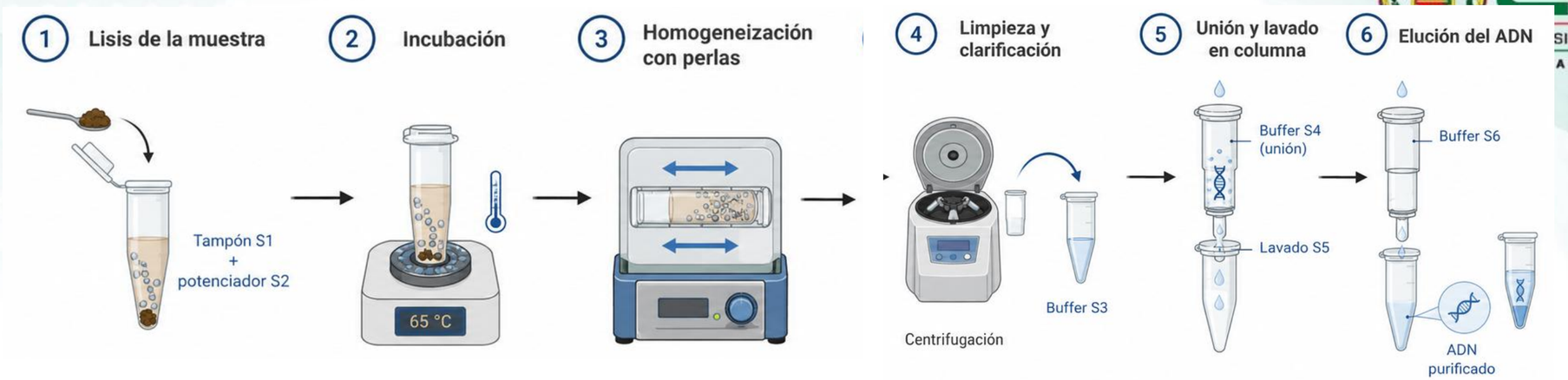
- ☑ **Polimorfismo**
- ☑ **Amplificación cruzada**

- Casanova (2024) y Endara (2024)
- Otros

Nombre	Especie de origen	Motivo de repetición	Autor
PEPC59	*Sapajus apella*	(GT)18	Escobar-Páramo (2000)
PEPC40	*Sapajus apella*	(CA)18(CT)14(CA)9	Escobar-Páramo (2000)
AP74	*Alouatta palliata*	(TG)19	Ellsworth & Hoelzer (1998)
D5S111	Humano	(CA)13(CA)6(AC)5	Witte & Rogers. (1999)
CEB07	*Cebus capucinus*	[AGAT]10	Muniz & Vigilant (2008)

Extracción de ADN

PureLink Spin Column Kit



Estandarización de la PCR

Condición	
AP74	MgCl2
D5S111	T. annealing, MgCl2
D5S111 Y AP74	T. annealing y MgCl2
PEPC40 y PEPC59	con o sin DMSO
CEB07	en base a Muniz & Vigilant (2008)

Termociclado
- Desnaturalización
- Hibridación
- Extensión

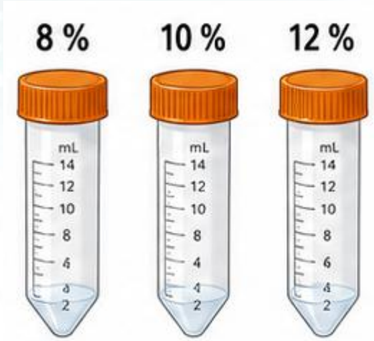


Electroforesis (agarosa 2.5%)

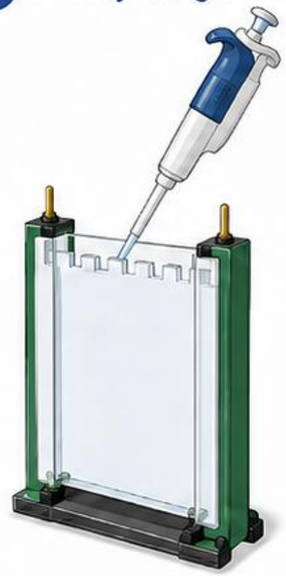


Electroforesis en gel de poliacrilamida

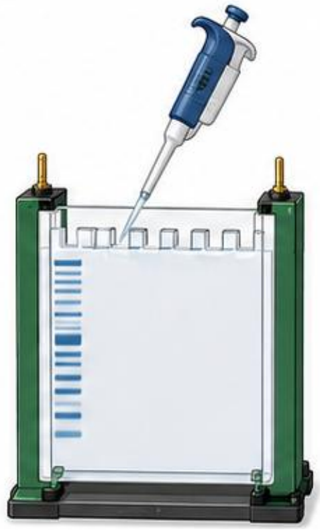
1 Preparación de geles → 2 Montaje del gel → 3 Carga de muestras → 4 Corrida electroforética → 5 Tinción → 6 Visualización y selección

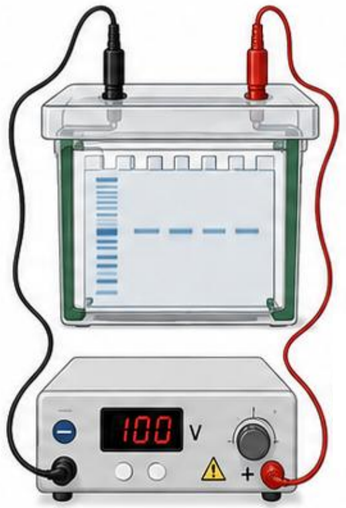


Temed y APS



Marcador + productos de PCR

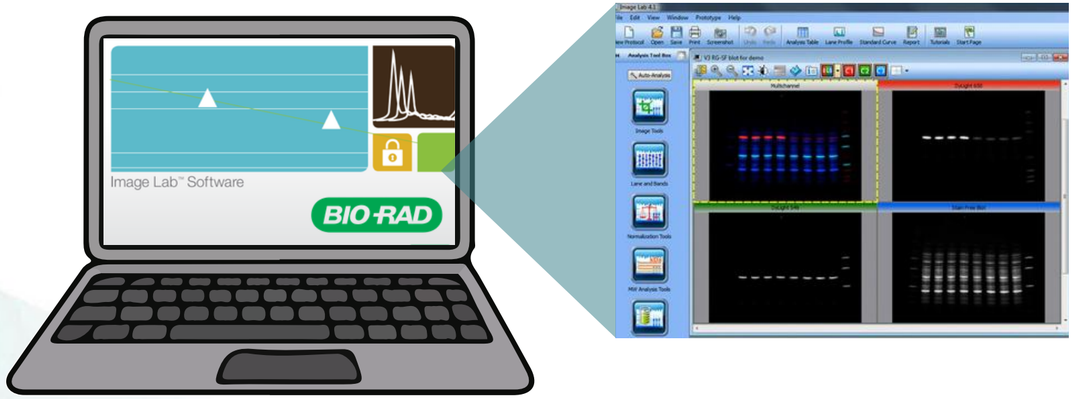




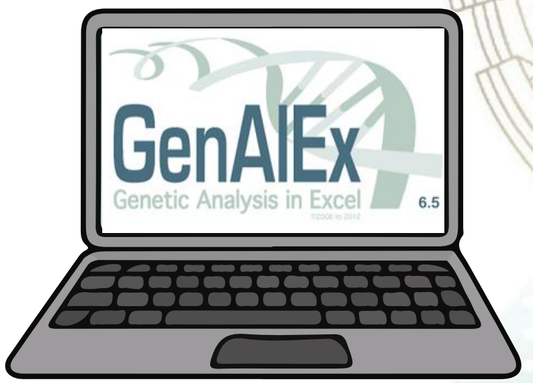




Estimación del tamaño alélico



Análisis de heterocigosidad

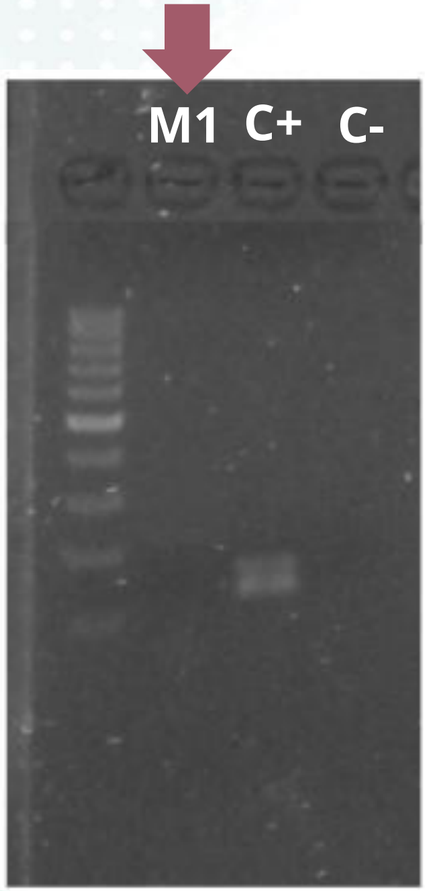




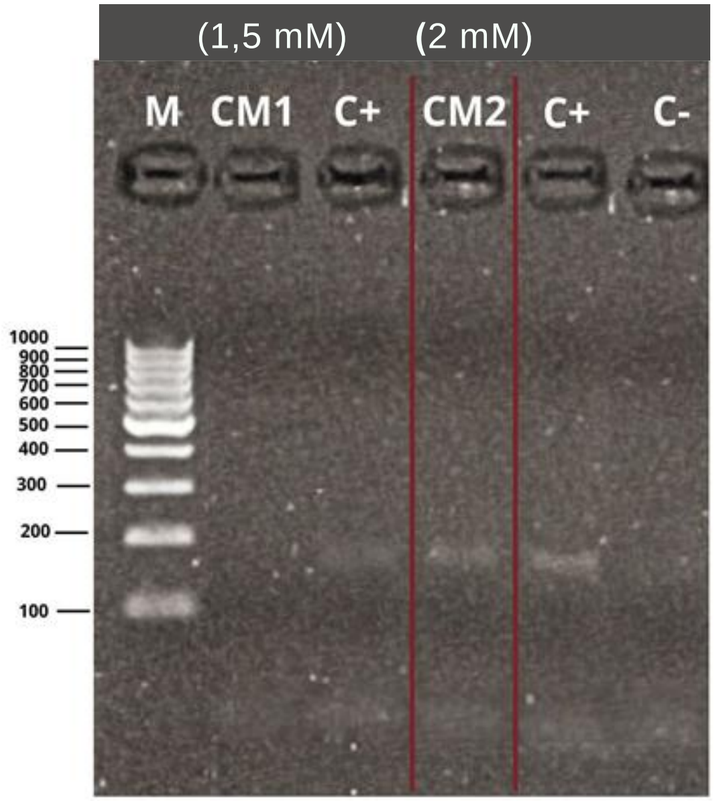
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estandarización en Simplex

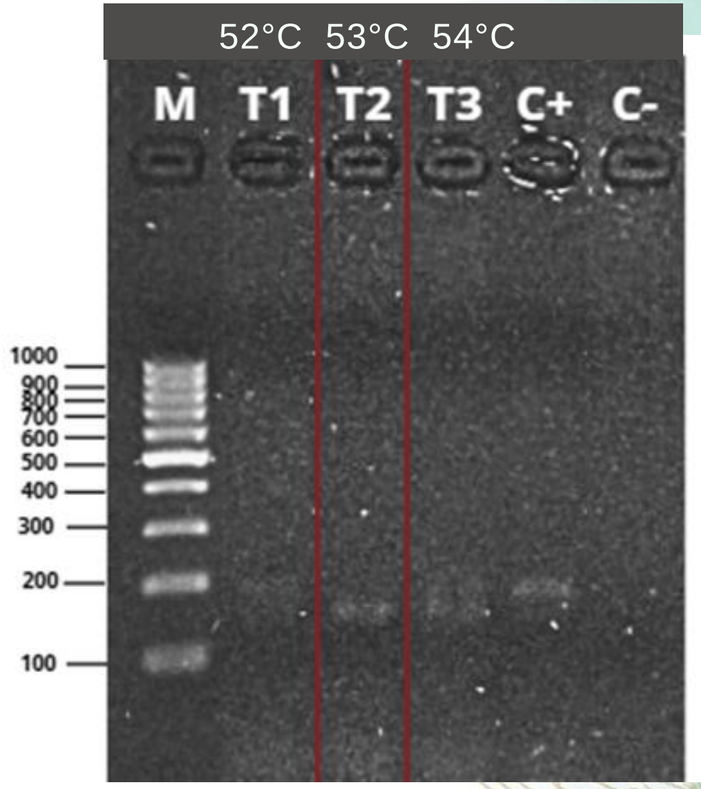
D5S111



Concentración de Magnesio



Temperatura de Annealing

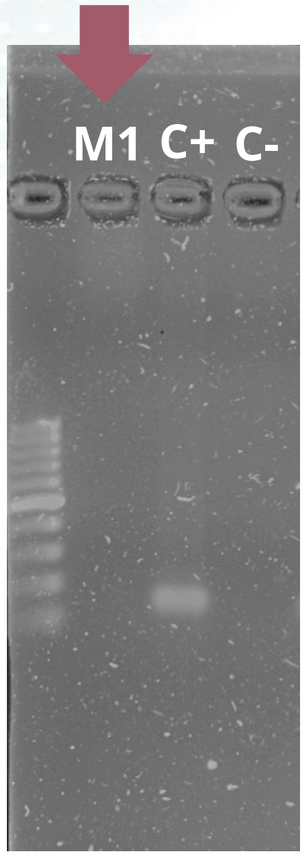


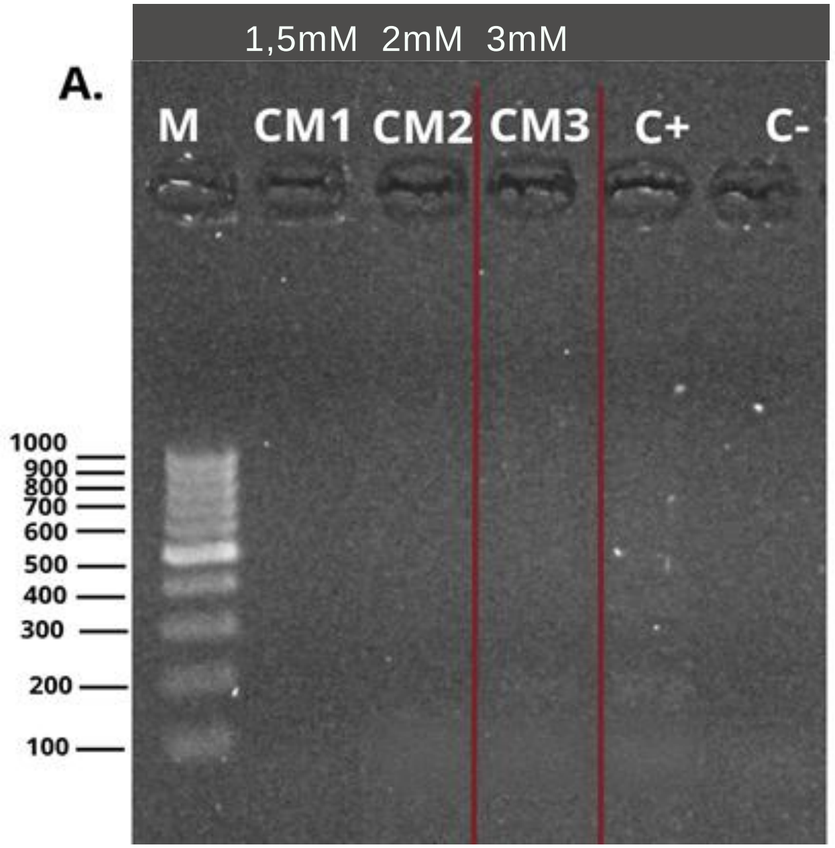
Condiciones y concentraciones:
Ruiz-García et al. (2007).

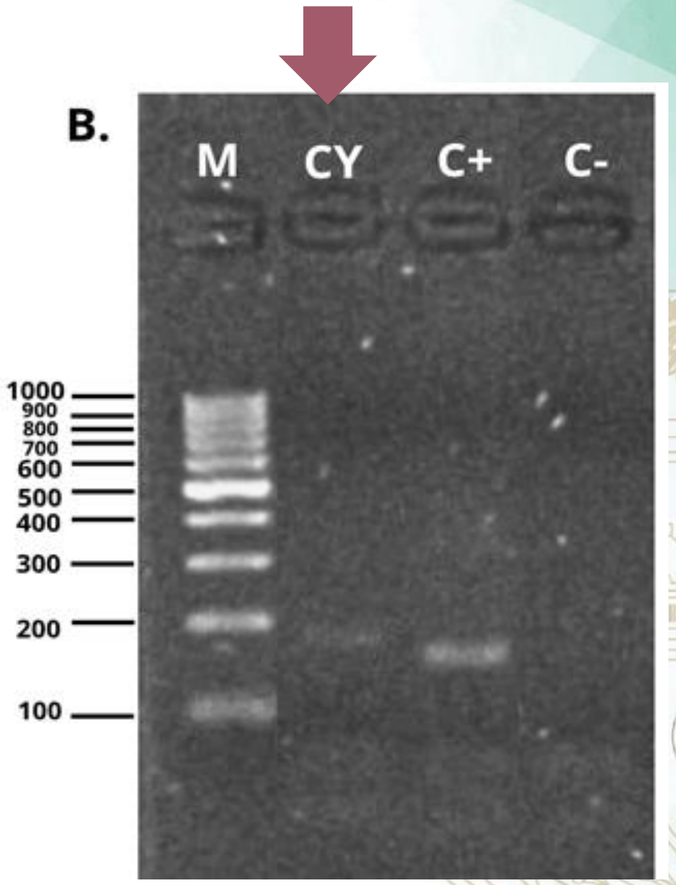
Estandarización en Simplex

AP74

Concentración de Magnesio







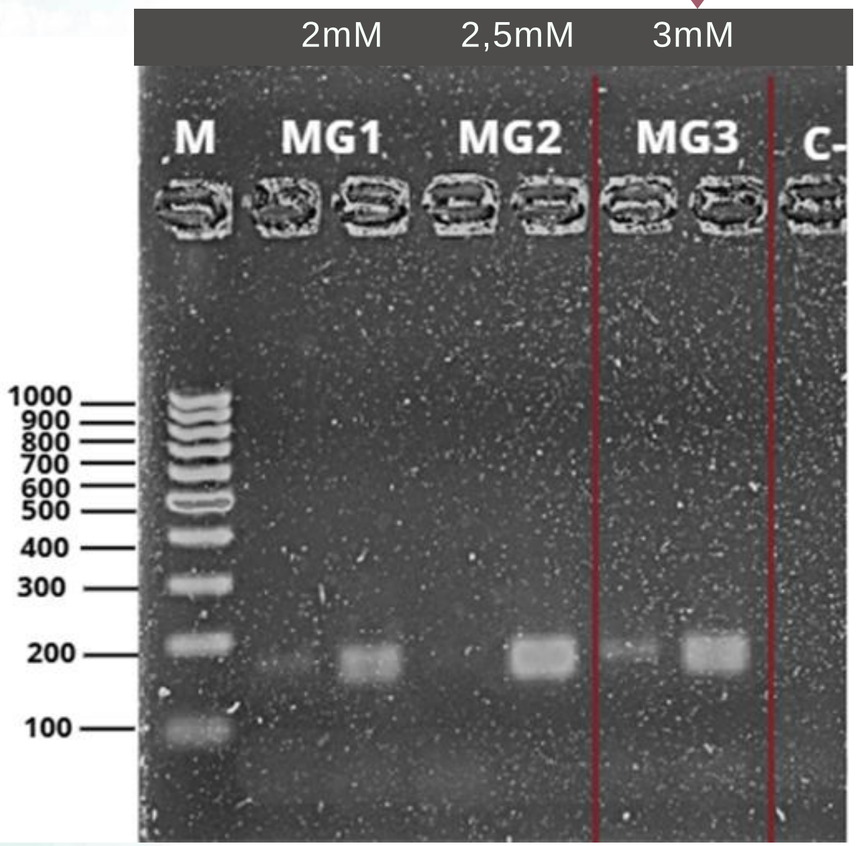
Condiciones y concentraciones:

Ruiz-García et al. (2007).

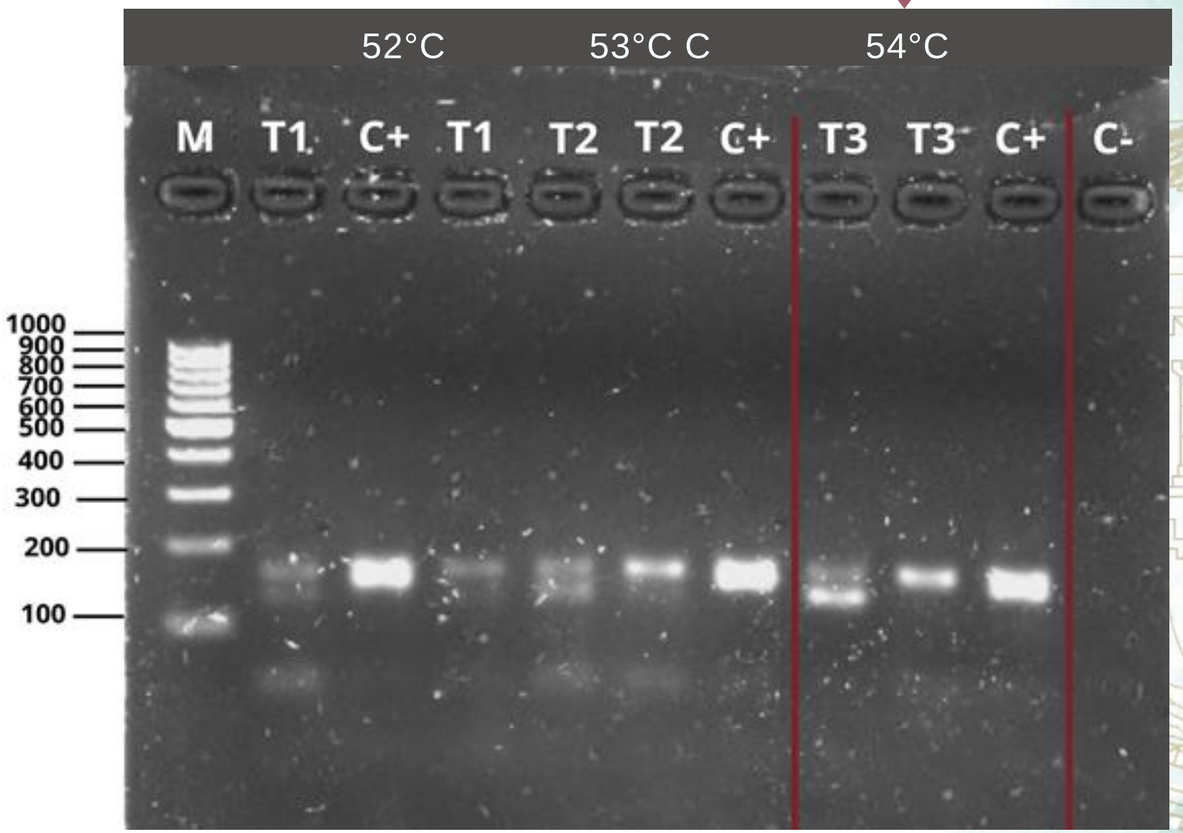
Estandarización en Duplex

DUPLEX D5S111 Y AP74

Concentración de Magnesio



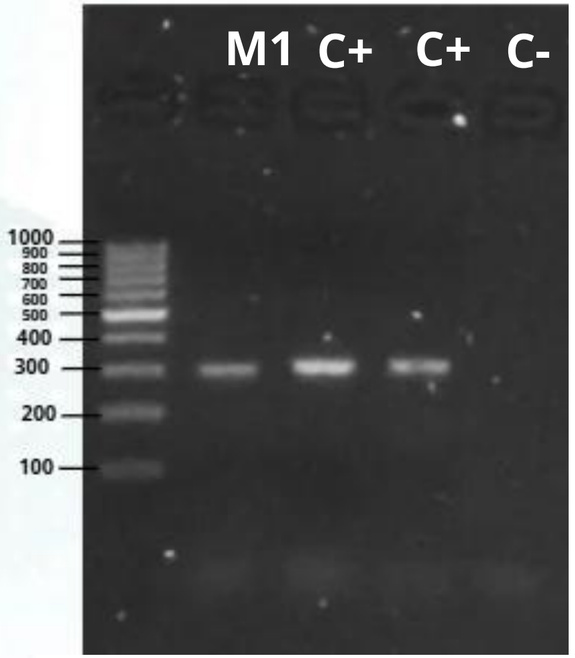
Temperatura de Annealing



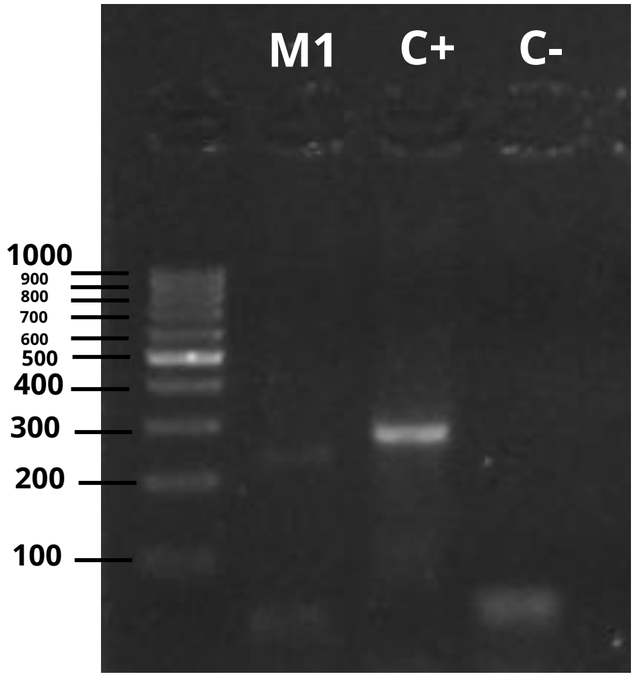
Estandarización en Duplex

DUPLEX PEPC40 Y PEPC59

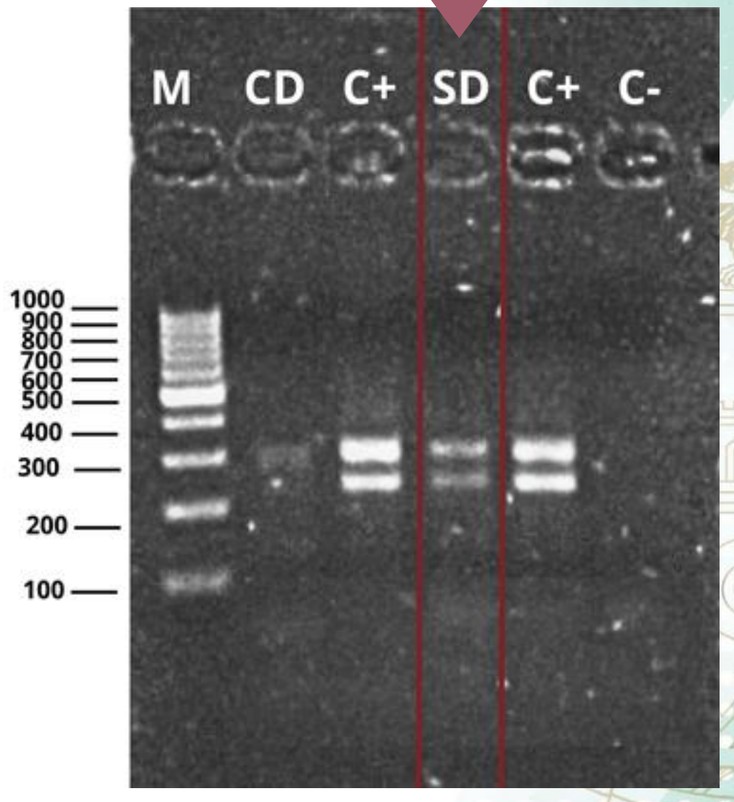
PEPC59



PEPC40



¿DMSO?

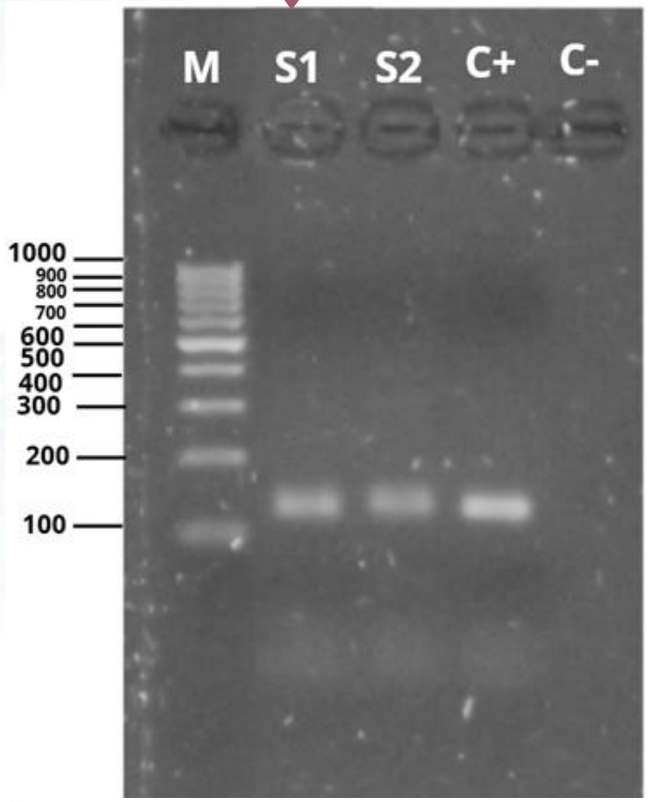


Condiciones y concentraciones:

Endara (2024)

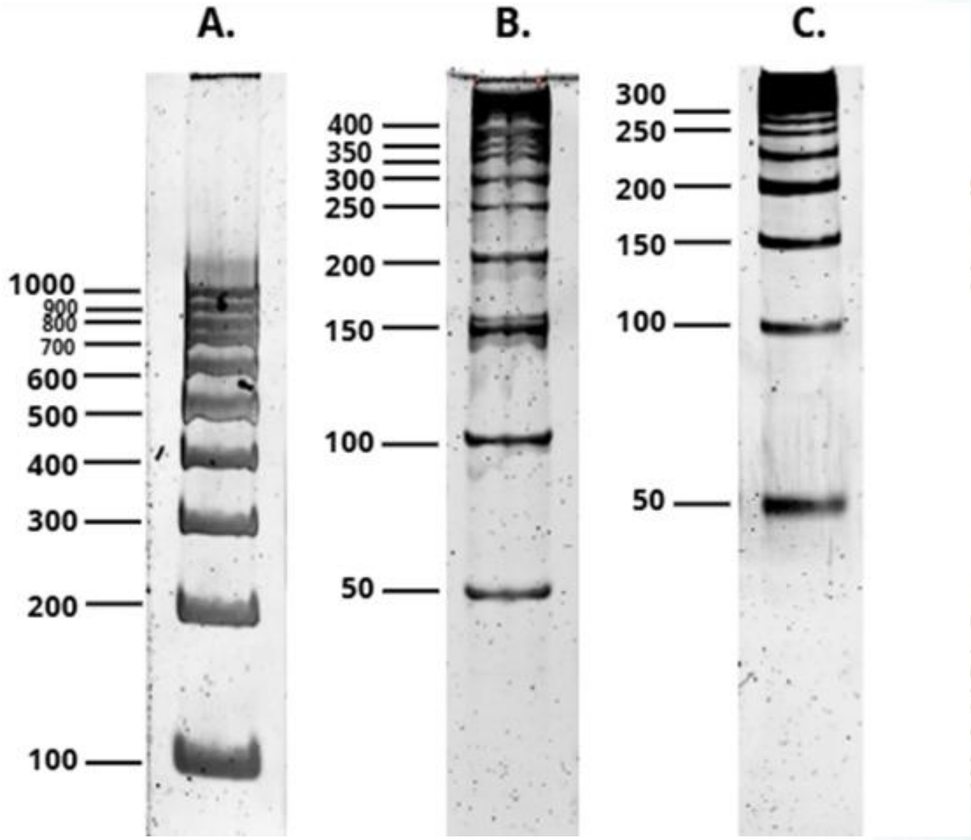
Estandarización en Simplex

CEB07



Condiciones y concentraciones:
Muniz & Vigilant (2008)

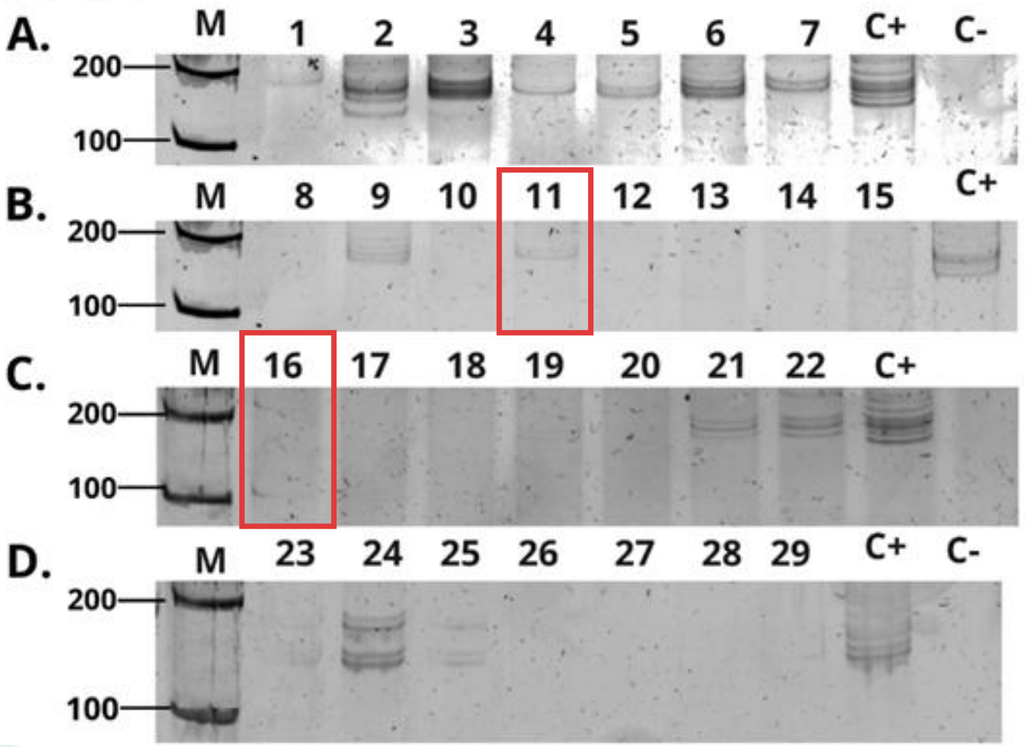
Optimización del gel de poliacrilamida



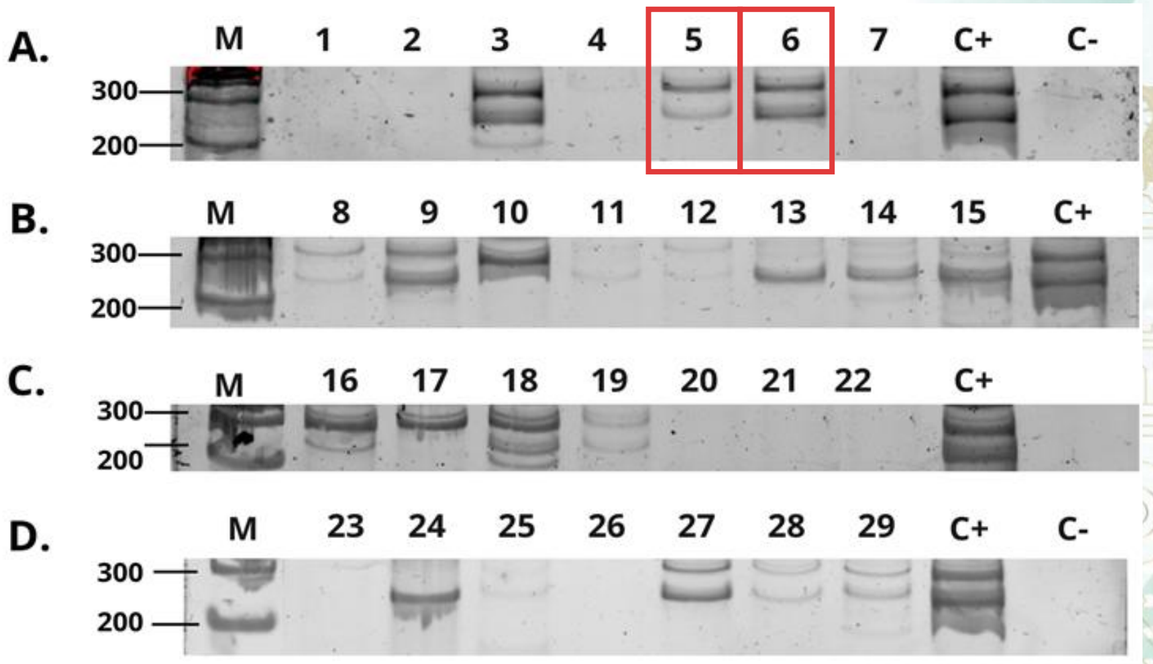
8% 10% 12%

Éxito de amplificación en las muestras fecales

DUPLEX D5S111 Y AP74

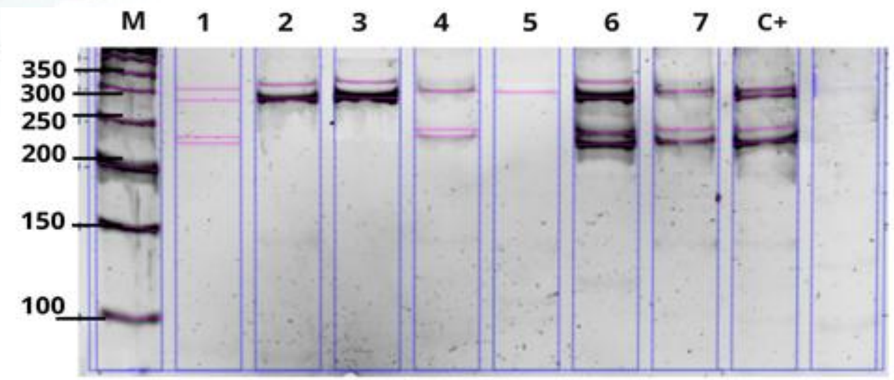


DUPLEX PEPC40 Y PEPC59

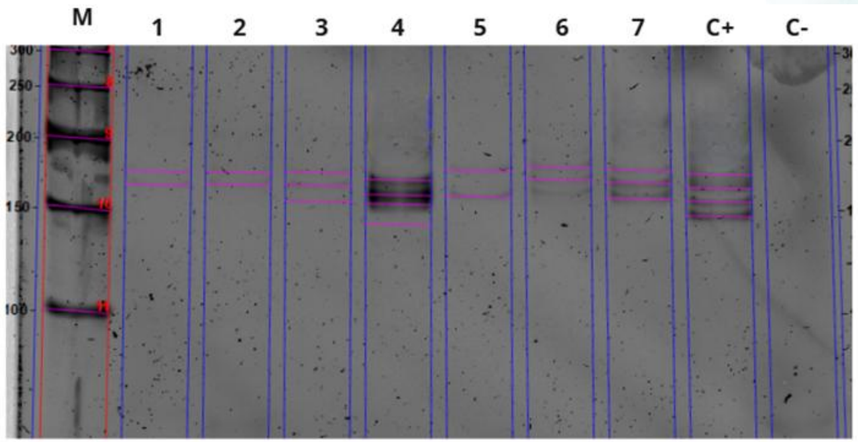


Genotipificación

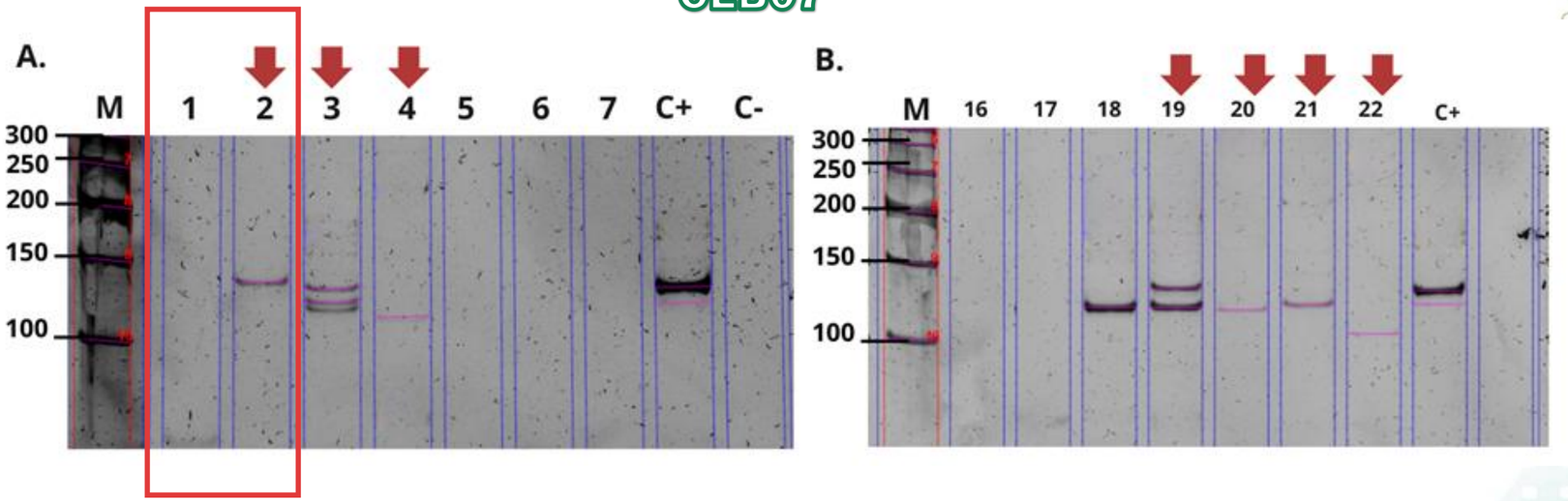
D5S111 Y AP74



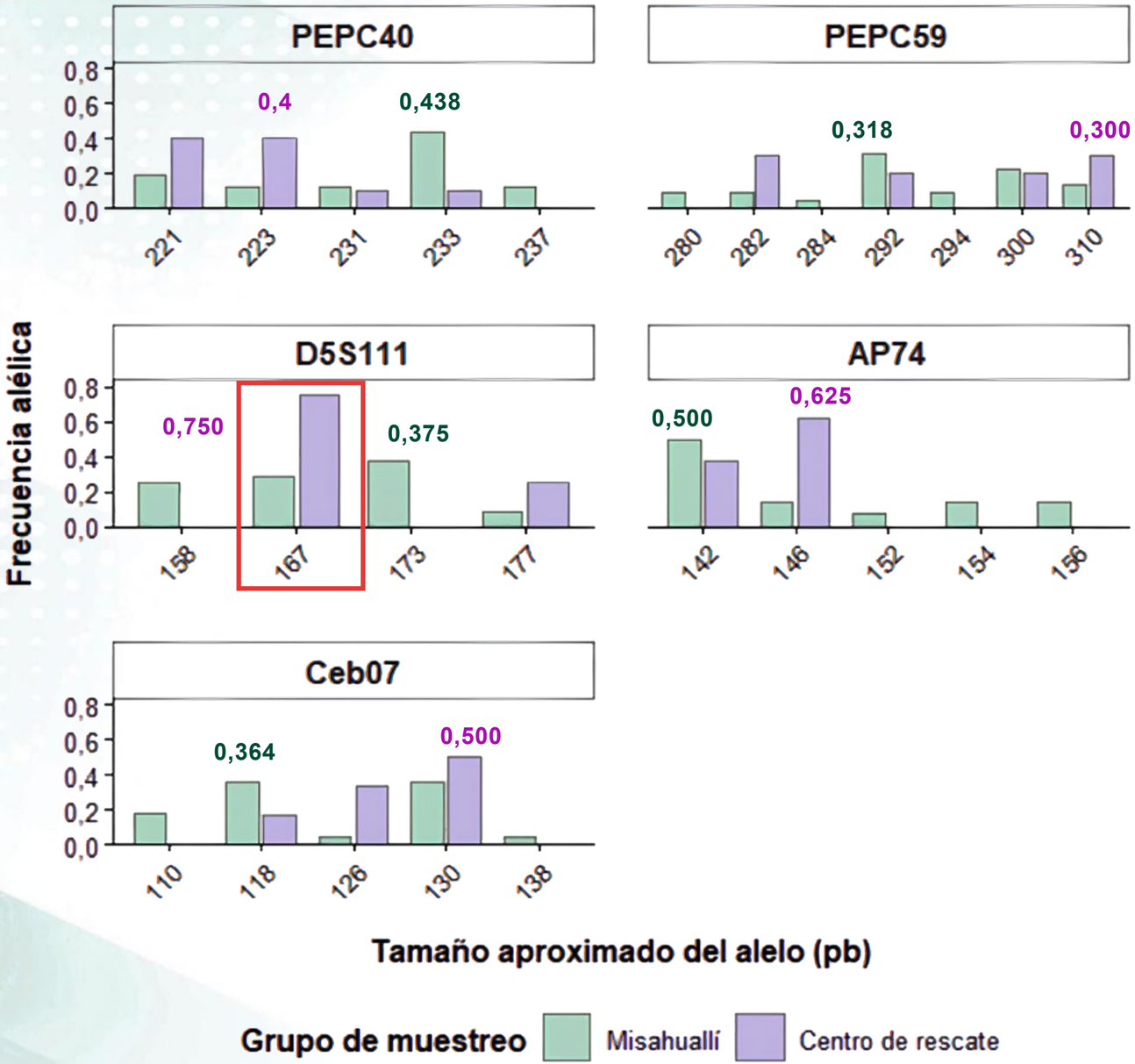
DUPLEX PEPC40 Y PEPC59



CEB07

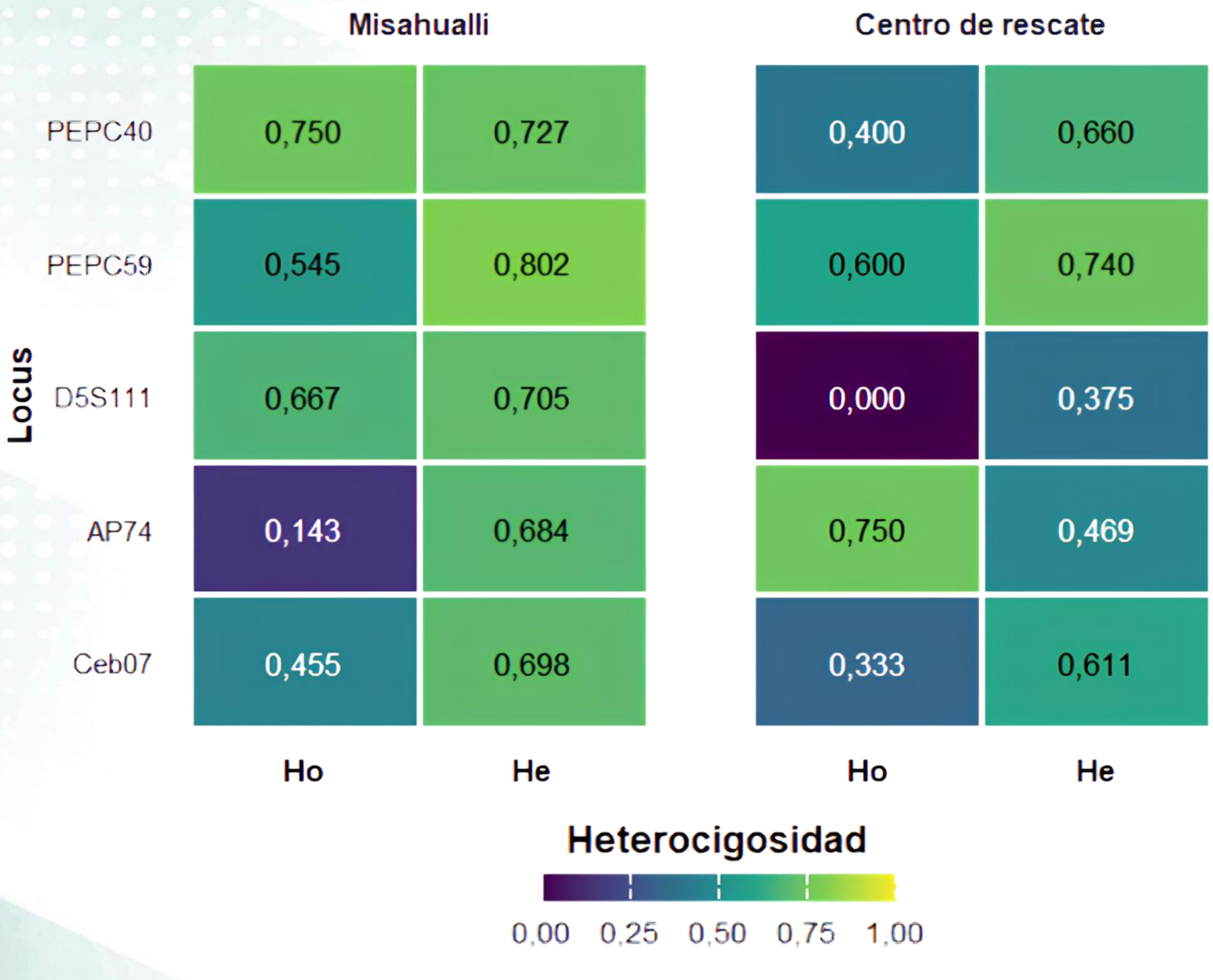


Frecuencia alélica



Locus	Número de alelos
PEPC59	7
PEPC40	5
AP74	5
Ceb07	5
D5S111	4

Heterocigosidad



Locus	H Misahuallí	H Centro de R.
PEPC40	6/8	2/5
PEPC59	6/11	3/5
D5S111	8/12	0/4
AP74	1/7	3/4
Ceb07	5/11	1/3

Misahuallí
Ho = 0,512
He = 0,723
uHe = 0,764

Centro de rescate
Ho = 0,417
He = 0,571
uHe = 0,651

La heterocigosidad observada fue menor que la esperada en la mayoría de los loci

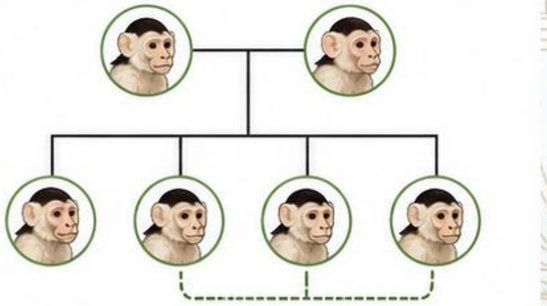
Equilibrio de Hardy-Weinberg

Población	Locus	gl	ChiSq	p - valor
Misahuallí	PEPC40	10	13.469	0.2
	PEPC59	21	38.756	0.010
	D5S111	6	9.672	0.14
	AP74	10	21.143	0.02
	CEB07	10	14.094	0.17
Centro de rescate	PEPC40	6	6.250	0.4
	PEPC59	6	10.000	0.12
	D5S111	1	4.000	0.046
	AP74	1	1.440	0.23
	CEB07	3	3.333	0.34

Microsatélite anónimo neutral

Poco flujo génico





Parentesco

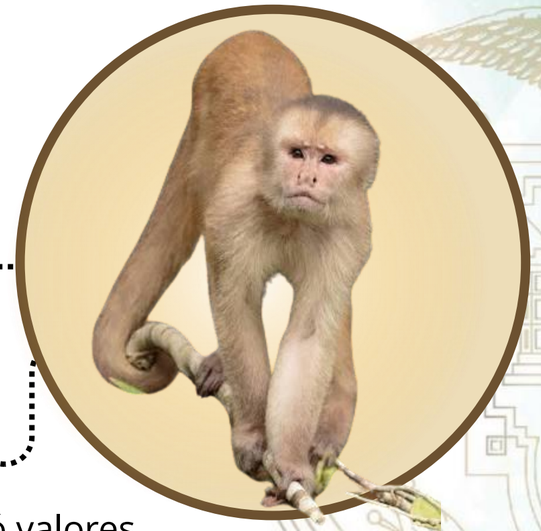
CONCLUSIONES

1 Amplificación lograda

Variables	AP74–D5S111	PEPC40 – PEPC59	CEB07
Temperatura de annealing (°C)	54	57	Touchdown: 57-56-55
Concentración de MgCl2 (mM)	3	1,5	1,5
DMSO		-	

- Polimorficos
- Transferibles

- PEPC59: 7 alelos
- PEPC40, AP74 y Ceb07: 5 alelos
- D5S111: 4 alelos



2 Heterocigosidad

Misahuallí
Ho = 0,512 | He = 0,723

Centro de rescate
Ho = 0,417 | He = 0,571

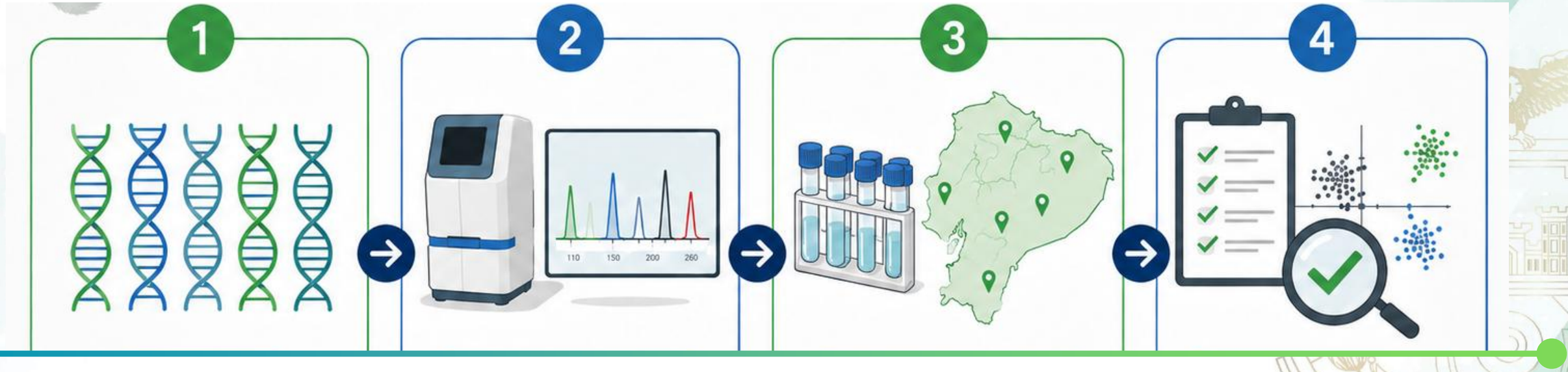
Misahuallí mostró valores descriptivamente mayores

Ho < He en la mayoría de loci

Influyen muestra pequeña o parentesco

RECOMENDACIONES

Ampliar el set **Usar otras tecnicas** **Más poblaciones - mas información**



Mas de 20 microsatélites (Kirk & Freeland, 2011)

AGRADECIMIENTOS





SIN USTEDES, ESTE LOGRO NO HABRÍA SIDO POSIBLE.



PHD. SARAH MARTÍN
MGS. CRISTINA CHOLOTA
DANI, CLAU, FER Y ODA