

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**DETERMINACIÓN DE FILIACIÓN MEDIANTE MARCADORES**  
**MICROSATÉLITE EN ALPACAS HUACAYA DEL ANEXO**  
**QUIMSACHATA INIA - PUNO**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. ALEX YUCRA MENDOZA**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2017**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO - PUNO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**TESIS**

“Determinación de filiación mediante marcadores microsatélite en alpacas

Huacaya del anexo Quimsachata INIA – Puno”

**PRESENTADA POR:**

Bach. Alex Yucra Mendoza



**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

**APROBADA POR:**

**PRESIDENTE**

:

\_\_\_\_\_

Dr. Maximo Melo Ancasi

**PRIMER MIEMBRO**

:

\_\_\_\_\_

Mg. Pedro Ubaldo Coila Añasco

**SEGUNDO MIEMBRO**

:

\_\_\_\_\_

MVZ. Gerardo Godofredo Mamani choque

**DIRECTOR**

:

\_\_\_\_\_

Dr. Roberto Floro Gallegos Acero

**ASESOR**

:

\_\_\_\_\_

MVZ. Rubén Herberht Mamani Cato

**ASESOR**

:

\_\_\_\_\_

Dr. Jorge Enrique Rodríguez Bailón

**Área** : Genética y mejoramiento animal

**Tema** : Marcadores microsatélite en alpacas

## DEDICATORIA

**Con mucha admiración y respeto a mi familia y a verónica cuya paciencia, comprensión y confianza en mí, son sorprendentes.**

**A. Y. M.**

## AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional del Altiplano de Puno, en especial a la escuela profesional de Medicina Veterinaria y Zootecnia, que gracias a las enseñanzas de sus docentes forman profesionales de gran sabiduría científica y técnica en las ciencias de la Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Al Instituto Nacional de Innovación Agraria Anexo Quimsachata, por el apoyo de su personal científico, administrativo y trabajadores quienes me dieron la facilidad y me abrieron sus puertas para la realización de la presente tesis.

Al Programa Nacional De Innovación Agraria, Instituto Nacional De Innovación Agraria, Banco Mundial y el Banco Interamericano De Desarrollo por su financiamiento mediante el proyecto 133-PI, Formación de un núcleo genético élite de alpacas Huacaya reproductores para la producción de fibra de alta calidad en el CIP- Quimsachata del INIA.

Al Dr. Roberto Floro Gallegos Acero, mi maestro y director, por la confianza incondicional que depositó en mí al aceptar guiarme en este largo camino y por su constante presencia, paciencia y consejos durante el diseño y desarrollo del trabajo.

Al MVZ. Rubén Herbert Mamani Cato, mi amigo, maestro y asesor, q por su iniciativa de realizar el presente proyecto y su apoyo profesional incondicional en las diferentes etapas del trabajo, por sus valiosos consejos y observaciones.

Al Dr. Jorge Enrique Rodríguez Bailón, amigo, maestro y asesor que por su apoyo en el desarrollo del trabajo de investigación.

Al Mg. Jose Ivan Quiñonez Garcia por su apoyo.

A mis amigas y amigos y colegas, por su permanente apoyo y comprensión para la realización del trabajo de investigación.

## INDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS.....	7
ÍNDICE DE TABLAS .....	8
ÍNDICE DE ACRÓNIMOS .....	10
RESUMEN.....	12
ABSTRACT.....	13
I. INTRODUCCIÓN .....	14
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	16
2.1. MARCO TEORICO .....	16
2.1.1 La alpaca.....	16
2.1.2. Marcadores Microsatélites .....	18
2.1.2.1. Clasificación de microsatélites .....	18
2.1.2.2. Características de los microsatelite .....	19
2.1.3. Control de filiación .....	19
2.1.3.1 Parentesco e identidad .....	20
2.1.3.1.1 Parámetros de paternidad .....	21
2.1.3.1.3. Contenido de información polimórfica .....	22
2.1.3.1.4. Valor LOD en paternidad .....	23
2.1.3.1.5. Valor Delta: .....	24
2.2. ANTECEDENTES.....	25
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
3.1. Ámbito de estudio .....	28
3.2. Animales .....	28
3.3. Materiales .....	28
3.3.1. Materiales de campo .....	28
3.3.2. Materiales de laboratorio.....	29
3.3.3. Reactivos .....	29
3.3.4. Equipos.....	30
3.4. METODOLOGÍA .....	30
3.4.1. Toma de muestras:.....	30
3.4.2. Obtención del buffy coat. ....	30
3.4.3. Extracción de ADN genómico.....	31
3.4.4 .Extracción y cuantificación de ADN. ....	32
3.4.5 Amplificación de ADN microsatélite .....	33
3.4.6. Diseño de paneles de amplificación múltiple .....	34
3.4.7. Amplificación de 12 loci microsatélite para determinación de parentesco e identidad.....	37

3.4.8. Análisis de datos de loci microsatélite:.....	38
3.4.9. Análisis de parentesco .....	38
3.4.10. Reconstrucción genealógica: .....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1. Determinación de parentesco .....	41
4.2. Reconstrucción Genealógica.....	47
V. CONCLUSIONES .....	52
VI. RECOMENDACIONES .....	53
VII. REFERENCIAS .....	54
VIII. ANEXOS .....	59

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Representación esquemática de una prueba de parentesco y su fundamento.....	22
<b>Figura 2.</b> ADN genómico extraído de buffy coat de crías mediante método de columnas sílica.....	33

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los microsatelites según el número de repeticiones.....	19
<b>Tabla 2.</b> Condiciones de amplificación de 12 loci microsátélites utilizados en el estudio.....	34
<b>Tabla 3:</b> Ciclos termales utilizados en la amplificación de 12 loci microsátélites utilizados en el estudio.....	34
<b>Tabla 4.</b> Loci microsátélites, secuencia de primer y tipo de fluorocromo incluidos en cada panel de PCR múltiple utilizados para la determinación de filiación de alpacas huacaya del Anexo Quimsachata INIA Puno .....	36
<b>Tabla 5.</b> Condiciones optimizadas y ciclos termales de las PCR múltiple diseñada para cada panel de loci microsátélites .....	37
<b>Tabla 6.</b> . Numero de alelos por locus, Probabilidad de exclusión individual y acumulada de 181 genotipos de alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata INIA- Puno.....	41
<b>Tabla 7:</b> Filiación cría-madre de 32 casos de asignación de maternidad determinado con el programa Cervus v3.0.7.donde se detalla valores de Loci no compatibles (LNC), valores de LOD, valores de Delta y nivel de confianza en alpacas Huacaya del anexo Quimsachata INIA-PUNO. ....	44
<b>Tabla 8.</b> filiacion de cría-padre de 24 casos de asignación de paternidad determinados con el programa Cervus v3.01 donde se detalla valores de Loci no compatibles (LNC), valores de LOD, valores de Delta, y nivel de confianza en alpacas Huacaya del anexo Quimsachata INIA-PUNO.....	45
<b>Tabla 9:</b> filiacion familia nuclear padre-madre cria en 14 familias registradas determinadas con el programa Cervus v3.01. Donde se muestran Valores de LOD, Delta, y nivel de confianza en alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata INIA-Puno. ....	46
<b>Tabla 10.</b> Reconstrucción de genealogía de alpacas de Anexo Quimsachata del INIA Puno .....	48



**Tabla 11.** Contenido de pedigrí de la reconstrucion genealógica de registros generados mediante marcadores microsatelite y los registros genealógicos de Anexo Quimsachata INIA Puno.....51

**ÍNDICE DE ACRÓNIMOS**

<b>ADN</b>	: Acido Desoxirribonucleico
<b>dATP</b>	: Desoxiadenosina trifosfato
<b>dCTP</b>	: Desoxicitidina trifosfato
<b>dGTP</b>	: Desoxiguanina trifosfato
<b>dTTP</b>	: desoxitimidina trifosfato
<b>EDTA</b>	: ácido etilendiaminotetraacético
<b>FAO</b>	: Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación
<b>gm</b>	: Genotipo de la madre
<b>ga</b>	: Genotipo del alegado padre
<b>go</b>	: Genotipo de la cría
<b>INEI</b>	: Instituto Nacional de Estadística e Informática
<b>INIA</b>	: Instituto Nacional de Innovación Agraria.
<b>I0</b>	: Identificación del individuo
<b>J_AR</b>	: coeficiente de relación del individuo con la población
<b>J_GenCom</b>	: número de generaciones completas
<b>J_GenEqu</b>	: Generaciones equivalentes completas
<b>J_GenMax</b>	: número de generaciones máximas
<b>KCl</b>	: cloruro de potasio
<b>LNC</b>	: Loci no compatibles.
<b>LOD</b>	: Logaritmo natural del índice de paternidad combinado
<b>MgCl<sup>2</sup></b>	: Cloruro de magnesio.
<b>mM</b>	: milimolar
<b>mtDNA</b>	: Acido Desoxirribonucleico mitocondrial

<b>M0</b>	: Madre asignado del individuo
<b>ng</b>	: nano gramo
<b>PCR</b>	: Reacción en Cadena de la Polimerasa
<b>PE</b>	: Probabilidad de Exclusión.
<b>PE1</b>	: Probabilidad de exclusión total para excluir un candidato a pariente dado solo el genotipo de la cría
<b>PEA</b>	: Probabilidad de exclusión acumulada o total
<b>pH</b>	: potencial hidrógeno
<b>P0</b>	: padre asignado del individuo
<b>pi</b>	: Frecuencia del alelo I.
<b>PI</b>	: Índice de paternidad.
<b>PIC</b>	: Contenido de Información Polimórfica.
<b>SSRs</b>	: secuencias simples repetidas
<b>STRs</b>	: Secuencias cortas repetidas en tándem
<b><math>\Delta</math></b>	: Estadístico delta.
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	: Microlitro.
<b><math>\mu\text{M}</math></b>	: Micromolar.
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	: Microgramo.

## RESUMEN

La filiación es la relación genética de progenitores y progenie, el estudio se realizó con el objetivo de determinar la filiación y la reconstrucción de genealogía en alpacas huacaya mediante marcadores microsatelite en el Anexo Quimsachata INIA, Puno y la Unidad de Biotecnología Molecular de la Universidad Peruano Cayetano Heredia, Lima. Con un panel de 12 marcadores microsatelite (LCA99, LCA71, LCA94, LCA66, YWLL36, LCA05, LCA77, LCA19, YWLL40, YWLL29, YWLL44 y LCA08) en 181 alpacas, se utilizó el programa Cervus v 3.0.7<sup>®</sup> para la asignación de filiación y el programa Endog.4.8<sup>®</sup> para la reconstrucción genealógica. Los resultados indican la probabilidad de exclusión acumulada de 0.9999845, la asignación de maternidad, paternidad y el trio familiar fue de 32, 24 y 15 casos, con valores LOD de 2.8 a 12.4; 4.29 a 13.9 y 8.75 a 17.3 y con valores de Delta ( $\Delta$ ) de 2.58 a 11.9; 2.99 a 13.9 y 8.75 a 17.3 respectivamente. Con 99% de nivel de confianza. En la reconstrucción genealógica se determinó el error de asignación de paternidad, maternidad y trio familiar de 37.5 %, 25 %, 5.36 % respectivamente y el contenido de pedigrí está compuesto por 27.59 % de padres y 36.78 % de madres, número de crías por padre de 1 a 5 y número de crías por madre 1; el número de individuos con generaciones completas e incompletas fue de 14 y 27 respectivamente; la consanguinidad fue de 0.00 % y el parentesco medio de la población fue de 1.99 %. En conclusión el uso de 12 marcadores microsatelite permite la asignación de filiación y reconstrucción de genealogía de alpacas huacaya.

**Palabras clave:** Alpaca, filiación, marcadores microsatelite, reconstrucción genealógica.

## ABSTRACT

The filiation is the genetic relationship of parents and progeny, the study was conducted with the objective of determining the affiliation and reconstruction of genealogy in alpacas huacaya using microsatellite markers in the Annex Quimsachata INIA, Puno and the Molecular Biotechnology Unit of the Peruvian University Cayetano Heredia, Lima. With a panel of 12 microsatellite markers (LCA99, LCA71, LCA94, LCA66, YWLL36, LCA05, LCA77, LCA19, YWLL40, YWLL29, YWLL44 and LCA08) in 181 alpacas, the Cervus v 3.0.7 ® program was used for the assignment of filiation and the Endog.4.8® program for genealogical reconstruction. the results indicate the cumulative exclusion probability of 0.9999845, the assignment of maternity, paternity and the family trio was 32, 24 and 15 cases, with LOD values of 2.8 to 12.4; 4.29 to 13.9 and 8.75 to 17.3 and with Delta values ( $\Delta$ ) from 2.58 to 11.9; 2.99 to 13.9 and 8.75 to 17.3 respectively. With 99% confidence level. In the genealogical reconstruction the error of assignment of paternity, maternity and family trio was determined of 37.5%, 25%, 5.36% respectively and the pedigree content is composed of 27.59% of parents and 36.78% of mothers, number of offspring per father from 1 to 5 and number of offspring per mother 1; the number of individuals with complete and incomplete generations was 14 and 27 respectively; the inbreeding was 0.00% and the average kinship of the population was 1.99%. In conclusion the use of 12 microsatellite markers allows the assignment of affiliation and reconstruction of the genealogy of alpacas huacaya.

**Keywords:** alpaca, filiation, microsatellite markers, genealogical reconstruction

## I. INTRODUCCIÓN

La alpaca (*Vicugna pacos*) es uno de los cuatro camélidos sudamericanos más importante desde el punto de vista económico y social, ya que sirven de sustento para las familias de las comunidades alto andinas (FAO, 2005). El Perú cuenta con 3 685 516 alpacas, lo que equivale a un aumento del 50.2% en el número de individuos en relación al censo anterior realizado en 1994. De estos individuos casi el 100% se concentra en la Sierra, donde la mayor proporción de alpacas pertenece a la raza Huacaya (78.9%) (INEI, 2012). La crianza de alpacas constituye una de las pocas actividades ganaderas que se lleva en terrenos geográficos ubicados en las grandes alturas lo que por sí solo constituye un motivo más que justificado para realizar estudios en esta especie. (Quispe y col., 2008)

La determinación de filación constituye la piedra angular para la elaboración de registros genealógicos en animales domésticos, con pruebas que permitan disminuir el porcentaje de error en la asignación de paternidad y maternidad ya que esto conlleva a la invalidación de registros. Con el transcurrir del tiempo, las pruebas de asignación de paternidad se han convertido en un importante tema de estudio, tanto en animales y humanos (Marín y col., 2007; Di Rocco y col., 2011). Un gran número de técnicas para determinación de parentesco mediante análisis de microsatélites han venido desarrollándose para diferentes especies domésticas como caninos (Morera y col., 1999; Pádár y col., 2001), bovinos (Kankan y Fado, 1999; Mommens y col., 1998), caprinos (Ganai y Yadav, 2005), porcinos (Aguilera-Reyes y col., 2006), equinos (Binns y col., 2000) y camélidos (Rodríguez y col., 2006, Iannacone. 2006, Agapito y col.,

2010, Yalta y col., 2014 y Moron y col.,2016) con elevada capacidad de discriminación expresada como probabilidades de exclusión.

Los marcadores de ADN han permitido la generación de información para la construcción de programas de manejo y conservación en diferentes especies silvestres y domésticas (Aberle y col., 2004). Por medio de la comparación de secuencias de ADN se puede derivar relaciones evolutivas, niveles de variabilidad y subestructuración geográfica dentro y entre grupos de animales, pruebas de parentesco e identidad (Awise, 2004; Harrison, 1989). El ADN microsatélite constituye uno de los marcadores más útiles por presentar tasas de mutación mayores comparados con otras regiones del ADN, su herencia mendeliana y carácter codominante (Awise, 2004). Pruebas de parentesco basadas en el análisis de ADN microsatélite se han convertido en la herramienta más utilizada debido a su alta capacidad informativa, facilidad de uso, capacidad de automatización y tiempo requerido para su análisis para pruebas de parentesco tanto en humanos como animales.

El anexo Quimsachata posee el banco de germoplasma de alpacas de color para la conservación e investigación, la pérdida de identificación durante el manejo y durante el registro de progenitores y progenie incrementan el error en la asignación de filiación, siendo la identificación de alpacas importante para programas de mejora genética por ello se planteó el objetivo de determinar la paternidad y maternidad de alpacas nacidas en el 2016 mediante la marcadores genéticos y reconstruir la genealogía de alpacas Huacaya del anexo quimsachata INIA Puno.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. MARCO TEORICO

#### 2.1.1 La alpaca.

La alpaca (*Vicugna pacos*) propuesta por (Kadwell y col., 2001) y aceptada por ( Gentry y col. 2004), es la especie más pequeña de los camélidos domésticos y comparte muchas características morfológicas con las vicuñas más septentrionales (Wheeler y col., 2006). Evidencia directa del proceso de domesticación está disponible en los remanentes orgánicos de camélidos sudamericanos encontrados en excavaciones arqueológicas de los Andes peruanos. Material faunístico de tales sitios arqueológicos indican que durante los inicios de la ocupación humana, tanto el guanaco, la vicuña, así como algunos cérvidos (*Hippocamelus antisimensis*), eran cazados persistentemente en la región (Wheeler, 2000). Sin embargo, en períodos posteriores (9.000-7.000 años) se registró un progresivo aumento de restos de camélidos relativo a cérvidos. Desde hace 6.000 a 5.500 años se detectan las primeras llamas y alpacas (Wheeler, 2000). A partir de esa fecha, restos orgánicos de camélidos neonatos comienzan a aumentar sostenidamente, hasta llegar a constituir el 70 % de todos los restos de camélidos depositados (Wheeler, 2000).

Este aumento sugiere mortalidad debida a problemas epidemiológicos a causa de la domesticación. Basado en un detallado registro dental y óseo desde uno de los sitios del Perú

central, (Wheeler, 1995) ha colectado evidencia que concuerda con la hipótesis de que la alpaca fue domesticada a partir de poblaciones de vicuñas locales (*Vicugna vicugna mensalis*). Finalmente, el reciente hallazgo de momias en el Yaral, Moquegua, Perú, a 1.000 m de altitud, no solo confirmó que la crianza de llamas y alpacas se extendía a los valles costeros, sino además, la alta selección de alpacas y llamas como productores de fibra fina (Wheeler y col., 2006).

La alpaca y vicuña comparten el mismo patrón de bandas G en el cromosoma 1 (Marin, 2012) A nivel andino, cuatro de cada cinco alpacas (80 %) son híbridas (Kadwell y col., 2001). Esta elevada tasa de hibridación puede ser la causa de las disputas taxonómicas respecto del grupo, así como de la progresiva pauperización genética de las formas domésticas, hoy reflejada en el aumento del diámetro de la fibra de las alpacas actuales (Wheeler y col. 2006), en comparación con las alpacas del pre conquista.

La alpaca es el camélido productor de fibra más importante, tiene un peso ligero y es fuerte. (Wuliji y col., 2000). Las razas de alpaca son razas primitivas o primarias que derivan de la primera diferenciación intra específica post-domesticatoria (Renieri y col. 2009), según el tipo de vellón se identificaron dos razas Huacaya y Suri (Presciuttini y col., 2010) La alpaca Huacaya se caracteriza por tener un vellón compacto, esponjoso y con fibras finas, suaves y onduladas (Antonini y col., 2004 y FAO, 2005).

### 2.1.2. Marcadores Microsatélites

Los microsatélites, también llamados secuencias simples repetidas (SSRs), “Secuencias cortas repetidas en tandem (STRs), son secuencias cortas de ADN que consisten en repeticiones de 1 a 6 pares de bases de largo (Hancock, 1991). Localizados a lo largo de los genomas de los organismos eucariontes así como en organelas como la mitocondria, cloroplastos y plástidos (Freeland, 2005).repetidas en tándem, el número de repeticiones puede variar entre individuos y el perfil genético es único, estas secuencias presentes en mayor proporción en regiones no codificantes y con baja frecuencia en las regiones codificantes o también en telómeros, asociada a enfermedades (Oliveira y col., 2006).

#### 2.1.2.1. Clasificación de microsatélites.

Los STRs (Short Tandem Repeats) se definen por el tipo particular de secuencia o unidades de repetición y por su longitud o número de repeticiones en una posición concreta en el cromosoma. Bajo estos criterios se encuentran clasificados en los denominados perfectos o puros, que son repeticiones en un número mínimo de 9 unidades sin interrupción; los compuestos que tienen dos o más repeticiones de al menos 9 unidades y también pueden ser combinaciones de motivos de un número variable de pares de bases conocidos como interrumpidos, que son repeticiones ininterrumpidas de al menos 9 unidades separadas como máximo por 4 pares de bases y por último complejo, puede ser utilizado para especificar que dos o más unidades repetitivas diferentes, dentro de cada una de estas

clasificaciones se encuentran sus propias variantes ( Chambers y MacAvoy, 2000).

**2.1.2.2. Características de los microsatelite**

Los microsatélites presentan elevado polimorfismo genético (presencia de múltiples alelos), distribución frecuente en el genoma, herencia mendeliana simple y codominancia. Estas características han permitido ser considerados como los marcadores de elección para estudios de genética poblacional, identificación, parentesco y mapeo genético (Schlötterer y Harr, 2001; Freeland, 2005).

**Tabla 1.** Clasificación de los microsatelites según el número de repeticiones.

CLASIFICACION	SECUENCIA
Perfectos o puros	-(CA) <sub>n</sub> -
Interrumpidos puros	-(CA) <sub>n</sub> -Nt-(CA) <sub>n</sub> Nt-(CA) <sub>n</sub> -
Compuestos	-(CA) <sub>n</sub> -(GA) <sub>m</sub> -
Interrumpidos compuestos	-(AC) <sub>14</sub> -AG-AA -(AG) <sub>12</sub> -
Complejos	(TTTC) <sub>3-4</sub> -(T) <sub>6</sub> -(CT) <sub>0-1</sub> -(CYKY) <sub>n</sub> - CTCC-(TTCC) <sub>2-4</sub>

Donde n, m>9

**Fuente:** Chambers y MacAvoy, 2000

**2.1.3. Control de filiación**

El control de la filiación en especies domesticas cada vez más utilizado como complemento indispensable para verificar las

inscripciones en el Libro Genealógico y el correcto funcionamiento de los programas de Mejora Genética. Si en una explotación el número de errores en la asignación de paternidades es alto, los planes de mejora genética se verán seriamente amenazados. Es habitual que la asignación de paternidades se realice controlando la fecha de servicio y la fecha de nacimiento, pero este método puede generar errores, por esta razón, es mejor el uso de técnicas moleculares para el correcto control de la filiación (Lozano y *col.*, 2002).

Los distintos tipos de polimorfismos de ADN se han mostrado como los marcadores más útiles para el control de parentesco en animales domésticos. La filiación de los animales puede verificarse mediante el análisis de las diferencias en marcadores genéticos, los cuales pueden analizarse de manera fácil y rápida a partir de una cantidad mínima de material biológico. Cada marcador posee una probabilidad de exclusión de paternidad que se incrementa mediante el uso de un panel de varios marcadores. Esta técnica permite estudiar la variabilidad genética de las poblaciones, la caracterización de distintas líneas o razas y la comprobación de las relaciones de parentesco (Pepín y *col.*, 1995).

#### **2.1.3.1 Parentesco e identidad**

La determinación de parentesco (paternidad y maternidad) se basa en la búsqueda de incompatibilidades genéticas entre los alelos presentes en un hijo y un alegado pariente para un grupo de loci

analizados (figura 1) asumiendo la ausencia de mutación y un modelo de herencia mendeliana simple (Butler, 2005).

Las técnicas para determinación de parentesco se basan en la exclusión genética, la cual utiliza incompatibilidades genéticas entre los supuestos padres y las crías, para rechazar una particular hipótesis de asignación de parentesco. El número mínimo de inconsistencias genéticas entre un supuesto padre y una cría para determinar la exclusión genética es tres (Cifuentes y col., 2006).

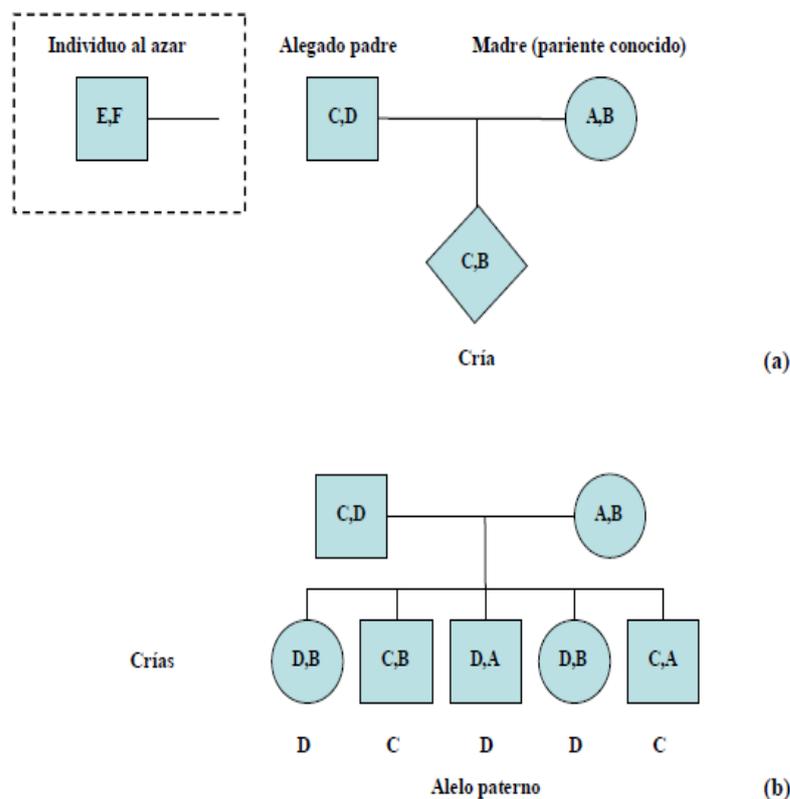
Existen 5 indicadores para medir la robustez de una técnica de determinación de parentesco: la probabilidad de exclusión, el contenido de información polimórfica, el índice de paternidad, el valor de LOD y el estadístico Delta.

#### **2.1.3.1.1 Parámetros de paternidad**

Los marcadores utilizados en los diversos estudios deben ser evaluados bajo ciertos parámetros, como el contenido de información polimórfica (PIC), la probabilidad de discriminación, probabilidad de coincidencia, índice de paternidad y la probabilidad de exclusión (PE). (Butler, 2005).

#### **2.1.3.1.2 Probabilidad de exclusión**

La probabilidad de exclusión (PE) constituye la capacidad de un marcador genético para excluir a un falsamente asignado padre en términos de probabilidad, la probabilidad de exclusión depende del número de alelos y de las frecuencias alélicas del marcador y no de los frecuencias genotípicas observadas (Butler, 2005).



**Figura 1.** Representación esquemática de una prueba de parentesco y su fundamento. (a) Asignación de paternidad. (b) La determinación de parentesco se basa en una regla de herencia mendeliana: una cría tiene dos alelos para cada marcador autosomal, uno heredado del padre y otro de la madre. Modificado de Butler (2005).

#### 2.1.3.1.3. Contenido de información polimórfica

El contenido de información polimórfica (PIC) constituye una medida de la informatividad y polimorfismo de un locus genético, en estudios de parentesco refleja la probabilidad que una cría lleve un alelo raro, el cual permitiría la deducción del genotipo

parental para un locus dado (Botstein y *col.*, 1980). El valor de PIC es determinado mediante la siguiente formula.

$$PIC = 1 - \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right) - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2 p_i^2 p_j^2$$

Dónde:  $p_i$  es la frecuencia del alelo I,  $p_j$  es la frecuencia del alelo J y n es el número de alelos en un locus (Botstein y *col.*, 1980).

#### 2.1.3.1.4. Valor LOD en paternidad

La definición del valor de LOD (LOD score) en paternidad constituye el logaritmo natural del índice de paternidad combinado (CPI) para cada candidato a pariente (Kalinowsky y *col.*, 2007), este concepto difiere del utilizado en mapeo genético, donde el valor de LOD se define como el logaritmo común ( $\log_{10}$ ) de la razón de probabilidad (Marshall y *col.*, 1998).

Valores de LOD negativos significan que un candidato a pariente es menos probable ser el verdadero pariente que otro candidato elegido al azar, valores de LOD positivos significan que un candidato a pariente es más probable ser el verdadero pariente que otro candidato elegido al azar y un valor de LOD de 0 significa que tanto el candidato a pariente como cualquier otro candidato al azar son igual de probables de ser el verdadero pariente (Marshall y *col.*, 1998). El candidato a pariente más probable posee el valor de LOD más alto.

#### 2.1.3.1.5. Valor Delta:

El valor de Delta ( $\Delta$ ) es usado para asegurar la confiabilidad de la asignación de parentesco del más probable candidato a pariente. El valor de Delta ( $\Delta$ ) se determina mediante la diferencia entre el valor de LOD del más probable candidato a pariente y el segundo más probable candidato a pariente. La significancia estadística de los valores de Delta ( $\Delta$ ) se realiza mediante simulación de múltiples pruebas de parentesco, cálculo de valores y distribuciones de Delta ( $\Delta$ ). El análisis de simulación realizado por el programa Cervus v3.0. Repite los pasos realizados en una inferencia de parentesco utilizando las frecuencias alélicas de los loci analizados de la población en estudio asumiendo HWE. Genotipos paternos, maternos y genotipos al azar son generados a partir de las frecuencias alélicas observadas asumiendo HWE. Los genotipos de la progenie son derivados mediante muestreo mendeliano de los alelos parentales. Un número elevado de crías es utilizado en la simulación (mínimo de 10000) para generar distribuciones de valores de LOD o Delta ( $\Delta$ ). Simulaciones paralelas son realizadas tomando en cuenta la inferencia de parentesco con y sin conocimiento de un genotipo parental, en caso de parentales no muestreados, falta de información genotípica de algunos loci y errores de genotipificación. Posteriormente, se procede a la comparación de las distribuciones de valores de Delta ( $\Delta$ ) para determinar los valores críticos comparando las

distribuciones de Delta ( $\Delta$ ) para dos situaciones distintas: i) cuando el más probable candidato a pariente fue el verdadero pariente y ii) cuando el más probable candidato a pariente no fue el verdadero pariente. Finalmente, se comparan los valores críticos con los valores obtenidos en pruebas de parentesco reales (Marshall y *col.*, 1998).

## 2.2. ANTECEDENTES

En la Región de Pasco se realizó la verificación de genealogía en alpacas Huacaya ( $n=247$ ) en tres unidades de producción para validar panel de microsatelites para pruebas de paternidad; estimar nivel de endogamia y asignación de paternidad en ausencia y presencia de padres, utilizando un panel de 15 marcadores microsatélites de alpacas (LCA05, LCA08, LCA37, LCA66, YWLL44, YWLL08, YWLL36, LCA 90, LCA 94, VOLP92, VOLP32, VOLP55; VOLP72, VOLP04, VOLP77). Las muestras obtenidas fueron a partir de folículo piloso; el número total de alelos varió de 8 a 32 alelos por locus, el contenido de información polimórfica fue superior a 0.7 en todos los marcadores. Los valores estimados de la probabilidad de discriminación para los marcadores LCA37, LCA66, LCA08, YWLL36, YWLL44, YWLL08, VOLP04 y VOLP32 fueron mayores a 0.84, y la probabilidad de exclusión conjunta fue superior al 99.9%; con un error de asignación de paternidad del 55% (Morón y *col.*, 2016)

En la Región de Puno se realizó un estudio para la determinación de pruebas de paternidad y parentesco en alpacas Huacaya (183 individuos) de dos unidades de producción, empleando 10 marcadores microsatelite

(LCA37, LCA5, LCA66, LCA8, LCA90, LCA94, VOLP92, YWLL36, YWLL44 y YWLL08), el total de loci presentó una probabilidad de exclusión superior al 99.9% cuando se conoció el genotipo de ambos padres, alcanzando un poder de discriminación mayor al 0.90. La prueba de filiación permitió detectar mayores errores de asignación de maternidad (13.04%) y paternidad (30.4%) en el Fundo Itita; mientras que en Munay Paqocha, se hallaron menores errores de maternidad (7.69%) y de paternidad (17.95%), siendo un centro con mejor calidad de registros (Yalta y *col.*, 2014).

En las Regiones de Huancavelica, Junín, y Puno empleando 10 marcadores microsatelite (LCA19, LCA37, YWLL40, YWLL29, YWLL36, LCA5, LCA66, YWLL08, LCA08 y YWLL44), se encontró que todos los marcadores fueron altamente polimórficos, con un rango de 6 a 28 alelos (14.5 alelos por locus). El total de probabilidad de exclusión fue de 0.999456, cuando se conoció el genotipo de uno de los padres y de 0.999991 cuando se conoció el genotipo de ambos padres. El panel de marcadores empleados asignaron la paternidad en 38 de los 45 casos (Agapito y *col.*, 2010).

Se realizó estudios en la sierra de Lima se realizó determinación de parentesco en alpacas huacaya con 7 microsatélites (YWLL29, YWLL40, LCA37, VOLP04, LCA94, LCA86 y LCA22), se reportó un poder de exclusión de 99.17%, permitiendo una buena discriminación de individuos en lugares que no se cuenta con registros genealógicos (Iannacone, 2006).

El primer trabajo sobre evaluación de parentesco para alpacas se realizó en la Estación Experimental IVITA- Marangani, Provincia de Canchis, de la Región de Cusco; con Diez microsatélites polimórficos para alpacas y llamas (LCA19, LCA22, LCA5, LCA23, YWLL08, YWLL29, YWLL36, YWLL40, YWLL43 y YWLL46) con 47 alpacas, el número de alelos varió entre 4 y 20. Las frecuencias alélicas y la probabilidad de exclusión (PE) fueron calculadas utilizando el software Cervus 2.0. La probabilidad de exclusión acumulada para los 10 loci fue 0.9999. La probabilidad de exclusión acumulada para cada reacción de PCR múltiple fue mayor a 0.90. Los resultados confirmaron la paternidad en 18 casos sed determino un error de asignación paternidad del 22% (Rodríguez y col. 2006)

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. **Ámbito de estudio**

El presente estudio se realizó en el Centro de Investigación y Producción Quimsachata, del Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) ubicado en el distrito de Santa Lucía, provincia de Lampa, Región de Puno; está a una altitud de 4190 m, 15°47'43" latitud sur, 70°37'22" longitud oeste y en las instalaciones de la unidad de Biotecnología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (UBM UPCH) ubicado en el distrito de San Martín de Porres, Provincia de Lima, región Lima.

#### 3.2. **Animales**

Se utilizaron 181 alpacas (*Vicugna pacos*) de la raza Huacaya: 62 alpacas hembras mayores a dos años (Madres), 64 alpacas nacidas en la campaña de parición del 2016 (crías) y 55 alpacas machos mayores a tres años (padres) del Anexo Quimsachata del Instituto Nacional de Innovación Agraria Illpa Puno.

#### 3.3. **Materiales**

##### 3.3.1. **Materiales de campo**

- Tubos bacutainer.
- Agujas bacutainer.
- Capuchón para tubo y aguja bacutainer.
- Gradillas metálicas para tubos bacutainer
- Caja de tecnopor
- Geles de refrigeración
- Registro de alpacas a muestrea

- Marcador indeleble
- Cámara fotografica
- Lapiceros
- Cuaderno de campo
- Aretes.
- Aretador.
- Microchips

### 3.3.2. Materiales de laboratorio.

- Puntas de plástico autoclavadas de 2,10, 20, 100, 200 y 1000  $\mu$ L
- Tubos de microcentrífuga de 1.5 mL, autoclavados
- Recipiente con lejía (inactivación de agentes biológicos)
- Gradilla de plástico para tubos de microcentrifuga de 1.5 mL
- Tubos de PCR de 0.2 mL, autoclavados
- Recipiente para descarte

### 3.3.3. Reactivos

- Proteinasa K (20mg/mL) – GeneOn
- Buffer Lisis TB (Vivantis – GeneOn)
- Buffer Lisis enhancer (SDS) (Vivantis – GeneOn)
- Buffer de Lavado (Wash Buffer – Vivantis GeneOn)
- Buffer de resuspensión (TE 1X - Tris EDTA) (Vivantis GeneOn)
- Etanol absoluto (Merck)
- Master Mix Maxima 2X– GeneOn ( 2X buffer de PCR, 0.4 mM dNTPs, 2 U de ADN polimerasa, 4 mM de MgC l2)
- Primer F y R o cebadores F y R (Macrogen)

### 3.3.4. Equipos

- Equipo de Baño Maria (MEMMERT®)
- Microcentrifuga (HETTICH®)
- Micropipetas de volúmenes 10 uL, 20 uL, 200 uL y 1000 UI (Rainin®; Boeco®)
- Vortex (Vortex-genie® )
- Congeladora -20°C (Thermo scientific®)
- Termociclador (Applied Biosystems, Veriti®)
- Espectofotometro (Thermo scientific®)
- Equipo de electroforesis (Bio rat®)

## 3.4. METODOLOGÍA

### 3.4.1. Toma de muestras:

Se tomó muestras de sangre mediante punción en la vena yugular utilizando en tubos Vacutainer con anticoagulante (K3E: potasio – EDTA al 15%), las cuales fueron rotulados con el número de arete y almacenadas en refrigeración que se detallan en los anexos 1 la identificación las crías; en el anexo 2 la identificación de alpacas hembras y el anexo 3 la identificación de los padres.

### 3.4.2. Obtención del buffy coat.

Las células blancas se aislaron a partir de sangre entera mediante la centrifugación a 5000 RPM durante 10 minutos, se aislo células blancas a tubo Eppendorf® que posteriormente fueron congelados a -20°C para su transporte a la Unidad de Biotecnología Molecular de la Universidad Cayetano Heredia de lima.

Se rotulo las muestras con la identificación de la alpaca en el Anexo Quimsachata del INIA Illpa Puno antes del envío de las muestras y en el laboratorio de unidad de biotecnología molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia fueron recodificados para su análisis. (Anexo 1,2.3)

### **3.4.3. Extracción de ADN genómico**

La extracción del ADN genómico fue mediante el protocolo de extracción de ADN mediante membranas de silica presente en el kit de extracción de ADN genómico de tejido: GF-1 DNA extractions tissue kit (Vivantis-GeneOn) siguiendo las indicaciones del fabricante y modificaciones previamente estandarizadas para el tipo de muestras y calidad de la muestra cómo se detalla a continuación:

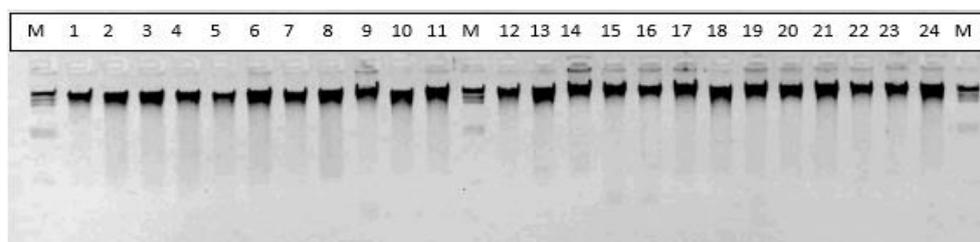
1. Colocar la muestra de sangre y/o leucocitos de alpaca a temperatura ambiente previo al inicio del procedimiento.
2. Adicionar 500  $\mu$ L de sangre entera a un tubo microcentrifuga de 1.5 mL
3. Adicionar 200  $\mu$ L de buffer TB y homogenizar.
4. Adicionar 40  $\mu$ L de Proteinasa K y mezclar vigorosamente (Vortexear 20 segundos).
5. Incubar el homogenizado a 65°C por 1 hora (hasta que el todo el tejido haya sido lisado).
6. Adicionar 200  $\mu$ L de etanol absoluto (99%) y vortexear por 20 segundos.
7. Transferir el homogenizado a una columna mini spin colocada sobre un tubo de colección de 2 mL (proveídos por el kit).

8. Centrifugar a 8 000 rpm por 1 minuto.
9. Descartar el tubo de colección con el filtrado y colocar la columna en un nuevo tubo de colección.
10. Adicionar 500  $\mu$ L de Washing Buffer a la columna.
11. Centrifugar a 8 000 rpm por 1 minuto.
12. Descartar el tubo de colección con el filtrado y colocar la columna en un nuevo tubo de colección.
13. Adicionar 500  $\mu$ L de Buffer Washing Buffer a la columna.
14. Centrifugar a 13 000 rpm por 3 minutos.
15. Descartar el tubo de colección con el filtrado y colocar la columna en un nuevo tubo de microcentrifuga de 1.5 mL.
16. Adicionar 150  $\mu$ L de elution Buffer a la columna y dejar incubar por 1 minuto a temperatura ambiente.
17. Centrifugar a 8 000 rpm por 1 minuto.
18. Se deberá realizar una segunda elución de la columna repitiendo los pasos 16 a 17.
19. Almacenar el ADN genómico resuspendido a  $-20^{\circ}\text{C}$

#### **3.4.4 .Extracción y cuantificación de ADN.**

ADN genómico fue extraído a partir de 400  $\mu$ L de células blancas (buffy coat) obtenidas a partir de sangre entera utilizando el método de columnas de sílica presente en el kit de extracción de ADN genómico de tejido: GF-1 DNA extraction tissue kit (Vivantis – GeneOn), La cantidad de ADN genómico extraído vario entre 7,6  $\mu$ g (madres), 13,8  $\mu$ g (crías) y 6.1  $\mu$ g (padres) con valores de absorbancia 260/280 entre 1.6 y 1.8 y 260/230 entre 1.5 y 1.8.

El ADN genómico fue separado mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% y separado en buffer TBE 1X a 50V por 45 minutos. El marcador de peso molecular utilizado, Lambda Hind III (Thermo Scientific) – 100 ng. Nótese la integridad del ADN genómico extraído y la elevada concentración. Carril 1- 24. ADN genómico, Carril M. Marcador de Peso molecular



**Figura 2.** ADN genómico extraído de buffy coat de crías de alpaca mediante método de columnas.

### 3.4.5 Amplificación de ADN microsatélite

Los doce loci microsatelite (LCA99, LCA71, LCA94, LCA66, YWLL36, LCA5, LCA77, LCA19, YWLL40, YWLL29, YWLL44 y LCA08) fueron amplificados en forma óptima siguiendo las condiciones del PCR y ciclos termales descritos en tabla 2 y 3.

**Tabla 2.** Condiciones de amplificación de 12 loci microsatélites utilizados en el estudio.

Loci Microsatelite	Condiciones de amplificación
LCA99 LCA71 LCA94 LCA66 YWLL36 LCA5 LCA77 LCA19 YWLL40 YWLL29 YWLL44 LCA08	20 ng de ADN, 0.2 mM de dATP, dCTP, dTTP y dGTP (Qiagen), 1X PCR buffer (20mM Tris-HCl pH 8.4, 50mM KCl) (Qiagen), 3.0 mM MgCl <sub>2</sub> (Qiagen), 0.4 μM de cada cebador (Applied Biosystems) y 1.0 U HotStart Taq DNA polymerase® (Qiagen).

**Fuente:** laboratorio de biotecnología molecular de la UPCH

**Tabla 3:** Ciclos termales de PCR utilizados en la amplificación de 12 loci microsatélites utilizados en el estudio.

Loci Microsatelite	Ciclos termales
LCA99 LCA71 LCA94 LCA66 YWLL36 LCA5 LCA77 LCA19 YWLL40 YWLL29 YWLL44 LCA08	1 ciclo de 95°C por 15 minutos; 25 ciclos de 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos y 72°C por 30 segundos

### 3.4.6. Diseño de paneles de amplificación múltiple

Los 2 paneles de 7 y 5 loci microsatélites amplificaron óptimamente en una sola reacción de PCR múltiple. Los microsatélites incluidos

en cada panel, las condiciones y los ciclos termales de la PCR múltiple se detallan en las tablas 4 y 5.

**Tabla 4.** Loci microsatélites, secuencia de primer y tipo de fluorocromo incluidos en cada panel de PCR múltiple utilizados para la determinación de filiación de alpacas huacaya del Anexo Quimsachata INIA Puno.

Panel	N° de loci	Microsatélite	Fluoroforo	Secuencia cebador de avance (5'-3')	secuencia cebador de retorno (5-3)	fuelle
<b>A</b>	7	LCA99	5-FAM	TTTTTCCCCTGTGGTTGAAT	AACTCAGCTGTTGTCAGGGG	Penedo y col, 1999
		LCA71	5- FAM	CAGACATATACCTGTATCCGTATCTA	TTCAGTGTTCCTCGCAATG	Penedo y col, 1998
		LCA94	HEX	GTCCATTTCATCCAGCACAGG	ACATTTGGCAATCTCTGGAGAA	penedo y col, 1998
		LCA66	HEX	GTGCAGCGTCCAAATAGTCA	CCAGCATCGTCCAGTATTCA	penedo y col, 1998
		YWLL36	TAMRA	AGTCTTGGTGTGGTGGTAGAA	TGCCAGGATACTGACATTCAT	lang y col, 1996
		LCA5	TAMRA	GTGGTTTTTGCCCAAGCTC	ACCTCCAGTCTGGGGATTC	penedo y col, 1998
		LCA77	TAMRA	TGTTGACTAGAGCCTTTTCTTCTTT	GGGCAAGAGAGACTGACTGG	penedo y col, 1998
<b>B</b>	5	LCA19	5- FAM	TAAGTCCAGCCCCACACTCA	GGTGAAGGGGCTTGA TCT TC	penedo y col, 1998
		YWLL40	5- FAM	CACATGACCATGTCCCCCTTAT	CCAGTGACAGTGTGACTAAGA	lang y col, 1996
		YWLL29	5- FAM	GAAGGCAGGAGAAAAGGTAG	CAGAGGCTTAATAACTTGCAG	lang y col, 1996
		YWLL44	HEX	CTCAACAAATGCTAGACCTTGG	GAGAACACACAGGCTGGTGAATA	lang y col, 1996
		LCA08	TAMRA	GCTGAACCCACAATGCAAAGA	AATGCAGATGTGCCTCAGTT	penedo y col., 1998

**Fuente:** laboratorio de biotecnología molecular de la UPCH

### 3.4.7. Amplificación de 12 loci microsatélite para determinación de parentesco e identidad

Los dos paneles fueron usados para determinación de parentesco. Ambos paneles amplificaron óptimamente 181 muestras de ADN de alpaca en dos reacciones de PCR múltiple utilizando las condiciones descritas en la tabla 5.

**Tabla 5.** Condiciones optimizadas y ciclos termales de las PCR múltiple diseñada para cada panel de loci microsatélites.

Panel	Condiciones de la reacción PCR multiple	Ciclos termales de la PCR Multiple
A	20 ng de ADN, 0.2 mM de dATP, dCTP, dTTP y dGTP (Qiagen), 1X PCR buffer (20mM Tris-HCl pH 8.4, 50mM KCl) (Qiagen), 3.0 mM MgCl <sub>2</sub> (Qiagen), 0.4 μM de cada cebador (Applied Biosystems) y 1.0 U HotStart Taq DNA polymerase® (Qiagen).	1 ciclo de 95°C por 15 minutos; 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 59°C por 90 segundos y 72°C por 60 segundos; con una extensión final de 60°C por 30 minutos.
B	20 ng de ADN, 0.2 mM de dATP, dCTP, dTTP y dGTP (Qiagen), 1X PCR buffer (20mM Tris-HCl pH 8.4, 50mM KCl) (Qiagen), 3.0 mM MgCl <sub>2</sub> (Qiagen), 0.4 μM de cada cebador (Applied Biosystems) y 1.0 U HotStart Taq DNA polymerase® (Qiagen).	1 ciclo de 95°C por 15 minutos; 25 ciclos de 94°C por 30 segundos, 59°C por 90 segundos y 72°C por 60 segundos; con una extensión final de 60°C por 30 minutos.

**Fuente:** laboratorio de biotecnología molecular de la UPCH

### 3.4.8. Análisis de datos de loci microsatélite:

Probabilidad de exclusión individual, acumulada (Jamieson y Taylor, 1997) fueron determinadas utilizando el programa Cervus v3.0 (Kalinowski y col., 2007).

$$PE1 = 1 - 2 \sum_{i=1}^n p_i^2 + \sum_{i=1}^n p_i^3 + 2 \sum_{i=1}^n p_i^4 - 3 \sum_{i=1}^n p_i^5 - 2 \left( \sum_{i=1}^n p_i^2 \right)^2 + 3 \sum_{i=1}^n p_i^2 \sum_{i=1}^n p_i^3$$

Donde:  $p_i$  es la frecuencia de alelo  $i$  y  $n$  es el número de alelos por locus

### 3.4.9. Análisis de parentesco

Los genotipos multilocus de 12 loci microsatélites fueron utilizados en la determinación de parentesco en las muestras de alpacas. La determinación de parentesco (paternidad y maternidad) se realizó mediante el cálculo del índice de paternidad (PI) expresado como valores de LOD y valor de Delta ( $\Delta$ ) utilizando el programa Cervus v3.0 (Kalinowski y col., 2007).

Para determinar valores LOD (Marshall y col., 1998)

$$LOD = \ln [ L (H1 | gm,ga,go) / L (H2 | gm,ga,go) ]$$

Donde  $L (H1 | gm,ga,go)$  constituye la probabilidad que una madre y un alegado padre sean los parientes de una cría. Esta probabilidad puede expresarse de la siguiente manera.

$$L (H1 | gm, gago) = T (go | gmga) \cdot P (gm) \cdot P (ga)$$

Donde:  $T(g_o | g_{mga})$  es la probabilidad de un genotipo de una cría dados los genotipos de la madre y el alegado padre, constituye la probabilidad de segregación mendeliana,  $P(g_m)$  y  $P(g_a)$  son las frecuencias de los genotipos de la madre y el alegado padre en la población en estudio.

y  $L(H_2 | g_m, g_a, g_o)$  constituye la probabilidad que la madre es el pariente de la cría y que el padre es un individuo escogido al azar de la población en estudio. Esta probabilidad puede expresarse de la siguiente manera:  $L(H_2 | g_m, g_a, g_o) = T(g_o | g_m) \cdot P(g_m) \cdot P(g_a)$

Donde:  $T(g_o | g_m)$  es la probabilidad de un genotipo de una cría dado el genotipo de la madre,  $P(g_m)$  y  $P(g_a)$  son las frecuencias de los genotipos de la madre y el alegado padre en la población en estudio.

#### **El valor de Delta ( $\Delta$ )**

Se determina mediante la diferencia entre el valor de LOD del más probable candidato a pariente y el segundo más probable candidato a pariente

#### **3.4.10. Reconstrucción genealógica:**

Para determinar el error asignación de paternidad y maternidad se comparó los resultados de filiación determinadas mediante el uso de marcadores microsatelite con los registros genealógicos de alpacas del Anexo Quimsachata INIA Puno del año 2016.

La reconstrucción genealógica mediante el programa Endog V.4.8 se realizó independientemente para cada registro (generado

mediante marcadores microsatelite y de genealogía del Anexo Quimsachata).

Determinándose el contenido de pedigrí.

- Recodificación de datos.
- Numero de padres (n)
- Numero de madres (n)
- Numero de crías (n)
- Porcentaje de padre (%)
- Porcentaje de madres (%)
- Consanguinidad (%)
- Numero de crías máximo/padre
- Numero de crías mínimo / padre
- Numero de crías máximo/madre
- Número de individuos con generaciones completas
- Número de individuos con generaciones completas
- Parentesco medio de la población

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Determinación de parentesco

Se determinó el número de alelos en promedio 11.083 alelos por locus y la probabilidad de exclusión de cada marcador con un valor de probabilidad de exclusión acumulada de 0.99998450 demostrando su utilidad para uso en pruebas de parentesco (tabla 6). Estos datos son muy similares a lo reportado por Moron y col. (2016) quien indica un valor de 0.999994, Rodríguez y col (2004) con 0.9999, por Agapito y col, (2008) que indica un valor 0.9999, Yalta y col. (2014) que indica valor de 0,9999966 con valores superiores a lo reportado por Iannaccone (2006) con 0.9917 esta diferencia se debe probablemente al uso del número de marcadores por Iannaccone quien utilizó 7 marcadores.

**Tabla 6.** Numero de alelos por locus, Probabilidad de exclusión individual y acumulada de 181 genotipos de alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata INIA-Puno.

Locus	Nº alelos	Probabilidad de exclusión
LCA5	11	0.536
LCA66	10	0.531
LCA71	5	0.266
LCA77	18	0.74
LCA94	8	0.603
LCA99	13	0.659
YWLL36	13	0.725
YWLL29	9	0.579
YWLL40	6	0.439
YWLL44	16	0.737
LCA19	12	0.488
LCA8	12	0.685
	11.083	0.9999845

En la asignación de maternidad y paternidad con la información de los animales genotipados muestreados, usando criterios de restricción al 0.05 (relajado) y 0.01 (estricto) de nivel de significación; donde se determinó 32 casos de maternidad de 62 muestras de las más probables madres enviadas representando el 51.6 %, con valores en un rango de LOD para la más probable madre de 2.8 a 12.4, valor de Delta ( $\Delta$ ) de 2.58 a 11.9 y con un nivel de confianza del 99% que se muestra en la tabla 7. Este valor de asignación de maternidad corresponde al 51.6 % de las muestras analizadas; los valores de asignación de maternidad determinadas en el estudio son similares a los reportes de Rodríguez (2009) que indica valores de LOD de 2.885 a 13.968 y valores del delta 1.499 a 13.968 Y superiores a los reportados por Yalta y *col.*, (2004) con valores de LOD de -37.7 a -2.93 cuando hay error en la asignación de maternidad.

Así mismo se determinó 24 casos de paternidad con valores de LOD en un rango de 4.29 a 13.9, valor de Delta ( $\Delta$ ) en un rango de 2.99 a 13.9 con nivel de confianza del 99%, con 14 machos asignados al más probable padre de 55 padres analizadas, lo que representa el 25%; estos valores obtenidos son mayores a los valores reportados por Rodríguez (2009) que menciona rango de valores LOD y delta de 0.617 a 10.417. Esta variación posiblemente se debe al número de marcadores utilizados. Y superiores a los reportados por Yalta y *col.* (2004) con valores de LOD de -34.80 a -13.10 cuando hay error en la asignación de paternidad y a los reportados por Moron y *col.* (2016) con valores LOD de -22.70 a -0.83.

A partir de los datos registrados de asignación de paternidad y maternidad se identificaron 14 familias constituidas (Tabla 9), que corresponde a las triadas identificadas (padre, madre y cría) presentando valores de LOD y delta de 8.75 a 17.3. Estos valores son superiores a los reportados por Rodríguez (2009) que menciona valores LOD y delta de 4.069 a 14.852 esta variación también se debe al número de marcadores utilizados.

**Tabla 7.** Filiación cría-madre de 32 casos de asignación de maternidad determinado con el programa Cervus v3.0.7. donde se detalla valores de Loci no compatibles (LNC), valores de LOD, valores de Delta y nivel de confianza en alpacas Huacaya del anexo Quimsachata INIA-PUNO.

Cría ID	Arete Cría	Madre ID	Arete Madre	LNC	LOD score	Delta	Nivel Confianza
CA37	70216	MA12	244211	0	10.50	10.50	99%
CA72	134216	MA14	102210	0	8.04	8.04	99%
CA1	40116	MA16	222206	0	8.61	8.61	99%
CA43	66216	MA19	148107	0	9.01	8.63	99%
CA50	53216	MA20	476309	0	9.66	9.66	99%
CA3	10116	MA23	468309	0	7.97	7.97	99%
CA21	143216	MA26	313311	0	8.43	8.43	99%
CA41	16116	MA28	7110	0	6.44	2.58	95%
CA19	156216	MA3	130108	0	11.90	11.90	99%
CA7	44116	MA33	78210	0	7.93	6.76	99%
CA46	180316	MA34	330310	0	7.21	7.21	99%
CA4	83216	MA36	12108	0	8.54	8.54	99%
CA63	249215	MA4	445309	0	7.19	7.19	99%
CA42	36116	MA40	293311	0	8.75	8.75	99%
CA33	110216	MA41	36110	0	12.10	11.20	99%
CA16	215215A	MA42	385308	0	9.72	9.72	99%
CA34	126216	MA43	289209	0	8.20	7.02	99%
CA65	101216	MA45	134108	0	10.80	10.80	99%
CA59	128216	MA48	187209	0	6.71	4.52	99%
CA20	125216	MA49	393309	0	9.90	9.90	99%
CA55	166316	MA5	31107	0	12.40	10.70	99%
CA35	32116	MA50	30113	0	2.80	2.80	95%
CA38	18116	MA51	143212	0	10.50	10.50	99%
CA29	38116	MA52	53110	0	6.17	6.17	99%
CA56	103216	MA56	286213	0	10.10	8.57	99%
CA14	97216	MA57	472307	0	9.52	9.52	99%
CA5	57216	MA58	347311	0	6.25	6.25	99%
CA24	71216	MA59	82111	0	10.80	10.80	99%
CA12	14116	MA6	216205	0	7.22	3.85	99%
CA44	50216	MA63	87104	0	8.02	4.73	99%
CA61	51216	MA64	30107	0	11.40	11.40	99%
CA26	9116	MA9	319209	0	7.49	4.72	99%

**Tabla 8.** filiacion de cría-padre de 24 casos de asignación de paternidad determinados con el programa Cervus v3.01 donde se detalla valores de Loci no compatibles (LNC), valores de LOD, valores de Delta, y nivel de confianza en alpacas Huacaya del anexo Quimsachata INIA-PUNO.

Cría ID	Arete Cría	Padre ID	Arete Padre	LNC	LOD score	Delta	Nivel Confianza
CA24	71216	PA10	117108	0	8.39	5.43	99%
CA41	16116	PA12	133211	0	4.21	2.99	99%
CA72	134216	PA12	133211	0	8.6	5.95	99%
CA64	93216	PA12	133211	0	10.4	10.4	99%
CA26	9116	PA13	196209	0	11.5	11.5	99%
CA33	110216	PA15	12110	0	6.78	5.86	99%
CA37	70216	PA15	12110	0	8.07	8.07	99%
CA21	143216	PA20	1006	0	13.4	13.4	99%
CA71	256215	PA20	1006	0	13.9	13.9	99%
CA13	285315	PA24	134105	0	6.97	6.97	99%
CA44	50216	PA28	166107	0	8.84	8.84	99%
CA56	103216	PA28	166107	0	9.13	9.13	99%
CA53	113216	PA29	D00207	0	8.17	4.52	99%
CA9	26116	PA29	D00207	0	5.97	5.97	99%
CA7	44116	PA29	D00207	0	7.53	7.53	99%
CA61	51216	PA43	36109	0	6.08	6.08	99%
CA29	38116	PA43	36109	0	7.39	7.39	99%
CA1	40116	PA43	36109	0	8.2	8.2	99%
CA65	101216	PA43	36109	0	8.5	8.5	99%
CA48	1116	PA45	453308	0	7.73	7.73	99%
CA30	46216	PA46	365312	0	8.42	8.42	99%
CA14	97216	PA47	306207	0	12.2	11.8	99%
CA36	245215	PA48	63103	0	11.2	11.2	99%
CA17	327315	PA55	198208	0	7.28	7.28	99%

**Tabla 9:** filiacion familia nuclear padre-madre cria en 14 familias registradas determinadas con el programa Cervus v3.01. Donde se muestran Valores de LOD, Delta, y nivel de confianza en alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata INIA-Puno.

<b>Cría ID</b>	<b>Arete Cría</b>	<b>Madre ID</b>	<b>Arete Madre</b>	<b>Padre ID</b>	<b>Arete Padre</b>	<b>LOD / Delta</b>	<b>Nivel Confianza</b>
CA1	40116	MA16	222206	PA43	36109	12.1	99%
CA14	97216	MA57	472307	PA47	306207	13.6	99%
CA21	143216	MA26	313311	PA20	1006	17.3	99%
CA24	71216	MA59	82111	PA10	117108	9.22	99%
CA26	9116	MA9	319209	PA13	196209	15.9	99%
CA29	38116	MA52	53110	PA43	36109	12.5	99%
CA33	110216	MA41	36110	PA15	12110	12.1	99%
CA37	70216	MA12	244211	PA15	12110	9.09	99%
CA41	16116	MA28	7110	PA12	133211	8.75	99%
CA44	50216	MA63	87104	PA28	166107	10.6	99%
CA56	103216	MA56	286213	PA28	166107	12.8	99%
CA61	51216	MA64	30107	PA43	36109	9.86	99%
CA65	101216	MA45	134108	PA43	36109	13.5	99%
CA7	44116	MA33	78210	PA29	D00207	11.2	99%

#### 4.2. Reconstrucción Genealógica.

Se reconstruyó la genealogía a partir de los resultados de filiación mediante marcadores microsatélite y se determinó el error de asignación de paternidad, maternidad y el trio familiar de los registros de genealógico de alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata (tabla 10), donde se determina el error de paternidad en 37.5% para asignación de padres y 25 % para la asignación de madres y para los 3 casos que no corresponde al padre, madre y cría tiene un error de asignación de 5.357% la data obtenida es probable por el manejo durante en la identificación durante el empadre, el diagnóstico de preñez y la identificación en la parición. Los valores reportados son menores a los reportes de Moron y *col.*, 2016 que reporto un error de asignación del 55% para padre y madre y superiores a los datos descritos por Yalta y *col*, 2014 reporto un error de asignación de maternidad de 7.69 % para el centro de Producción Munay Paqocha y para el fundo Itita con 13.04 % y para el error de asignación de paternidad fue de 17.95% y 30.4% respectivamente, por Rodriguez (2004) para error de asignación del 22% para paternidad para estación experimental Ivita-Marangani y Rodriguez (2009) para el error de asignación de maternidad de 3.03% y para la paternidad de 12.12% para los registros de fundo Malkini .

**Tabla 10.** Reconstrucción de genealogía de alpacas de Anexo Quimsachata del INIA Puno

Identificación de la cría			identificación del padre		Error de asignación	identificación de la madre		Error de asignación
N°	sexo	fecha de nacimiento	ADN	Registro		ADN	Registro	
1116	H	1/01/2016	453308	453308	NO			NO
9116	H	11/01/2016	196209	196209	NO	319209	319209	NO
10116	M	11/01/2016			NO	468309	468309	NO
14116	H	16/01/2016			NO	216205		NO
16116	M	18/01/2016	133211	133211	NO	7110	7110	NO
18116	H	19/01/2016			NO	143212	143212	NO
26116	H	23/01/2016	D00207		NO			NO
32116	H	26/01/2016			NO	30113	30113	NO
36116	H	28/01/2016			NO	293311	293311	NO
38116	H	28/01/2016	36109		NO	53110	53110	NO
40116	M	30/01/2016	36109	A00133	SI	222206	222206	NO
44116	H	31/01/2016	D00207	D00207	NO	78210	78210	NO
46216	M	1/02/2016	365312	239106	SI			NO
50216	M	2/02/2016	166107	166107	NO	87104	87104	NO
51216	M	20/02/2016	36109		NO	30107		NO
53216	M	2/02/2016			NO	476309	152212	SI
57216	H	3/02/2016			NO	347311	347311	NO
66216	H	6/02/2016			NO	148107	148107	NO
70216	H	8/02/2016	12110	12110	NO	244211	244211	NO
71216	M	8/02/2016	117108	117111	SI	82111	82111	NO
83216	H	12/02/2016			NO	12108	12108	NO
93216	H	15/02/2016	133211	040105M	SI			NO
97216	H	16/02/2016	306207	306207	NO	472307	472307	NO
101216	M	16/02/2016	36109	133211	SI	134108	45111	SI
103216	M	16/02/2016	166107	335310	SI	286213	31107	SI
110216	M	17/02/2016	12110	12110	NO	36110	36110	NO
113216	H	18/02/2016	D00207	70111	SI			NO
125216	H	19/02/2016			NO	393309	393309	NO
126216	M	19/02/2016			NO	289209	289209	NO
128216	M	20/02/2016			NO	187209	30110	SI
134216	M	21/02/2016	133211	1006	SI	102210	36111	SI
143216	H	24/02/2016	1006	1006	NO	313311	313311	NO
156216	H	27/02/2016			NO	130108	130108	NO
166316	H	1/01/2016			NO	31107	11106	SI
180316	M	15/03/2016			NO	330310	330310	NO
245215	H	23/02/2015	63103	1406	SI			NO
249215	M	23/02/2015			NO	445309	9806	SI
256215	H	24/02/2015	1006		NO			NO
285315	M	2/03/2015	134105	134105	NO			NO
327315	M	28/03/2015	198208	198208	NO			NO
215215A	M	20/02/2015			NO	385308	338209	SI

La reconstrucción mediante el programa ENDOG V.4.8 a partir de registro generado mediante marcadores microsatelite y los registros de genealogía de alpacas huacaya del Anexo Quimsachata INIA Puno; tabla 11 y los anexos 4 para resultados de genealogía a partir de resultados de ADN Y anexo 5 a partir de registros genealógicos del Anexo Quimsachata del INIA Puno.

Donde se determina el contenido de pedigrí para el número de animales para cada población en estudio fue de 87 alpacas huacaya para registros generados mediante marcadores microsatelite y 84 alpacas huacaya para los registros de genealogía del Anexo Quimsacha, esta variación es probable por la pérdida de identificación en los registros de genealogía del Anexo Quimsachata y la identificación de filiación mediante marcadores microsatelite.

El porcentaje de padres en los registros generados mediante los marcadores microsatelite y los registros de genealogía fue s de 27.59 % (n=14) y 23.81% (n=17) esta variación del porcentaje de padres se debe al mayor número de crías máximo por padre de 4 y 2 respectivamente, mediante marcadores microsatelite se reasigno al probable padre.

El porcentaje de madres es de 36.78 % y 35.71% respectivamente datos similares por el número de cría por madre que fue de 1 cría por madre en los registros respectivamente.

El incremento de asignación de filiación mediante marcadores microsatelite nos permite corregir los errores de asignación de paternidad, maternidad y el trio familiar en los registros genealógicos del año 2016 de

esta manera logrando reconstruir y disminuir el error de asignación en la genealogía del Anexo Quimsachata.

La genealogía reconstruida a partir de los resultados de ADN mediante marcadores microsatélite y los registros genealógicos tiene un valor de consanguinidad 0.00% por ser la primera generación reconstruida (progenitores y progenie) con individuos con generación completa con padre y madre de 14 y 13 respectivamente y el número de individuos que cuentan generaciones incompletas con solo padre o madre de 27 y 24 respectivamente logrando un parentesco medio de la población es de 1.99 % y 1.92 % respectivamente este incremento de 0.07% en la población de registros genealógicos a partir del ADN mediante marcadores microsatélite de alpacas huacaya es por el mayor número de individuos con asignación de paternidad y maternidad .

**Tabla 11.** Contenido de pedigrí de la reconstrucción genealógica de registros generados mediante marcadores microsatélite y los registros genealógicos de Anexo Quimsachata INIA Puno.

<b>Contenido de pedigrí</b>	<b>Genealogía mediante ADN</b>	<b>Genealogía mediante registros</b>
Numero de padres (n)	14	17
Numero de madres (n)	32	30
Numero de crías (n)	41	37
Porcentaje de padre (%)	27.59	23.81
Porcentaje de madres (%)	36.78	35.71
Consanguinidad (%)	0	0
Numero de crías máximo/padre	4	2
Numero de crías mínimo / padre	1	1
Numero de crías máximo/madre	1	1
Número de individuos con generaciones completas	14	13
Número de individuos con generaciones completas	27	24
Parentesco medio de la población	0.0199	0.0192

## V. CONCLUSIONES

Mediante el uso de 12 marcadores microsatelite se determino 32 casos asignación de maternidad; 24 casos de paternidad y 14 casos de filiación familiar con un rango de valores LOD de 2.8 a 17.3 y valores Delta ( $\Delta$ ) en un rango de 2.58 a 17.3, con una probabilidad de exclusión acumulada de 0.9999845 y con nivel de confiabilidad de 99%, de alpacas Huacaya nacidas el año 2016 del Anexo Quimsachata del INIA Puno.

En la reconstrucción genealógica se determinó un error de asignación de paternidad de 37.50%, maternidad de 25.00% y el trio familiar de 5.35%, mediante el programa Endog V.4.8 se determinó el contenido de pedigrí de 87 alpacas donde el 27.59 % son padres y el 36.78 son madres, el número máximo de crías por macho es de 4 crías, 14 casos con generaciones completas, 27 casos con generaciones incompletas, la consanguinidad hallada es de 0.00% y el parentesco medio de la población de 0.0199 para el registro generado a partir de la filiación mediante marcadores microsatelite.

## VI. RECOMENDACIONES

Se recomienda utilizar pruebas de filiación mediante ADN para disminuir el error de asignación de paternidad y maternidad en centros de producción de alpacas que cuentan con registros genealógicos y en centros de producción de alpacas donde no se cuenta con registros genealógicos se recomienda utilizar marcadores microsatélite para la asignación de filiación para reconstruir la genealogía.

Realizar estudios similares en otras especies de animales que cuenta nuestra región de Puno para la mejora animal.

## VII. REFERENCIAS

- Aberle, K., C. Hamann, C. Drögemüller, O. Distl, .2004. Genetic diversity in German draught horse breeds compared with a group of primitive, riding and wild horses by means of microsatellite DNA markers. *Animal genetics*, 35:270–277.
- Agapito, J., J. Rodríguez, P. Herrera-Velit, O. Timoteo, P. Rojas, P. J. Boettcher, F. García and J. R. Espinoza .2010. "Parentage testing in alpacas (*Vicugna pacos*) using semi-automated fluorescent multiplex PCRs with 10 microsatellite markers." *Animal Genetics* 39(2): 201-203.
- Aguilera-Reyes, U., G. Zavala-Páramo , J. Valdez-Alarcón , H. Cano-Camacho, G. García-Lopez , N. Pescadro-Salas, .2006. Multiple mating and paternity determinations in domestic swine (*Sus scrofa*). *Anim.Res.*, 55:409-417.
- Antonini M., M. Gonzales, A. Valbonesi, 2004. Relationship between age and postnatal skin follicular and development in three types of South American domestic camelids. *Livest. Prod. Sci.*, 90,241-246.
- Awise, J. 2004. *Molecular markers, natural history, and evolution*. 2da. Ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. USA:161-169.
- Binns M., J. Swinburne, M. Breen, 2000. *Molecular genetics of the horse*. In: *The genetics of the horse*. Ed. A. Bowling y A. Ruvinsky. CABI Publishing. London: 109-121.
- Botstein D., R. L. White, M. Skolnick, R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American journal of human genetics*, 32:314–31.
- Butler, J.M. 2005. *Forensic DNA typing. Biology, technology and genetics of STR markers*. 2da. Ed. Elseiver Academic Press. USA: 455-539.
- Chambers G. K. y E. S. Macavoy. 2000. *Microsatellites: consensus and controversy*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 126, No 4, p. 455-476.
- Cifuentes, L., E. Martínez, M. Acuña, H. Jonquiere, 2006. Probability of Exclusion in Paternity Testing: Time to Reassess. *J. Forensic Sci.*, 51(2):349-350

- Di Rocco F., D. M. Posik., M. V. Ripoli, S. Díaz, M. L. Maté, G. Giovambattista, L. Vidal-Rioja 2011. South American camelid illegal traffic detection by means of molecular markers. *Legal Medicine*, Vol. 13, No 6, p. 289-292.
- FAO .2005. Situación Actual de los Camélidos Sudamericanos en el Perú. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina. TCP/RLA/.
- Freeland, J.R. 2005. *Molecular Ecology*. John Wiley y Sons Inc. USA: 110-111.
- Ganai, N., B. Yadav .2005 Parentage Determination in Three Breeds of Indian Goat Using Heterologous Microsatellite Markers. In: *Applications of Gene-Based Technologies for Improving Animal Production and Health in Developing Countries*. Eds. H. Makkar y G. Viljoen. Springer. Netherlands: 613-620.
- Gutiérrez J.P., F. Goyache., 2005. ENDOG 4.8: un programa de ordenador para el análisis de la información genealógica. *Diario de Genética y Mejora Animal*, 122: 172-176.
- Hancock, J. 1991. Microsatellites and other simple sequences: genomic context and mutational mechanisms. En: *Microsatellites. Evolution and applications*.p 1-9. Goldstein D; C. Schlotterer (eds). Oxford University Press. Oxford.
- Harrison, R. 1989. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population biology and evolutionary biology. *Trends in ecology and evolution*, 3:535-546.
- Iannacone, G. 2006. Uso de marcadores microsatélites en la determinación de la paternidad en alpacas de raza Huacaya. Tesis para optar el Grado de Magister Scientiae. UNALM. Especialidad en Producción Animal. Escuela de Post Grado. Lima - Perú. pp. 57 - 97.
- INEI (Instituto Nacional de Estadística e Informática, PE). 2012. IV Censo Nacional Agropecuario. Lima, PE.
- Jamieson, A. 1997. "Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion." *Animal Genetics* 28(6): 397-400. 32

- Kadwell, M.; M. Fernandez; H. Staley, R. Bladi; J. Wheller; R. Rosadio y Bruford. 2001. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and alpaca. *Proc.R.soc.LOND.B268*:2575-2584.
- Kalinowski S.T., M.L Taper, T.C Marshall.; 2007 Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular ecology*, 16:1099–106.
- Kankan, D., M. Fado, 1999 Estimations of the efficacy and reliability of paternity assignments from DNA microsatellite analyses of multiple-sire matings. *Animal genetics*, 30:355-361.
- Lang, K., Y. Wang, Y. Plante .1996. Fifteen polymorphic dinucleotide microsatellites in llamas and alpacas. *Animal Genetics* 27(4): 293-293.
- Lozano J.M., J.A. Bouzada, E.M. Pérez, F. Oliver, B. Tormo, A. Canals Y V. Montoro.2002. Aplicación del análisis mediante microsatélites de ADN al control de filiación del esquema de selección de la raza caprina Murciano-Granadina. XXVII Jornadas científicas y Jornadas internacionales de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia (SEOC).
- Marin J., B. Zapata, B. Gonzales, C. Bonacic, J. Wheeler, C. Casey, M. Bruford, E. Palma, E. Poulin, A. Alliende y A. Spotorno 2007. Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular, *RLLevAiMstaA CS hilena de Historia Nat1u2ra180*: 121-140, 2007 Chile
- Marin J.C. 2012 Genética e historia evolutiva de camélidos sudamericanos; VI congreso mundial de camélidos sudamericanos, pag.85-91; Chile.
- Marshall, T.C., Slate, J., Kruuk L.E.B., Pemberton, J.M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular ecology*, 7:639–655.
- Mommens, G., A. Van Zeveren, L. Peelman 1998. "Effectiveness of bovine microsatellites in resolving paternity cases in American bison, *Bison bison* L." *Animal Genetics* 29(1): 12-18.
- Morera, L., D.F. De Andrés, M. Barbancho , J.J Garrido, C.J. Barba, 1999. Detección de variabilidad genética por microsatélites en el Alano Español. *Archivos de Zootecnia*, 48:63-70.

- Morón J., E. Veli, Gutiérrez G. 2016. verificación de la genealogía en alpacas (vicugna pacos) usando un panel de microsatélites, tesis de maestría de la UNALM.
- Nowak R., 1991. Walker's mammals of the world. Fifth edition. The John Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, USA. 1.362 pp.
- Oliveira E. J., J. G Pádua, M. I Zucchi, R.Vencovsky y M. L. C. Vieira 2006.Origin, evolution and genome distribution of microsatellites. Genetics and Molecular Biology. Vol. 29, No 2, p. 294-307.
- Pádár, Z., B.Egyed, K. Kontadakis , L. Zöldág, S. Fekete, 2001. Resolution of parentage in dogs by examination of microsatellites after death of putative sire: case report. Acta Veterinaria Hungarica, 49(3):269– 273.
- Penedo, M.C.T., A. R. Caetano, K. Cordova,, 1998b. Eight microsatellite markers for South American camelids. Anim. Genet., 30, 161-168.
- Penedo, M.C.T., A. R. Caetano, K.I Cordova, 1998a. Microsatellite markers for South American camelids. Anim. Genet., 29, 398-413.
- Penedo, M.C.T., Caetano, A.R., Cordova, K.I., 1999. Six microsatellite markers for South American camelids. Anim. Genet., 30, 382-405
- Pepin L.,Amigues Y.,Lepingle A., Berthier J.L., Bensaid A., Vaiman D. 1995.Heredity, 74: 53-61.
- Presciuttini, S., Valbonesi, A., Apaza, N., Antonini, M., Huanca, T., Renieri, C., 2010. Fleece variation in alpaca (Vicugna pacos) a two-locus model for the Suri/Huacaya phenotype. BMC. Genetics., 11, 70.
- Quispe, E., J. Mueller, J. Ruiz, L. Alfonso and G. Gutiérrez 2008. Actualidades sobre adaptación, producción, reproducción y mejora genética en camélidos. Universidad Nacional de Huancavelica. Primera Edición. Huancavelica, Perú: 93–112.
- Renieri, C. Frank, E.N., Rosati, A.Y., Antonini, M., 2009. Definición de razas en llamas y alpacas. Animal Genetic Resources Information. 45, 45-54.
- Rodríguez, J., Dodd, C., Rosadio, R., Wheeler, J., Bruford, M. 2006. Paternity testing using microsatellite DNA in alpacas (Vicugna pacos). In: South American Camelids Research - Volume I. Proceedings of the 4th European Symposium on South American Camelids and DECAMA European Seminar. Eds. Gerken M y Renieri C. Wageningen Academic Publishers. Netherlands:273-278 pag.

- Rodriguez J. 2009. Diversidad genética ,parentesco y estructura poblacional en alpacas (*vicugna pacos*) en el peru. Tesis de maestria en bioquimica y biologia molecular, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima.
- Schlötterer, C., B. Harr, 2001 Microsatellite Instability. Encyclopedia of sciences. Nature Publishing Group:1-4.
- Wheeler JC .1995. Evolution and present situation of the South-American Camelidae. Biological Journal of the Linnean Society 52: 271-295.
- Wheeler JC .2000. Patrones prehistóricos de utilización de los camélidos sudamericanos. Boletín de Arqueología PUCP (Perú) 3: 297-306.
- Wheeler JC, L Chikhi & MW Bruford (2006) Case study in genetics of animal domestication: South American camelids. En: Zeder MA, DG Bradley, E Emshwiller & BG Smith (eds) Documenting domestication: new genetic and archaeological paradigms: 329-341. University of California Press, Berkeley, California, USA.
- Wuliji, T., G. Davis, P.R. Turner, R.N. Andrew, G.D. Bruce, 2000. Production performance, repeatability and heritability estimates for live weight, fleece weight and fibre characteristics of alpacas in New Zealand. Small Rumin. Res. 37, 189-201.
- Yalta C., G. Soti, E. Veli . 2014. Variabilidad genética y detección de error en filiación utilizando microsatélites en dos rebaños de alpacas huacaya (*Vicugna pacos*). Salud tecnol. Vet. 2: 134-145.

## VIII. ANEXOS

**ANEXO 1.** Identificación de las alpacas crías del Instituto Nacional De Innovación Agraria.

ID CRIA	ARETE	RAZA	ID CRIA	ARETE	RAZA
CA1	40116	Huacaya	CA38	18116	Huacaya
CA2	176316	Huacaya	CA39	192416	Huacaya
CA3	10116	Huacaya	CA40	129216	Huacaya
CA4	83216	Huacaya	CA41	16116	Huacaya
CA5	57216	Huacaya	CA42	36116	Huacaya
CA6	182316	Huacaya	CA43	66216	Huacaya
CA7	44116	Huacaya	CA44	50216	Huacaya
CA8	185316	Huacaya	CA45	116216	Huacaya
CA9	26116	Huacaya	CA46	180316	Huacaya
CA10	123216	Huacaya	CA47	136216	Huacaya
CA11	109216	Huacaya	CA48	1116	Huacaya
CA12	14116	Huacaya	CA49	112216	Huacaya
CA13	285315	Huacaya	CA50	53216	Huacaya
CA14	97216	Huacaya	CA51	147216	Huacaya
CA15	208215	Huacaya	CA52	268315	Huacaya
CA16	215215A	Huacaya	CA53	113216	Huacaya
CA17	327315	Huacaya	CA54	215215B	Huacaya
CA18	150215	Huacaya	CA55	166316	Huacaya
CA19	156216	Huacaya	CA56	103216	Huacaya
CA20	125216	Huacaya	CA57	24116	Huacaya
CA21	143216	Huacaya	CA58	164316	Huacaya
CA22	269215	Huacaya	CA59	128216	Huacaya
CA23	145216	Huacaya	CA60	63216	Huacaya
CA24	71216	Huacaya	CA61	51216	Huacaya
CA25	19116	Huacaya	CA62	4116	Huacaya
CA26	9116	Huacaya	CA63	249215	Huacaya
CA27	38115	Huacaya	CA64	93216	Huacaya
CA28	94216	Huacaya	CA65	101216	Huacaya
CA29	38116	Huacaya	CA66	124216	Huacaya
CA30	46216	Huacaya	CA67	80216	Huacaya
CA31	65216	Huacaya	CA68	102216	Huacaya
CA32	107216	Huacaya	CA69	23116	Huacaya
CA33	110216	Huacaya	CA70	99216	Huacaya
CA34	126216	Huacaya	CA71	256215	Huacaya
CA35	32116	Huacaya	CA72	134216	Huacaya
CA36	245215	Huacaya	CA73	186316	Huacaya
CA37	70216	Huacaya			

**ANEXO 2.** Identificación de las alpacas Madres del Instituto Nacional De Innovación Agraria.

ID MADRE	ARETE	RAZA	ARETE	ARETE	RAZA
MA1	142209	Huacaya	MA34	330310	Huacaya
MA2	300209	Huacaya	MA35	384309	Huacaya
MA3	130108	Huacaya	MA36	012108	Huacaya
MA4	445309	Huacaya	MA37	249204	Huacaya
MA5	031107	Huacaya	MA38	15111	Huacaya
MA6	216205	Huacaya	MA39	152212	Huacaya
MA7	45112	Huacaya	MA40	293311	Huacaya
MA8	013109	Huacaya	MA41	36110	Huacaya
MA9	319209	Huacaya	MA42	385308	Huacaya
MA10	311310	Huacaya	MA43	289209	Huacaya
MA11	85113	Huacaya	MA44	035109	Huacaya
MA12	244211	Huacaya	MA45	134108	Huacaya
MA13	197208	Huacaya	MA46	050108	Huacaya
MA14	102210	Huacaya	MA47	502309	Huacaya
MA15	335209	Huacaya	MA48	187209	Huacaya
MA16	222206	Huacaya	MA49	393309	Huacaya
MA17	326205	Huacaya	MA50	30113	Huacaya
MA18	141209	Huacaya	MA51	143212	Huacaya
MA19	148107	Huacaya	MA52	53110	Huacaya
MA20	476309	Huacaya	MA53	38112	Huacaya
MA21	3406	Huacaya	MA54	188106	Huacaya
MA22	248210	Huacaya	MA55	40112	Huacaya
MA23	468309	Huacaya	MA56	286213	Huacaya
MA24	34111	Huacaya	MA57	472307	Huacaya
MA25	30110	Huacaya	MA58	347311	Huacaya
MA26	313311	Huacaya	MA59	82111	Huacaya
MA27	055108	Huacaya	MA60	041103	Huacaya
MA28	7110	Huacaya	MA61	382309	Huacaya
MA29	055109	Huacaya	MA62	107209	Huacaya
MA30	20113	Huacaya	MA63	087104	Huacaya
MA31	539313	Huacaya	MA64	030107	Huacaya
MA32	540309	Huacaya	MA65	482309	Huacaya
MA33	78210	Huacaya			

**Anexo 3.** Identificación de las alpacas Padres del Instituto Nacional de Innovación Agraria.

ID PADRE	ARETE	RAZA	ID PADRE	ARETE	RAZA
PA1	280212	Huacaya	PA29	D00207	Huacaya
PA2	347310	Huacaya	PA30	117210	Huacaya
PA3	393308	Huacaya	PA31	290206	Huacaya
PA4	046109	Huacaya	PA32	166312	Huacaya
PA5	239205	Huacaya	PA33	061106	Huacaya
PA6	332209	Huacaya	PA34	219210	Huacaya
PA7	122111	Huacaya	PA35	522309	Huacaya
PA8	306307	Huacaya	PA36	234211	Huacaya
PA9	C6114	Huacaya	PA37	112209	Huacaya
PA10	117108	Huacaya	PA38	350204	Huacaya
PA11	054105	Huacaya	PA39	163106	Huacaya
PA12	133211	Huacaya	PA40	085106	Huacaya
PA13	196209	Huacaya	PA41	244209	Huacaya
PA14	069103	Huacaya	PA42	109210	Huacaya
PA15	12110	Huacaya	PA43	036109	Huacaya
PA16	D00307	Huacaya	PA44	9111	Huacaya
PA17	344208	Huacaya	PA45	453308	Huacaya
PA18	222209	Huacaya	PA46	365312	Huacaya
PA19	275310	Huacaya	PA47	306207	Huacaya
PA20	1006	Huacaya	PA48	063103	Huacaya
PA21	234212	Huacaya	PA49	443203	Huacaya
PA22	1074	Huacaya	PA50	166103	Huacaya
PA23	068104	Huacaya	PA51	62111	Huacaya
PA24	134105	Huacaya	PA52	86210	Huacaya
PA25	1806	Huacaya	PA53	084105	Huacaya
PA26	270209	Huacaya	PA54	66112	Huacaya
PA27	449309	Huacaya	PA55	198208	Huacaya
PA28	166107	Huacaya			

**Anexo 4.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada mediante marcadores microsatélites de alpacas huacaya del anexo Quimsachata INIA-Puno

ID	ID	P0	M0	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
1	63103	0	0	1	12/01/2003	0.01724	0	0	0	1
2	87104	0	0	2	25/01/2004	0.01724	0	0	0	1
3	134105	0	0	1	24/01/2005	0.01724	0	0	0	1
4	216205	0	0	2	15/02/2005	0.01724	0	0	0	1
5	1006	0	0	1	12/02/2006	0.02299	0	0	0	2
6	222206	0	0	2	13/02/2006	0.01724	0	0	0	1
7	31107	0	0	2	9/01/2007	0.01724	0	0	0	1
8	166107	0	0	1	12/01/2007	0.02299	0	0	0	2
9	30107	0	0	2	25/01/2007	0.01724	0	0	0	1
10	148107	0	0	2	28/01/2007	0.01724	0	0	0	1
11	D00207	0	0	1	15/02/2007	0.02874	0	0	0	3
12	306207	0	0	1	25/02/2007	0.01724	0	0	0	1
13	472307	0	0	2	23/03/2007	0.01724	0	0	0	1
14	12108	0	0	2	6/01/2008	0.01724	0	0	0	1
15	130108	0	0	2	15/01/2008	0.01724	0	0	0	1
16	117108	0	0	1	23/01/2008	0.01724	0	0	0	1
17	134108	0	0	2	24/01/2008	0.01724	0	0	0	1
18	198208	0	0	1	17/02/2008	0.01724	0	0	0	1
19	453308	0	0	1	28/03/2008	0.01724	0	0	0	1
20	385308	0	0	2	31/03/2008	0.01724	0	0	0	1
21	36109	0	0	1	13/01/2009	0.03448	0	0	0	4
22	319209	0	0	2	12/02/2009	0.01724	0	0	0	1
23	196209	0	0	1	14/02/2009	0.01724	0	0	0	1
24	187209	0	0	2	15/02/2009	0.01724	0	0	0	1
25	289209	0	0	2	26/02/2009	0.01724	0	0	0	1
26	468309	0	0	2	12/03/2009	0.01724	0	0	0	1
27	476309	0	0	2	23/03/2009	0.01724	0	0	0	1
28	393309	0	0	2	27/03/2009	0.01724	0	0	0	1
29	445309	0	0	2	30/03/2009	0.01724	0	0	0	1
30	7110	0	0	2	2/01/2010	0.01724	0	0	0	1

**Anexo 4.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada mediante marcadores microsatélites de alpacas huacaya del anexo Quimsachata INIA-Puno (... CONTINUACION...)

IO	ID	P0	M0	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
31	36110	0	0	2	10/01/2010	0.01724	0	0	0	1
32	12110	0	0	1	12/01/2010	0.02299	0	0	0	2
33	53110	0	0	2	24/01/2010	0.01724	0	0	0	1
34	102210	0	0	2	12/02/2010	0.01724	0	0	0	1
35	78210	0	0	2	14/02/2010	0.01724	0	0	0	1
36	330310	0	0	2	26/03/2010	0.01724	0	0	0	1
37	82111	0	0	2	26/01/2011	0.01724	0	0	0	1
38	133211	0	0	1	18/02/2011	0.02874	0	0	0	3
39	244211	0	0	2	18/02/2011	0.01724	0	0	0	1
40	347311	0	0	2	3/03/2011	0.01724	0	0	0	1
41	293311	0	0	2	12/03/2011	0.01724	0	0	0	1
42	313311	0	0	2	16/03/2011	0.01724	0	0	0	1
43	143212	0	0	2	15/02/2012	0.01724	0	0	0	1
44	365312	0	0	1	26/03/2012	0.01724	0	0	0	1
45	30113	0	0	2	15/01/2013	0.01724	0	0	0	1
46	286213	0	0	2	11/02/2013	0.01724	0	0	0	1
47	215215A	0	20	1	20/02/2015	0.01724	1	0	1	0
48	245215	1	0	2	23/02/2015	0.01724	1	0	1	0
49	249215	0	29	1	23/02/2015	0.01724	1	0	1	0
50	256215	5	0	2	24/02/2015	0.02011	1	0	1	0
51	285315	3	0	1	2/03/2015	0.01724	1	0	1	0
52	327315	18	0	1	28/03/2015	0.01724	1	0	1	0
53	1116	19	0	2	1/01/2016	0.01724	1	0	1	0
54	166316	0	7	2	1/01/2016	0.01724	1	0	1	0
55	9116	23	22	2	11/01/2016	0.02299	1	1	1	0
56	10116	0	26	1	11/01/2016	0.01724	1	0	1	0
57	14116	0	4	2	16/01/2016	0.01724	1	0	1	0
58	16116	38	30	1	18/01/2016	0.02874	1	1	1	0
59	18116	0	43	2	19/01/2016	0.01724	1	0	1	0
60	26116	11	0	2	23/01/2016	0.02299	1	0	1	0

**Anexo 4.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada mediante marcadores microsatélites de alpacas huacaya del anexo Quimsachata INIA-Puno (... CONTINUACION.)

IO	ID	PO	MO	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
61	32116	0	45	2	26/01/2016	0.01724	1	0	1	0
62	36116	0	41	2	28/01/2016	0.01724	1	0	1	0
63	38116	21	33	2	28/01/2016	0.03161	1	1	1	0
64	40116	21	6	1	30/01/2016	0.03161	1	1	1	0
65	44116	11	35	2	31/01/2016	0.02874	1	1	1	0
66	46216	44	0	1	1/02/2016	0.01724	1	0	1	0
67	50216	8	2	1	2/02/2016	0.02586	1	1	1	0
68	53216	0	27	1	2/02/2016	0.01724	1	0	1	0
69	57216	0	40	2	3/02/2016	0.01724	1	0	1	0
70	66216	0	10	2	6/02/2016	0.01724	1	0	1	0
71	70216	32	39	2	8/02/2016	0.02586	1	1	1	0
72	71216	16	37	1	8/02/2016	0.02299	1	1	1	0
73	83216	0	14	2	12/02/2016	0.01724	1	0	1	0
74	93216	38	0	2	15/02/2016	0.02299	1	0	1	0
75	97216	12	13	2	16/02/2016	0.02299	1	1	1	0
76	101216	21	17	1	16/02/2016	0.03161	1	1	1	0
77	103216	8	46	1	16/02/2016	0.02586	1	1	1	0
78	110216	32	31	1	17/02/2016	0.02586	1	1	1	0
79	113216	11	0	2	18/02/2016	0.02299	1	0	1	0
80	125216	0	28	2	19/02/2016	0.01724	1	0	1	0
81	126216	0	25	1	19/02/2016	0.01724	1	0	1	0
82	51216	21	9	1	20/02/2016	0.03161	1	1	1	0
83	128216	0	24	1	20/02/2016	0.01724	1	0	1	0
84	134216	38	34	1	21/02/2016	0.02874	1	1	1	0
85	143216	5	42	2	24/02/2016	0.02586	1	1	1	0
86	156216	0	15	2	27/02/2016	0.01724	1	0	1	0
87	180316	0	36	1	15/03/2016	0.01724	1	0	1	0

**Anexo 5.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada en los registros genealógicos de alpacas huacaya del anexo quimsachata INIA-Puno

IO	ID	P0	M0	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
1	87104	0	0	2	25/01/2004	0.0179	0	0	0	1
2	134105	0	0	1	24/01/2005	0.0179	0	0	0	1
3	040105M	0	0	1	18/02/2005	0.0179	0	0	0	1
4	11106	0	0	2	9/01/2006	0.0179	0	0	0	1
5	1406	0	0	1	12/01/2006	0.0179	0	0	0	1
6	A00133	0	0	1	13/01/2006	0.0179	0	0	0	1
7	1006	0	0	1	12/02/2006	0.0238	0	0	0	2
8	222206	0	0	2	13/02/2006	0.0179	0	0	0	1
9	239106	0	0	1	26/03/2006	0.0179	0	0	0	1
10	9806	0	0	2	30/03/2006	0.0179	0	0	0	1
11	31107	0	0	2	11/01/2007	0.0179	0	0	0	1
12	166107	0	0	1	12/01/2007	0.0179	0	0	0	1
13	148107	0	0	2	28/01/2007	0.0179	0	0	0	1
14	D00207	0	0	1	15/02/2007	0.0179	0	0	0	1
15	306207	0	0	1	25/02/2007	0.0179	0	0	0	1
16	472307	0	0	2	23/03/2007	0.0179	0	0	0	1
17	12108	0	0	2	6/01/2008	0.0179	0	0	0	1
18	130108	0	0	2	15/01/2008	0.0179	0	0	0	1
19	198208	0	0	1	17/02/2008	0.0179	0	0	0	1
20	453308	0	0	1	28/03/2008	0.0179	0	0	0	1
21	319209	0	0	2	12/02/2009	0.0179	0	0	0	1
22	196209	0	0	1	14/02/2009	0.0179	0	0	0	1
23	289209	0	0	2	26/02/2009	0.0179	0	0	0	1
24	468309	0	0	2	12/03/2009	0.0179	0	0	0	1
25	393309	0	0	2	27/03/2009	0.0179	0	0	0	1
26	338209	0	0	2	31/03/2009	0.0179	0	0	0	1
27	7110	0	0	2	2/01/2010	0.0179	0	0	0	1
28	36110	0	0	2	10/01/2010	0.0179	0	0	0	1
29	12110	0	0	1	12/01/2010	0.0238	0	0	0	2
30	335310	0	0	1	12/01/2010	0.0179	0	0	0	1

**Anexo 5.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada en los registros genealógicos de alpacas huacaya del anexo Quimsachata INIA-Puno (...CONTINUACION...)

IO	ID	P0	M0	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
31	30110	0	0	2	15/01/2010	0.0179	0	0	0	1
32	53110	0	0	2	24/01/2010	0.0179	0	0	0	1
33	78210	0	0	2	14/02/2010	0.0179	0	0	0	1
34	330310	0	0	2	26/03/2010	0.0179	0	0	0	1
35	36111	0	0	2	12/01/2011	0.0179	0	0	0	1
36	133211	0	0	1	13/01/2011	0.0238	0	0	0	2
37	70111	0	0	1	15/01/2011	0.0179	0	0	0	1
38	117111	0	0	1	23/01/2011	0.0179	0	0	0	1
39	45111	0	0	2	24/01/2011	0.0179	0	0	0	1
40	82111	0	0	2	26/01/2011	0.0179	0	0	0	1
41	244211	0	0	2	18/02/2011	0.0179	0	0	0	1
42	347311	0	0	2	3/03/2011	0.0179	0	0	0	1
43	293311	0	0	2	12/03/2011	0.0179	0	0	0	1
44	313311	0	0	2	16/03/2011	0.0179	0	0	0	1
45	143212	0	0	2	15/02/2012	0.0179	0	0	0	1
46	152212	0	0	2	23/02/2012	0.0179	0	0	0	1
47	30113	0	0	2	15/01/2013	0.0179	0	0	0	1
48	215215A	0	26	1	20/02/2015	0.0179	1	0	0.5	0
49	245215	5	0	2	23/02/2015	0.0179	1	0	0.5	0
50	249215	0	10	1	23/02/2015	0.0179	1	0	0.5	0
51	285315	2	0	1	2/03/2015	0.0179	1	0	0.5	0
52	327315	19	0	1	28/03/2015	0.0179	1	0	0.5	0
53	1116	20	0	2	1/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
54	166316	0	4	2	1/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
55	9116	22	21	2	11/01/2016	0.0238	1	1	1	0
56	10116	0	24	1	11/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
57	16116	36	27	1	18/01/2016	0.0268	1	1	1	0
58	18116	0	45	2	19/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
59	32116	0	47	2	26/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
60	36116	0	43	2	28/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0

**Anexo 5.** Reconstrucción genealógica mediante el programa ENDOG V.4.8 de la filiación registrada en los registros genealógicos de alpacas huacaya del anexo Quimsachata INIA-Puno (...CONTINUACION)

IO	ID	P0	M0	SEXO	FN	J_AR	J_GenMax	J_GenCom	J_GenEqu	Offspring
61	38116	0	32	2	28/01/2016	0.0179	1	0	0.5	0
62	40116	6	8	1	30/01/2016	0.0238	1	1	1	0
63	44116	14	33	2	31/01/2016	0.0238	1	1	1	0
64	46216	9	0	1	1/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
65	50216	12	1	1	2/02/2016	0.0238	1	1	1	0
66	53216	0	46	1	2/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
67	57216	0	42	2	3/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
68	66216	0	13	2	6/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
69	70216	29	41	2	8/02/2016	0.0268	1	1	1	0
70	71216	38	40	1	8/02/2016	0.0238	1	1	1	0
71	83216	0	17	2	12/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
72	93216	3	0	2	15/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
73	97216	15	16	2	16/02/2016	0.0238	1	1	1	0
74	101216	36	39	1	16/02/2016	0.0268	1	1	1	0
75	103216	30	11	1	16/02/2016	0.0238	1	1	1	0
76	110216	29	28	1	17/02/2016	0.0268	1	1	1	0
77	113216	37	0	2	18/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
78	125216	0	25	2	19/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
79	126216	0	23	1	19/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
80	128216	0	31	1	20/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
81	134216	7	35	1	21/02/2016	0.0268	1	1	1	0
82	143216	7	44	2	24/02/2016	0.0268	1	1	1	0
83	156216	0	18	2	27/02/2016	0.0179	1	0	0.5	0
84	180316	0	34	1	15/03/2016	0.0179	1	0	0.5	0

# PANEL FOTOGRÁFICO

**Fotografía 1.** Materiales utilizados para el muestreo de sangre de alpacas Huacaya del Anexo Quimsachata.



**Fotografía 2.** Alpacas huacaya del Anexo Quimsachata utilizados para la investigación.



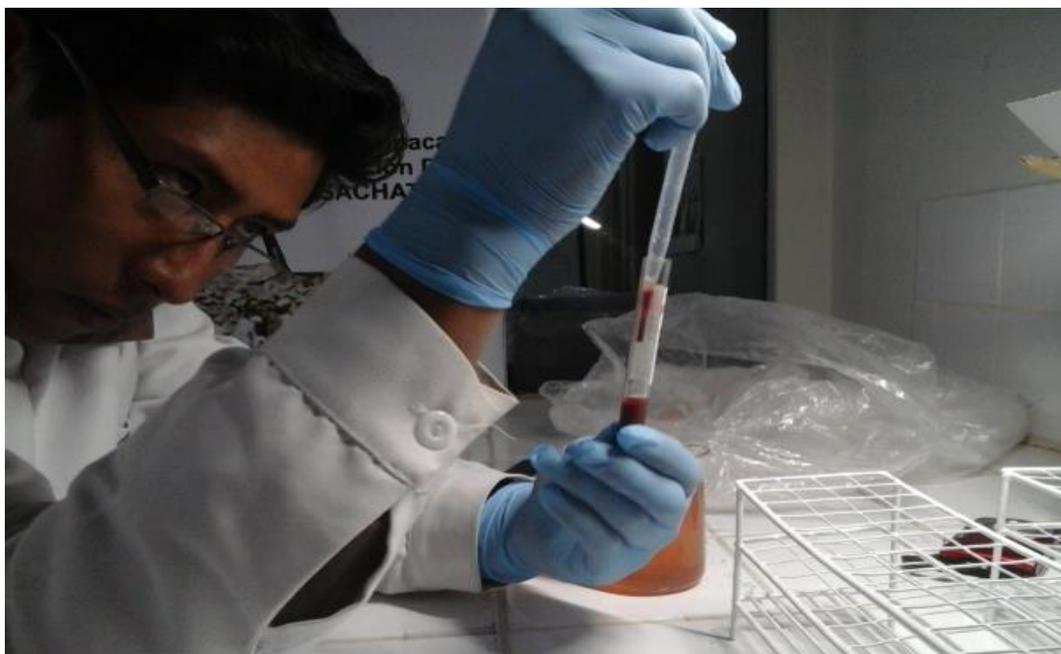
**Fotografía 3.** Muestreo de sangre por punción en la vena yugular de alpacas huacaya del Anexo Quimsachata.



**Fotografía 4.** Centrifugación de sangre en el laboratorio de Anexo Quimsachata.



**Fotografía 5.** Extracción de células Blanca (Buffy coat) para el traslado a la unidad de Biotecnología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia Lima.



**Fotografía 6.** Muestra de buffy coat de sangre de alpaca huacaya del Anexo Quimsachata congeladas para el traslado al laboratorio de Biología Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia.

