



ANEXO 1

FORMATO PARA LA PRESENTACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN
CON EL FINANCIAMIENTO DEL FEDU

1. Título del proyecto

**DETERMINACIÓN DE FILIACIÓN CON MARCADORES
MICROSATÉLITES EN ALPACAS Y LLAMAS EN LA REGION
PUNO**

2. Área de Investigación

Área de investigación	Línea de Investigación	Disciplina OCDE
Genética y Mejoramiento Animal		

3. Duración del proyecto (meses)

12 meses

4. Tipo de proyecto

<u>Individual</u>	<input type="radio"/>
<u>Multidisciplinario</u>	<input type="radio"/>
<u>Director de tesis pregrado</u>	<input type="radio"/>

4. Datos de los integrantes del proyecto

Apellidos y Nombres	Gallegos Acero Roberto Floro
Escuela Profesional	Medicina Veterinaria y Zootecnia
Celular	971111748
Correo Electrónico	rfgallegosacero@hotmail.com

- I. Título (El proyecto de tesis debe llevar un título que exprese en forma sintética su contenido, haciendo referencia en lo posible, al resultado final que se pretende lograr. Máx. palabras 25)

Determinación de Filiación con Marcadores Microsatélites en Alpacas y Llamas de la Región Puno.

- II. Resumen del Proyecto de Tesis (Debe ser suficientemente informativo, presentando -igual que un trabajo científico- una descripción de los principales puntos que se abordarán, objetivos, metodología y resultados que se esperan)

Los camélidos sudamericanos domésticos representado por la alpaca y llama, constituyen un recurso genético muy valioso para la región y el país, particularmente la alpaca presenta el 86 % de la población mundial, el 55 % se encuentra en la región Puno,



la mayor población de esta especie está en poder de las comunidades campesinas y pequeños productores, su crianza por encima de 4000m. genera recursos económicos por la producción de fibra de calidad especial en alpacas, producción de carne ecológica en llamas. El manejo adecuado de los registros de producción en animales constituye un factor importante para la Mejora Genética, relacionado con la filiación de animales, que es indispensable para verificar la inscripción el libro de Registros Genealógicos, cuando se observan errores en la asignación de paternidad, los programas de mejora genética son seriamente amenazados. La determinación de filiación constituye la piedra angular para la elaboración de registros genealógicos en alpacas y llamas, la pérdida de identificación durante el manejo incrementa el error en la asignación de filiación, bajo estas consideraciones se plantea el presente estudio.

III. Palabras claves (Keywords) (Colocadas en orden de importancia. Máx. palabras: cinco)

Alpaca, Filiación, Marcador Microsatélite

IV. Justificación del proyecto (Describa el problema y su relevancia como objeto de investigación. Es importante una clara definición y delimitación del problema que abordará la investigación, ya que temas cuya definición es difusa o amplísima son difíciles de evaluar y desarrollar)

Nuestro país es considerado como el centro originario de la domesticación de los camélidos sudamericanos, como la alpaca y la llama, presenta la mayor población de alpacas a nivel mundial con 86 %, seguido de Bolivia con apenas el 9 %, pero a nivel nacional la mayor población de alpacas se encuentra en la región Puno con 55 %, cuya distribución poblacional presenta una relación directa con 2 zonas agroecológicas bien definidas; La zona de la cordillera oriental denominado también como puna húmeda, que presenta la mayor proporción de alpacas, la otra zona es la cordillera occidental o puna seca.

La determinación de filiación constituye la piedra angular, para la elaboración de los Registros Genealógicos en animales domésticos que incluye a las alpacas y llamas, mediante pruebas de ADN que permiten disminuir el porcentaje de error, que se comete en la asignación de padres y madres, sin estos datos de paternidad y maternidad no tiene validez los registros de filiación, en los últimos años las pruebas de paternidad se han convertido en un campo importante para su investigación, tanto en los animales como en los humanos. Hay un gran número de técnicas para determinar la filiación del parentesco, mediante el uso de marcadores microsatélite que se vienen desarrollando para las diferentes especies, desde caninos, bovinos, caprinos, porcinos, equinos, camélidos, con elevada capacidad de discriminación que esta expresado como probabilidades de exclusión.



La pérdida de identificación en alpacas y llamas durante el proceso de manejo de rebaños, durante el registro de progenitores y progenie altera la asignación de la filiación, siendo la identificación de estas especies un factor de mucha importancia para ejecutar un Programa de Mejora Genética, por esta problemática se ha planteado la determinación de la paternidad y maternidad en alpacas y llamas, mediante el uso de marcadores genéticos y reconstruir la filiación correcta en alpacas y llamas.

V. Antecedentes del proyecto (Incluya el estado actual del conocimiento en el ámbito nacional e internacional. La revisión bibliográfica debe incluir en lo posible artículos científicos actuales, para evidenciar el conocimiento existente y el aporte de la Tesis propuesta. Esto es importante para el futuro artículo que resultará como producto de este trabajo)

Los marcadores genéticos microsatelitales, denominados como SSR (Simple sequence repeats) o STR Short tándem repeats, son secuencias repetidas en tándem de 6 pares de bases, que se encuentran distribuidos a lo largo de todo el genoma de eucariotas, la variación del número de repeticiones y el tamaño de los fragmentos constituye la base del polimorfismo, en forma frecuente exhiben un gran número de alelos por locus y alto grado de heterocigosidad. Las características de los marcadores microsatélites son: Tienen una herencia codominante, muestran elevado polimorfismo fácil de detectar mediante PCR, presentan una herencia mendeliana simple, están distribuidos en forma aleatoria en todo el genoma, son muy abundantes, se ha detectado microsatélites dentro de regiones codificantes de algunos genes, (Freeland, 2005., Hamilton, 2009).

En 247 alpacas Huacaya de la región Pasco se realizó la verificación de genealogía en 3 unidades de producción, con la finalidad de validar el panel de microsatélites para las pruebas de paternidad, estimación de la tasa de consanguinidad y asignación de paternidad, mediante el uso de 15 marcadores microsatélite de alpacas, las muestras se han obtenido del folículo piloso, el número total de alelos fue 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 probabilidad de discriminación para 8 marcadores genéticos fueron superiores a 0.84 y la probabilidad de exclusión conjunta fue superior a 99.9 %, con un error de asignación de paternidad del 55 %, (Morón, 2016).

En la región Puno en 183 alpacas Huacaya de 2 unidades de producción, se realizó un estudio sobre la determinación de pruebas de paternidad y parentesco, utilizando 10 marcadores microsatélite, donde el total de locus presenta una probabilidad de exclusión superior a 99.9 %, cuando se determinó el genotipo de ambos padres se alcanzó un poder de discriminación mayor a 0.90, la prueba de filiación ha permitido detectar mayores errores de asignación de maternidad en 13.04 % y errores de asignación de paternidad con 30.4 % que corresponde al fundo Itita, mientras que en el fundo Munay Paqocha se encontró menores errores de maternidad de 7.69 % y para paternidad con 17.95 %, (Yalta, 2014).

VI. Hipótesis del trabajo (Es el aporte proyectado de la investigación en la solución del problema)



Hipótesis general

El error de asignación en la filiación de paternidad y maternidad en alpacas y llamas del anexo Quimsachata es diferentes para ambas especies.

Hipótesis específicas

- a) La determinación de parentesco por asignación de maternidad y paternidad con información de animales genotipados es diferente en alpacas y llamas.
- b) En la reconstrucción de genealogía a partir de los resultados de filiación, el error de asignación de paternidad es diferente que la asignación de maternidad.

VII. Objetivo general

Determinar la maternidad y paternidad de alpacas y llamas mediante marcadores microsatélite en rebaños de la Región Puno.

VIII. Objetivos específicos

- a) Determinar el parentesco paterno y materno en alpacas y llamas del anexo Quimsachata del Instituto Nacional de Innovación Agraria. Puno
- b) Realizar la reconstrucción de genealogía en alpacas y llamas a partir de la filiación determinada, por medio de marcadores microsatélite en anexo Quimsachata.

IX. Metodología de investigación (Describir el(los) método(s) científico(s) que se empleará(n) para alcanzar los objetivos específicos, en forma coherente a la hipótesis de la investigación. Sustentar, con base bibliográfica, la pertinencia del(los) método(s) en términos de la representatividad de la muestra y de los resultados que se esperan alcanzar. Incluir los análisis estadísticos a utilizar)

a) La muestra de sangre se obtendrá por punción de la vena yugular, utilizando los tubos Vacutainer con anticoagulante, las muestras tomadas de cada alpaca y llama serna codificadas con números correlativos, para el análisis en el laboratorio de Genética Molecular de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, Lima.

b) Para la obtención del buffy coat, se aislará las células blancas o leucocitos a partir de la muestra de sangre entera mediante la centrifugación a %,000 rpm durante 10 minutos.

c) Extracción del ADN genómico, se realizará mediante el protocolo de extracción de ADN, utilizando el método o membrana de sílica presente en el Kit de extracción de ADN genómico de tejido GF-1, DNA extraction tissue kit (Vivantis-GeneOn), siguiendo las indicaciones del fabricante y modificaciones previamente estandarizadas para el tipo de calidad y muestra.



d) Para la amplificación del ADN microsatélite, se utilizarán 12 marcadores microsatélite descritos para alpacas y llamas, se amplificarán en 2 reacciones de PCR múltiple en un termociclador.

e) Análisis de Parentesco, la determinación de parentesco en las muestras tomadas de alpacas y llamas, se realizará por medio del cálculo del Índice de Paternidad (PI), expresado como valores de LOD y valores Delta, mediante el programa CERVUS versión 3.0 (Kalinowski, 2007).

f) Reconstrucción Genealógica, para determinar el error de asignación de paternidad y maternidad, se realizará mediante el programa ENDOG versión 4.8, en forma independiente para cada registro.

X. Referencias (Listar las citas bibliográficas con el estilo adecuado a su especialidad)

- Awise, J. 2004. Molecular markers natural history and evolution. Sinauer Associates Inc. Publishers. USA: 161-169.
- Di Rocco, F., D.M. Posik., M.V. Ripoli., S. Diaz., L.M. Mate., L. Vidal-Rioja. 2011. South American Camelids ilegal traffic detection by means of molecular markers. Legal Medicine. Vol. 13, No 6: 289-292.
- Diaz, E. 2015. Análisis de la diversidad y estructura genética fenotípica de poblaciones de Llama Suri en regiones de Puno y Cusco. Tesis Med. Vet. Zoot. Facultad Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNA. Puno.
- Freeland J.R. 2005. Molecular ecology. Jhon Wiley and Sons. 51-53.
- Gutiérrez J.P., F. Goyache. 2005. ENDOG versión 4.8 un programa de ordenador para análisis de la información genealógica. Diario de Genética y Mejora Animal. 122: 171-176.
- Hamilton M.B. 2009. Population genetics. Ed. Wiley-Blackwell. 9-52.
- INEI. 2013. IV Censo nacional Agropecuario. CENAGRO. Lima. Perú.
- Kalinowski S.T., M.L. Taper., T.C. Marshall. 2007. Revising how the computer program cervus accomodates genotyping error increases success in paternity asigment. Molecular Ecology. 16:1099.
- Marín J., B. Zapata., B. Gonzales., C. Bonacic., J. Wheeler., M. Bruford., E. Palma., A. Spotorno. 2007. Sistemática taxonómica y domesticación de alpacas y llamas, Nueva evidencia cromosómica y molecular. Historia Natural. 180: 121- 140.
- Morón J., E. Veli., G. Gutiérrez. 2016. Verificación de la genealogía en alpacas usando un panel de microsatélites. Tesis maestría. Universidad nacional Agraria la Molina. Lima. Perú.
- Yalta C., G. Suti., E. Veli. 2014. Variabilidad genética y detección de error en filiación utilizando microsatélites en 2 rebaños de alpacas Huacaya (Vicugna pacos). Salud. Tecn. Vet. 2: 134-145.



XI. Uso de los resultados y contribuciones del proyecto (Señalar el posible uso de los resultados y la contribución de los mismos)

Los resultados que se espera obtener en el presente estudio, presenta una gran significación y aporte fundamental para la identificación de alpacas y llamas del anexo Quimsachata que han extraviado sus correspondientes marcas realizado mediante los aretes, que también es extensivo para otros centros de producción de camélidos sudamericanos y otras especies de animales, así mismo los marcadores microsatélite facilitan la generación de información, para la elaboración y ejecución de programas de manejo genético y conservación de diferentes especies de animales silvestre como el vicuña, guanaco y especies domésticos como vacunos, ovinos porcinos y otros.

XII. Impactos esperados

i. Impactos en Ciencia y Tecnología

Constituirá un aspecto muy importante y favorable para los estudiantes, principalmente para los criadores de alpacas y llamas con la finalidad de identificar sus reproductores y realizar la mejora genética de sus animales.

ii. Impactos económicos

Constituye un aspecto importante para generar mayores ingresos económicos en beneficio de los pequeños y medianos criadores de alpacas y llamas con la finalidad de reducir la pobreza en la que actualmente viven.

iii. Impactos sociales

Constituye un aspecto importante, debido a que mejorará la situación social de los criadores de la especie animal.

iv. Impactos ambientales

No produce ningún impacto ambiental negativo en la población de alpacas y llamas de la región Puno.

XIII. Recursos necesarios (Infraestructura, equipos y principales tecnologías en uso relacionadas con la temática del proyecto, señale medios y recursos para realizar el proyecto)

Personal Ayudante, cámara fotográfica, materiales de escritorio, combustible, materiales de laboratorio, vestuario.

XIV. Localización del proyecto (indicar donde se llevará a cabo el proyecto)

El estudio se realizará en el anexo Quimsachata de la Estación Experimental Illpa del Instituto Nacional de Innovación Agraria-Puno, ubicado entre los distritos de Cabanillas provincia de San Román y distrito de Santa Lucia provincia de Lampa de la región Puno, situado a una altitud entre 4,200 a 4,700 m, presenta un clima que pertenece a la zona agroecológica de puna seca o cordillera occidental.



XV. Cronograma de actividades

Actividad	Trimestres											
	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D
Elaboración del Proyecto	X											
Presentación del Proyecto		X										
Coordinaciones	X	X	X									
Recolección de datos				X	X	X						
Análisis en Laboratorio						X	X	X				
Procesamiento de datos							X	X				
Informe de avances			X			X			X			
Redacción del informe										X	X	
Presentación del artículo												X

XVI. Presupuesto

Descripción	Unidad de medida	Costo (S/.)	Unitario	Cantidad	Costo total (S/.)
Personal Ayudante	Persona	500.00		4	2000.00
Cámara fotográfica	Unidad	500.00		1	500.00
Papel bond	Millar	30.00		2	60.00
Cuadernos	Unidad	5.00		4	20.00
Análisis de laboratorio	Unidad	200.00		300	60000.00
Combustible	Galón	20.00		200	4000.00
Impresión	Global	20.00		10	200.00
Vestuario	Global	400.00		4	1600.00
Viáticos	Global	1000.00		4	4000.00

Total: S/.

72,380.00