

I. TITULO

DENSIDAD FOLICULAR EN PIEL DE ALPACAS A TRAVES DE DOS PROCESOS METODOLOGICOS

II. AREA DE INVESTIGACION

Genética y Mejoramiento genético animal

III. DATOS DE LOS INTEGRANTES DEL PROYECTO

EDGAR APAZA ZÚÑIGA

*Docente principal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA. Puno.
Investigador Renacyt POO58029 CM. III.
Docente Investigador Universidad Nacional del Altiplano. Puno, Perú.*

CEFERINO UBERTO OLARTE DAZA

*Docente principal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNA. Puno.
Investigador Renacyt POOOOO77 MR. II. Puno, Perú.*

IV. RESUMEN DEL PROYECTO

El principal producto de la ganadería alpaca es la fibra de su vellón, la que, por sus cualidades físicas, textiles y variedad de colores naturales, siendo cualidades importantes referidas a esta es la finura de su fibra, el cual depende de los folículos secundarios que son los encargados de producir fibras finas, el que determina la calidad de vellón y la densidad folicular repercute en el peso de vellón. El objetivo del trabajo de investigación Determinar la densidad de folicular a través de los procesos de la Biopsia de muestra de piel, análisis Histológico estándar y el semi computarizado usando el FIBER DEN, para la toma de muestras se utilizara alpacas de fenotipo Huacaya machos (15) y hembras (15) de 1 (10), 2(10) años de edad y adultos (10). **Método Histológico**, se tomarán muestras de piel de la zona del costillar medio, mediante cortes de forma circular con un sacabocado de 6 mm de diámetro y **Método FIBER DEN**, se determinará en concordancia a lo establecido por Quispe & Quispe, (2019). El tipo de muestreo será el Probabilístico estratificado con afijación proporcional. La prueba estadística estará referida a una prueba de Hipótesis en la comparación de dos medias relacionadas. Los posibles resultados del estudio permitirían el uso de instrumentos computarizados en la determinación de una característica de manera masiva, en un carácter asociado a caracteres de calidad, aplicada a poblaciones de alpacas con propósitos de mejora genética animal, sobre caracteres de importancia económica de la fibra de Alpaca.

Palabras clave: Densidad de folículos, finura de fibra, selección genética, población de alpacas

V. PROBLEMA Y PROBLEMÁTICA DEL PROYECTO

La Mejora genética de un determinado carácter de interés económico en Producción animal se logra mejorando la capacidad genética de las poblaciones de animales en un ambiente favorable para ello. En la actualidad, aun con las modernas tecnologías implementadas con conocimientos de Genética Molecular, que permite abordar directamente el genoma de los animales u otras especies, es limitada su implementación para su uso en poblaciones de animales. Para superar esta circunstancia, es imprescindible conocer la relación entre la Genética y la Estadística, temática que aborda la Genética Cuantitativa y la Genética de Poblaciones, encargados del estudio del comportamiento genético de caracteres cuantitativos y la dinámica genética a nivel de poblaciones, respectivamente; lo que nos permite definir que en la actualidad la Mejora genética animal está aún en una etapa estadística de la Mejora genética.

Uno de los productos más importantes de la ganadería de las Alpacas es la fibra que posee su Vellón. Múltiples referentes de investigación científica afirman bondades de calidad sobre la fibra, tales como ser fina, relacionada directamente con el número de folículos pilosos secundarios, y que además repercute sobre el peso del vellón. Para propósitos de mejora genética, es imprescindible en esta circunstancia, definir al carácter Número de folículos por unidad de superficie en alpacas, como Criterio de selección, dado que tiene una gran variabilidad fenotípica, lo que implica que la variabilidad genética sea similar, consecuentemente por Selección genética se asume un progreso genético rápido.

En la actualidad, se dispone de dos procedimientos metodológicos para la determinación del número de folículos por unidad de superficie de piel en mamíferos. Uno de ellos (Técnica histológica) muy laboriosa que limita la determinación para un gran número de muestras, otra moderna semi computarizada, menos laboriosa y más accesible, que permite acceder a tamaños relativamente grandes de poblaciones de animales. Sin embargo, de las referencias de estudios científicos se deduce que el número de folículos por unidad de superficie de piel en alpacas es muy diferente.

En este contexto, es importante y necesario dilucidar la razón del porqué de estas grandes diferencias en este carácter muy importante en alpacas. No es razonable ni lógico aceptar diferencias muy marcadas para un mismo carácter biológico a través de dos diferentes procesos metodológicos para su determinación.

VI. JUSTIFICACION

La crianza de los Camélidos Sudamericanos Domésticos (CSD) Alpacas y Llamas constituye una actividad económica importante para un vasto sector de la población alto andina, principalmente de Perú y Bolivia. Se estima que alrededor de 300 mil familias campesinas de la Región Andina dependen directamente de la explotación de estas especies de animales, además otro grupo importante se benefician indirectamente de ella; consecuentemente, la crianza de este camélido altoandino es fundamental para la economía y la seguridad alimentaria de las poblaciones ubicadas por encima de los 3,800 metros sobre el nivel del mar dedicadas a esta actividad.

Según el Censo Nacional Agropecuario (Cenagro), las regiones de Puno y Cusco tienen la mayor población de alpacas en el Perú, con un millón 459,903 y 545,454 ejemplares, respectivamente. Además de Puno y Cusco, la población nacional de alpacas se encuentra distribuida en 17 regiones, entre las que destacan: Arequipa **(468,392 ejemplares)**; Huancavelica **(308,586)** y Ayacucho **(230,910)**. El 99% de los ejemplares registrados se encuentra en poder de personas naturales **(pequeños criadores)** y el 1% restante en diversas formas organizativas (medianas y grandes empresas, cooperativas, asociaciones, comunidades campesinas, entre otros).

El procedimiento metodológico para determinar la densidad folicular total (foll/mm²), hasta no hace mucho tiempo atrás, fue utilizar el protocolo de la técnica del método histológico (McCloghry, 1997), la que básicamente refiere que, con un punzón circular de diámetro definido, se toma una biopsia de piel de la región correspondiente a cada muestra de vellón, la misma que es conservada, procesada y tratada posteriormente para lectura histológica. Obviamente que, este proceso implica un procedimiento cruento y demasiado laborioso, que limita determinaciones para un gran número de animales. Actualmente, gracias al avance de la tecnología, se dispone de equipos necesarios que permite superar este problema, específicamente nos referimos al Fiber Den; un mini microscopio digital portátil que permite la captura de imágenes de fibras y pelos en la piel rasurada de diversas especies de animales, las que después de ser procesadas semi automáticamente en un procesador portátil, obtiene evaluaciones de densidad de fibras y canales foliculares. El procesamiento de imágenes es acelerado, pudiendo obtenerse gran cantidad de fibras de una muestra en un tiempo menor a un minuto (Quispe *et al.*, 2015). Permitiendo de este modo realzar este tipo de determinaciones en un gran número de animales, con propósitos de selección genética.

En este contexto, es importante y necesario dilucidar la razón del porqué de estas grandes diferencias en este carácter muy importante en alpacas. No es razonable ni lógico aceptar diferencias muy marcadas para un mismo carácter biológico a través de dos diferentes procesos metodológicos para su determinación

VII. ANTECEDENTES DEL PROYECTO

Densidad folicular.

El procedimiento metodológico para determinar la densidad folicular total (foll/mm²), hasta no hace mucho tiempo atrás, fue utilizar el protocolo de la técnica del método histológico

(McCloghry, 1997), la que básicamente refiere que, con un punzón circular de diámetro definido, se toma una biopsia de piel de la región correspondiente a cada muestra de vellón, la misma que es conservada, procesada y tratada posteriormente para lectura histológica.

Varios son los reportes de investigación con este tipo de determinación, así Apaza et al., (1998) refieren que el número medio de folículos secundarios fue de 20.80 ± 1.08 foll/mm² de piel y el número medio de folículos primarios por mm² de piel fue de 2.71 ± 0.10 foll/mm²; presentan mayor número de folículos secundarios animales de 2 años de edad, siendo menor en animales de 5 años, diferencias no significativas por el efecto de la edad; resultados con valores similares son ofrecidos por Crossley et al., (2014) quienes refieren que en alpacas Huacaya de color blanco la media total del número de folículos fue de 21.97 ± 6.37 foll/mm² y en alpacas de color fue de 21.56 ± 7.25 foll/mm², demostrando una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de edad. De manera similar, Velez et al., (2016) refieren que la media $\pm$ E.E. para la densidad folicular total en alpacas con fibra fina fue de 21.76 ± 1.92 foll/mm² y para las con fibra gruesa fue de 18.65 ± 3.77 foll/mm². Tumi, (2017) de manera similar, hace referencia que el número medio de folículos por mm² en piel de alpacas de la raza Huacaya fue de 20.98 foll/mm², y para las de la raza Suri fue de 20.17 foll/mm², poniendo en evidencia de que existe diferencias significantes entre edades hasta los diez primeros meses de vida de las alpacas. Es incuestionable que, entre las referencias científicas indicadas anteriormente, los valores no son muy discrepantes, asumiendo que es implicación del mismo procedimiento metodológico para su determinación y para la misma raza de alpacas.

De manera similar, existen referencias científicas con valores poco más discrepantes, así Antonini, (2010), para la misma población de alpacas del estudio, manifiesta que el número medio de folículos primarios para alpacas de la raza Huacaya, por edad en meses fue de 26.74 foll/mm² (2 meses), 18.27 foll/mm² (4 meses), 18.66 foll/mm² (6 meses) y 22.30 foll/mm² (10 meses); para los folículos secundarios fue de 7.53, 9.35, 8.81 y 8.68 foll/mm², para los mismos meses correspondientes. Ferguson et al., (2012) en doce alpacas Huacaya y 24 alpacas de la raza Suri encontraron que la media $\pm$ s.e. para la densidad de folículos secundarios fue de 13.7 ± 1.2 y 17.5 ± 0.6 foll/mm² para Huacaya y Suri, respectivamente; y la media $\pm$ s.e. para la densidad de folículos primarios fue de 3.1 ± 0.3 y 2.7 ± 0.1 foll/mm² para Huacaya y Suri, respectivamente. Wuliji, (2003) hace referencia indicando que el número medio para el total de folículos en alpacas adultas fue de 22.5 y en crías fue de 32.7 foll/mm² de piel. Por su lado, Oruna, (2016) utilizando un método de recuento diferente a los anteriores indica que el número medio de folículos secundarios en crías de alpacas fue de 32.4 ± 8.8 foll/mm² y para los primarios indica de 10.7 ± 5.9 foll/mm² de piel. En este último grupo de referencias, se asume efectos de tiempo, de raza y procedimiento metodológico de determinación, que las hacen discrepantes al primer grupo de referencias.

Sin embargo, ambos grupos de referencias de estudios científicos anteriormente citados, son dramáticamente diferentes a los encontrados por Apaza y Flores (2022) para la característica (7.83 ± 2.17 foll/mm²) dado que, para la cuantificación de la variable se utilizó el Equipo FIBER-DEN y accesorios pertinentes. Utilizando el mismo procedimiento de cuantificación del número de conductos pilosos, Quispe & Quispe (2019) determinan que la media para el número de conductos pilosos en alpacas fue de 8.20 ± 2.25 foll/mm²; los mismos investigadores Quispe & Quispe (2018) determinan para la misma característica una media

y D.E. de 10.50 ± 1.55 foll / mm^2 ; Centeno (2020) encontró valores de densidad folicular de 8.40 ± 1.78 y 8.22 ± 1.60 foll / mm^2 de piel, Charca, (2021) por su parte reporta valores de 8.59 ± 2.48 foll/ mm^2 . Es manifiesto que este último grupo de resultados es muy diferente a los grupos anteriores, la razón fundamental es atribuible al efecto del procedimiento metodológico utilizado en ambos tipos de abordaje.

VIII. HIPOTESIS DE TRABAJO

La densidad folicular determinada por dos procesos metodológicos es similar en muestras tomadas en la misma alpaca.

IX. OBJETIVO GENERAL

Determinar la densidad de folicular a través de los procesos de la Biopsia de muestra de piel, análisis Histológico estándar y el semi computarizado usando el FIBER DEN.

X. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar la densidad de folicular a través de dos procesos metodológicos
- Comparar la densidad folicular de dos procesos metodológicos

XI. METODOLOGIA DE INVESTIGACION

10.1. Método Histológico. Se tomarán muestras de piel de la zona del costillar medio, mediante cortes de forma circular con un sacabocado de 6 mm de diámetro. Las muestras se colocaron en frascos conteniendo una solución fijadora de formol al 15%, y se trasladaron al Laboratorio de Histología, Embriología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional del Altiplano, Puno, para su procesamiento histológico y lectura, en concordancia con lo establecido por Carter & Clarke, (1957).

10.2. Método FIBER DEN. Se determinará en concordancia a lo establecido por Quispe & Quispe, (2019) quienes definen secuencialmente cuatro pasos i) Preparación de la piel del animal, la que se inicia realizando el corte de las fibras en la zona costillar medio en un área de 10 x 10 cm. Se rasura la fibra remanente utilizando una navaja provista de hoja de afeitar, dejando entre 0.2 a 0.4 mm de largo de la fibra desde el nivel del conducto. Seguidamente se procede al teñido utilizando una mezcla de tinte y oxigenta, luego lavada (con jabón y agua), secado con papel secante y toalla, la zona está lista para la toma de las imágenes. ii) Captura ampliada de imágenes de piel y fibras en animal vivo; para ello se utilizará un área de 1mm^2 , obteniendo las imágenes de forma manual. La obtención de las imágenes se hace mediante el FIBER-DEN, capturándose 5

imágenes por zona corporal, mediante el software FIBER-DEN1. iii) Almacenamiento de imágenes en un software propietario. iv) Procesamiento de las imágenes y presentación de datos, para el efecto se utilizará un software específico equipo (*Fiber Den2*), el que permite el conteo del número de ductos y fibras por cada conducto, obteniéndose: Promedio y desviación estándar de la densidad de fibras/mm², promedio y desviación estándar de la densidad de conductos/mm² y relación de N° Fibras/ N° de conductos (Quispe y Quispe, 2019).

10.3. Análisis estadístico.

Muestra. El tamaño de la muestra será de treinta alpacas de la raza Huacaya de ambos sexos, en número de diez de alpacas tuis de un año, diez de tuis de dos años y diez de alpacas adultas.

Tamaño de muestra por edad y sexo de Alpacas

EDAD	SEXO		NUMERO
	Macho	Hembra	
UN AÑO	5	5	10
DOS AÑOS	5	5	10
ADULTO	5	5	10

Muestreo. El tipo de muestreo será el Probabilístico estratificado con afijación proporcional. Técnica de muestreo en la que el investigador divide a toda la población objetivo en diferentes subgrupos o estratos, y luego selecciona aleatoriamente a los sujetos finales de los diferentes estratos de forma proporcional.

Prueba estadística. La prueba estadística estará referida a una prueba de Hipótesis en la comparación de dos medias relacionadas.

El estadístico de prueba será:

$$T = \frac{\bar{d} - \mu_{\bar{d}}}{S_{\bar{d}}} \rightarrow t_{\alpha; n-1, u}$$

Que prueba la Ho: $\mu_d = 0$

Con un nivel de significancia de Error de tipo I = 0.01

La Potencia estadística, tamaño del efecto y el tamaño de muestra, serán determinados recurriendo al Software estadístico G*Power.

XII. MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMAS	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADOR
Problema General: Dilucidar la razón del porqué de las grandes diferencias del carácter: Número de Foliculos por unidad de superficie en piel de alpacas, por dos métodos de determinación.	Objetivo general: Determinar la densidad de folicular a través de los procesos de la Biopsia de muestra de piel, análisis Histológico estándar y el semi computarizado usando el FIBER DEN.	Hipótesis general: La densidad folicular determinada por dos procesos metodológicos es similar en muestras tomadas en la misma alpaca.	Densidad Folicular	Número de Foliculos totales por unidad de superficie de piel en alpacas
	Objetivo específico 1. Determinar la densidad de folicular a través de dos procesos metodológicos	Hipótesis específico I. Procedimientos metodológicos de determinación diferentes, determinan valores similares para un mismo carácter.	Densidad folicular	Número de Foliculos totales por unidad de superficie de piel en alpacas
	Objetivo específico 2. Comparar la densidad folicular de dos procesos metodológicos	Hipótesis específica II. La densidad folicular de dos procesos metodológicos es similar	Densidad folicular	Estadístico de prueba de comparación

XIII. REFERENCIAS

- Antonini M. 2010. Hair follicle characteristics and fibre production in South American camelid. ENEA Casaccia Depatment BAS, Secondment at the University of Camerino Industrial Liaison Office, Via Anguillarese 301 S.M. di Galeria, 00060 Rome, Italy.
- Apaza, E., U. Olarte y L. Clavetea. 1998. Densidad folicular y diámetro de fibra en alpacas Huacaya. ALLPAK'A. Volumen VII, revista de IIPC – FMVZ UNA – PUNO.
- Carter, H.B; Clarke, W.H. 1957. The hair follicle group and skin follicle population of Australian Merino sheep. Australian Journal of Agricultural Research, 8(1) 91-108
- Centeno, S. AN. 2020. Evaluation de densidad de fibra, densidad de conductos pilosos en alpacas Huacaya de color del Centro Experimental La Raya - UNA - Puno. Tesis de Medico Veterinario y Zootecnista. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional del Altiplano Puno, Perú.

Crossley J, Borroni C, Raggi A. 2014. Correlation between mean fibre diameter and total follicle density in alpacas of differing age and colour in the Parinacota province of the Chilean high plain. *J Appl Anim Res*, 42(1): 27-31.

Ferguson, MB, McGregor, BA & Behrendt, R. 2012. Relationships between skin follicle characteristics and fibre properties of Sury and Huacaya alpacas and Peppin Merino sheep, *Animal production science*, 52(7), 442-447.

McCioghry C.E., Brown G.H. y Uphill G.C. 1997. Skin biopsy technique results in inaccurate wool follicle density measurements. *New Zealand Journal of Agricultura/ Research*; Vol. 40: 245-247.

Oruna, E.J. 2016. Caracterización histológica de la piel en crías de alpaca (*Vicugna pacos*) del Centro de Investigación y Desarrollo de Camélidos Sudamericanos – Lachocc (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo, Perú.

Quispe, E. y Quispe, M. 2018. Procedimiento y equipo para determinar densidad y haces de fibra en piel de animales vivos. *Archivos de Zootecnia*. (Imprenta)

Quispe P, E.C. y Quispe B, M.D. 2019. Método no invasivo para determinar densidad y haces de fibras en piel de animales vivos. *Arch. Zootec*. 68 (261): 74-81. 2019. <https://www.uco.es/ucopress/az/index.php/az>.

Tumi, R.M. (2017). Efecto de la densidad folicular sobre peso vellón en alpacas Huacaya a la primera y segunda esquila, en el módulo de reproductores de Coarita – Paratía. Tesis para optar el Título profesional de Médico Veterinario y Zootecnista. UNA. Puno-Perú.

Wuliji, T. (2018). Evaluation of fiber diameter and correlated fleece characteristics of an extreme fine alpaca strain farmed in Missouri. *J. Camelid Science*, 10: 17-30

Vélez, V. M., Salazar J. S., Pacheco J., Pezo D., Franco F. 2016, Histología cuantitativa de la piel de alpaca diferenciada por calidad de fibra, *archivo latinoamericano de producción animal*. Volumen 24 (1): 7 – 10.

XIV. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

[illegible]

XV. PRESUPUESTO

ACTIVIDAD	CANTIDAD	COSTE UNITARIO	COSTE TOTAL
Análisis de laboratorio histológico	60	S/. 30.00	S/. 1,800.00
Análisis computarizado FIBER DEN	60	S/. 40.00	S/. 2,400.00
Pasajes y Viáticos	6	S/. 200.00	S/. 1,200.00
Material de escritorio	Varios	S/ 500.00	S/. 500.00
		TOTAL	S/. 5,900.00